

抑制血管紧张素原（AGT）蛋白表达的组合物和方法

技术领域

本发明的部分实施方案涉及可用于抑制血管紧张素原（AGT）蛋白表达的组合物和方法。

背景技术

肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS）在血压调节中起着关键作用。RAAS 级联始于肾脏的近肾小球细胞将肾素分泌至循环中。肾素分泌受到几个因素的刺激，包括远端小管中的 Na^+ 负荷、 β -交感神经刺激和/或降低的肾灌注。血浆中的活性肾素将血管紧张素原（由肝脏产生）分裂成血管紧张素 I，其随后通过循环和局部表达的血管紧张素-转化酶（ACE）转化成血管紧张素 II。血管紧张素 II 对 RAAS 的大部分作用是通过其与血管紧张素 II 1 型受体（AT1R）的结合来发挥的，从而导致动脉血管收缩、肾小管和肾小球效应，如增强的 Na^+ 重吸收或肾小球滤过率的调节。此外，与其他刺激物（如促肾上腺皮质激素、抗-利尿激素、儿茶酚胺、内皮素、血清素）以及 Mg^{2+} 和 K^+ 水平一起，AT1R 刺激导致醛固酮释放，其随后促进肾远端曲小管中的 Na^+ 和 K^+ 排泄。

导致例如过度血管紧张素 II 产生和/或 AT1R 刺激的 RAAS 失调引起高血压，其可以导致例如提高的氧化应激，心脏、肾脏和动脉中炎症、肥大和纤维化的促进，并且导致例如左室纤维化、动脉重建和肾血管球硬化症。

高血压是发达国家中最普遍的、可控的疾病，影响 20-50% 的成年人群体。高血压是各种疾病、失调和病症的主要风险因素，如，缩短的预期寿命、慢性肾病、中风、心肌梗塞、心力衰竭、动脉瘤（例如，主动脉瘤）、外周动脉疾病、心脏损伤（例如，心脏扩张或肥大）和其他心血管相关疾病、失调和/或病症。此外，已经表明高血压是心血管发病和死亡的重要风险因素，占据或构成全部中风的 62% 和所有心脏病病例的 49%。在 2017 年时，发生了高血压诊断、预防 and 治疗的准则的变化，从而提供了用于甚至更低的血压以进一步降低发生高血压相关疾病及障碍的风险的目标（参见例如，Reboussin 等人，Systematic Review for the 2017ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41517-8. doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.004 ; 及 Whelton 等人（2017ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A

Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. J Am Coll Cardiol. 2017 Nov 7. pii: S0735-1097(17)41519-1.doi: 10.1016/j.jacc.2017.11.006)。

尽管可用于治疗高血压的抗高血压药数量巨大，但超过三分之二的对象用一种抗高血压药不能得到控制并且需要两种或更多种选自不同药物类别的抗高血压药。由于随着用药增加依从性降低和副作用增加，这进一步降低了具有受控血压的对象的数量。

因此，本领域存在对用于治疗高血压和其他血管紧张素原相关疾病的替代疗法和联合疗法的需求。

发明内容

根据本发明的一个方面，提供了一种抑制血管紧张素原（AGT）表达的双链核糖核酸（dsRNA）试剂，该 dsRNA 试剂包含正义链和反义链，在反义链中的核苷酸位置 2 至 18 处包含与 AGT RNA 转录物互补的区域，其中互补区域包含与表 1-4 中所列出的反义序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸，并且任选地包含靶向配体。在一些实施方案中，与 AGT RNA 转录物互补的区域包含与表 1-4 中所列出的反义序列之一相差不超过 3 个核苷酸的至少 15、16、17、18 或 19 个连续核苷酸。在某些实施方案中，dsRNA 的反义链与 SEQ ID NO: 519 的任意靶区域至少基本互补，并且在表 1-4 之一中提供。在一些实施方案中，dsRNA 的反义链与 SEQ ID NO: 519 的任意靶区域完全互补并且在表 1-4 之一中提供。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含表 1-4 中所列出的任一个正义链序列，其中正义链序列与 dsRNA 试剂中的反义链序列至少基本上互补。在某些实施方案中，dsRNA 试剂包含表 1-4 中列出的任一个正义链序列，其中正义链序列与 dsRNA 试剂中的反义链序列完全互补。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含表 1-4 中列出的任一个反义链序列。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含表 1-4 中作为双链体序列列出的任一个序列。

在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含与式（A）相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的正义链：5'-Z₁AGCUUGUUUGUGAAACZ₂-3' 式（A），其中 Z₁ 为包含 0-15 个核苷酸基序的核苷酸序列，Z₂ 选自 A、U、C、G 中的一种或者不存在。在某些实施方案中，Z₁ 为包含 1-4 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₁ 为包含 1、2、3 或 4 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₂ 为 A。在某些实施方案中，Z₁ 为包含 CACC 或者 GACC 基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₁ 核苷酸序列选自以下基序：C、AC、UC、GC、

CC、ACC、UCC、GCC、CCC、GACC、AACC、UACC、CACC、CGACC、CCGACC、ACCGACC、AACCGACC、CAACCGACC、CCAACCGACC、UCCAACCGACC、UUCCAACCGACC、AUCCAACCGACC、AAUCCAACCGACC 或 GAAUCCAACCGACC 中的一种。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含与式 (B) 相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的反义链：5'-Z₃GUUUCACAAACAAGCUZ₄-3' 式 (B)，其中 Z₃ 选自 A、U、C、G 中的一种或者不存在，Z₄ 为包含 0-15 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₄ 为包含 1-4 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₄ 为包含 1、2、3 或 4 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₃ 为 U。在某些实施方案中，Z₄ 核苷酸序列选自包含 GGUC 或 GGUG 基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₄ 核苷酸序列选自以下基序：G、GU、GC、GA、GG、GGU、GGA、GGC、GGG、GGUG、GGUC、GGUU、GGUA、GGUCG、GGUCGG、GGUCGGU、GGUCGGUU、GGUCGGUUG、GGUCGGUUGG、GGUCGGUUGGA、GGUCGGUUGGAA、GGUCGGUUGGAAU、GGUCGGUUGGAAUU 或 GGUCGGUUGGAAUUC。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包括具有本文所述与式 (A) 和式 (B) 相差 0、1、2 或 3 个核苷酸表示的核苷酸序列，并且任选地包含靶向配体。在某些实施方案中，dsRNA 试剂所述的正义链式 (A) 和反义链式 (B) 每条链的长度不超过 35 个核苷酸。在某些实施方案中，Z₁ 和 Z₄ 核苷酸基序是完全或者部分互补的。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含与式 (A') 相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的正义链：5'-Z₁'CAGCUUGUUUGUGAAACA-3' 式 (A')，dsRNA 试剂包含与式 (B') 相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的反义链：5'-UGUUUCACAAACAAGCUGZ₄'-3' 式 (B')，Z₁'和 Z₄'分别独立的包含 0-13 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₁'和 Z₄'分别独立的包含 1、2、或 3 个核苷酸基序的核苷酸序列。在某些实施方案中，Z₁'核苷酸序列选自以下基序：A、U、G、C、AC、UC、GC、CC、GAC、AAC、UAC、CAC、CGAC、CCGAC、ACCGAC、AACCGAC、CAACCGAC 或 GAAUCCAACCGAC 中的一种。Z₄'核苷酸序列选自以下基序：U、C、A、G、GU、GA、GC、GG、GUG、GUC、GUU、GUA、GUCG、GUCGG、GUCGGU、GUCGGUU、GUCGGUUG 或 GUCGGUUGGAAUUC 中的一种。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，反义链包含与以下所列出的反义序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

5'-UACUCAUUAGAAGAAAAGGUG-3' (SEQ ID NO: 162);

5'-UCUUAGACCAAGGAGAAACGG -3' (SEQ ID NO: 163);

5'-UGUUUCACAAACAAGCUGGUC -3' (SEQ ID NO: 167);

5'-UGUUUCACAAACAAGCUGGUG -3' (SEQ ID NO: 523);

5'-UUCGGUUGGAAUUCUUUUUGC -3' (SEQ ID NO: 184);

5'-GUUUCACAAACAAGCUGG -3' (SEQ ID NO: 653)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-CACCUUUUCUUCUAAUGAGUA -3' (SEQ ID NO: 65)，

反义链：5'-UACUCAUUAGAAGAAAAGGUG -3' (SEQ ID NO: 162)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-CCGUUUCUCCUUGGUCUAAGA -3' (SEQ ID NO: 66)，

反义链：5'-UCUUAGACCAAGGAGAAACGG -3' (SEQ ID NO: 163)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-GACCAGCUUGUUUGUGAAACA -3' (SEQ ID NO: 70)，

反义链：5'-UGUUUCACAAACAAGCUGGUC -3' (SEQ ID NO: 167)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-CACCAGCUUGUUUGUGAAACA-3' (SEQ ID NO: 522)

反义链：5'-UGUUUCACAAACAAGCUGGUG -3' (SEQ ID NO: 523);

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-GCAAAAAGAAUCCAACCGAA -3' (SEQ ID NO: 87)，

反义链：5'-UUCGGUUGGAAUUCUUUUUGC -3' (SEQ ID NO: 184)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述的正义链和反义链分别包含与以下所列出的序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸：

正义链：5'-CCAGCUUGUUUGUGAAAC -3' (SEQ ID NO: 652)，

反义链：5'-GUUUCACAAACAAGCUGG -3' (SEQ ID NO: 653)。

在一些实施例中，dsRNA 试剂双链体，选自表 1：AD00158-19-2、AD00158-19-1、

AD00158-3、AD00158-1、AD00158-2、AD00158、AD00159、AD00159-1、AD00159-2、AD00159-19-1、AD00159-19-2、AD00163、AD00163-1、AD00163-2、AD00163-19-1、AD00163-19-2、AD00163-3、AD00300-1、AD00300-19-1、AD00300-19-2 中任意一条双链体。

在一些实施例中，dsRNA 试剂双链体，选自表 1 中：AV01227、AV01228、AV01229、AV01230、AV01231、AV01232、AV01233、AV01234、AV01235、AV01236、AV01237、AV01238、AV01239、AV01240、AV01241、AV01242、AV01243、AV01244、AV01245、AV01246、AV01247、AV01248、AV01249、AV01250、AV01251、AV01252、AV01253、AV01254、AV01255、AV01256、AV01257 或 AV01711 中任意一条双链体。

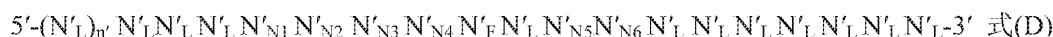
在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含至少一种修饰的核苷酸。在某些实施方案中，反义链的所有核苷酸或基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸。在一些实施方案中，至少一种修饰的核苷酸包括：2'-O-甲基核苷酸、2'-氟核苷酸、2'-脱氧核苷酸、2',3'-seco 核苷酸模拟物、锁核苷酸、开环核酸核苷酸（unlocked nucleic acid nucleotide, UNA）、乙二醇核酸核苷酸（glycol nucleic acid nucleotide, GNA）、2'-F-阿拉伯糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、无碱基核苷酸、核糖醇、反向核苷酸、反向无碱基核苷酸、反向 2'-OMe 核苷酸、反向 2'-脱氧核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、2'-烷基修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸和 3'-OMe 核苷酸、包括 5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸、或与胆固醇衍生物或十二烷酸双癸酰胺基团连接的末端核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、氨基磷酸酯或包含核苷酸的非天然碱基。

在一些实施例中，这些双链核糖核酸（dsRNA）试剂，包含正义链和对应于靶基因的 mRNA 至少一部分互补的反义链，该 dsRNA 试剂包括具有由式(C)表示的反义链核苷酸序列和具有式(D)表示的正义链核苷酸序列，

反义链包含由按 3'至 5'方向列出的式(C)表示：



正义链包含由按 5'至 3'方向列出的式(D)表示：



其中，每个 N_F 代表 2'-氟修饰的核苷酸； N_{M1} 、 N_{M2} 、 N_{M3} 、 N_{M4} 、 N_{M5} 、 N_{M6} 、 N_{M7} 和 N_{M8} 分别独立地代表修饰或者未修饰的核苷酸， N_{M1} 、 N_{M2} 、 N_{M3} 、 N_{M4} 、 N_{M5} 、 N_{M6} 、 N_{M7} 和 N_{M8} 中有且只有三个 2'-氟修饰的核苷酸或者有且只有一个 2'-氟修饰的核苷酸；每个 N_L 独立地代表修饰或者未修饰的核苷酸，该修饰不是 2'-氟修饰的核苷酸；每个 N'_F 代表 2'-氟修饰的核苷酸； N'_{N1} 、 N'_{N2} 、 N'_{N3} 、 N'_{N4} 、 N'_{N5} 和 N'_{N6} 分别独立地代表修饰或者未修饰的核苷酸，

N'_{N1} 、 N'_{N2} 、 N'_{N3} 、 N'_{N4} 、 N'_{N5} 和 N'_{N6} 中有且只有二个 2'-氟修饰的核苷酸；每个 N'_L 独立地代表修饰或者未修饰的核苷酸，该修饰不是 2'-氟修饰的核苷酸；每个 n 和 n' 独立地可以是 0 至 7 的整数。

在某些实施方案中，该 dsRNA 试剂在式(C)所示的反义链(从 5'端起第 1 个配对的核苷酸开始计数)的位置 2、7、12、14 和 16 处的核苷酸是 2'-氟修饰的核苷酸；在式(D)所示的正义链(从正义链 3'端起第 1 个配对的核苷酸开始计数)的位置 9、11 和 13 处的核苷酸是 2'-氟修饰的核苷酸。在某些实施方案中，该 dsRNA 试剂在式(C)所示的反义链的位置 N_{M2} 、 N_{M3} 、 N_{M6} 处的核苷酸是 2'-氟修饰的核苷酸；在式(D)所示的正义链的位置 N'_{N3} 、 N'_{N5} 处的核苷酸是 2'-氟修饰的核苷酸。

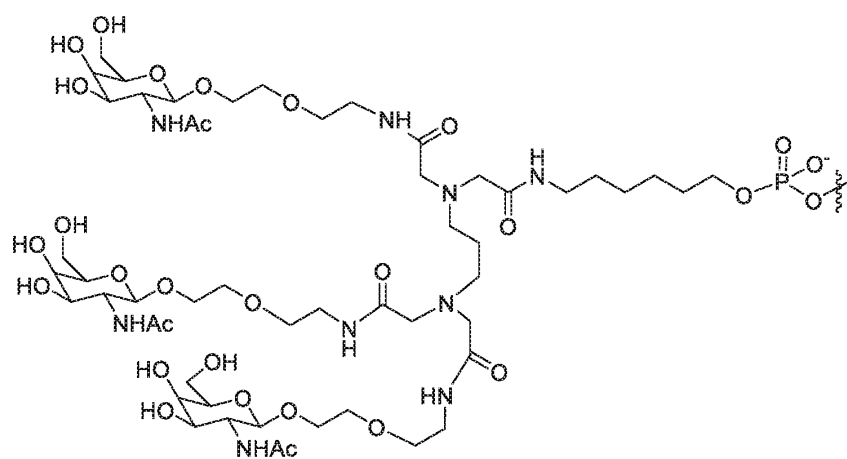
在一些实施方案中，dsRNA 试剂包括在引导链的 5'末端处的 E-乙烯基磷酸酯核苷酸。在某些实施方案中，dsRNA 试剂包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。在某些实施方案中，正义链包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中，反义链包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中，正义链包含 1、2、3、4、5 或 6 个硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中，反义链包含 1、2、3、4、5 或 6 个硫代磷酸酯核苷间键联。

在某些实施方案中，正义链和反义链的所有或基本上所有核苷酸都是修饰的核苷酸。在一些实施方案中，修饰的正义链是表 2-4 中列出的修饰的正义链序列。在一些实施方案中，修饰的反义链是表 2-4 中列出的修饰的反义链序列。

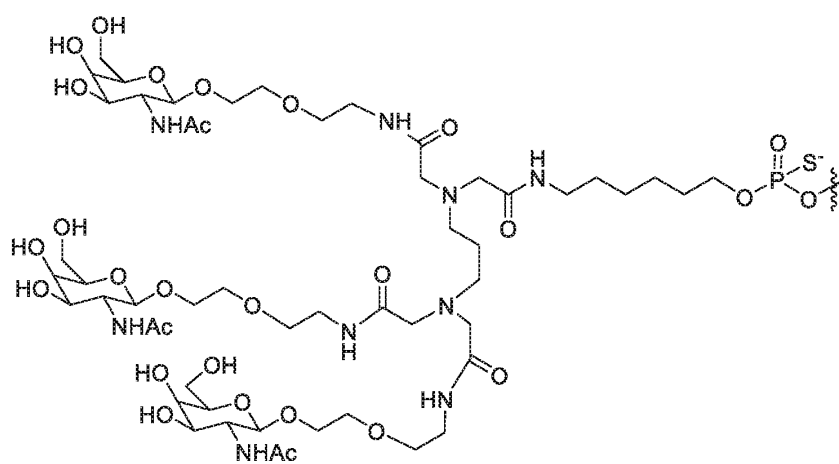
在某些实施方案中，正义链与反义链互补或基本互补，并且互补区域的长度在 16 至 23 个核苷酸之间。在一些实施方案中，互补区域的长度为 19-21 个核苷酸。在某些实施方案中，互补区域的长度为 14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个核苷酸。

在一些实施方案中，每条链的长度不超过 40 个核苷酸。在一些实施方案中，每条链的长度不超过 30 个核苷酸。在一些实施方案中，每条链的长度不超过 25 个核苷酸。在一些实施方案中，每条链的长度不超过 23 个核苷酸。在一些实施方案中，每条链的长度 4、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个核苷酸。

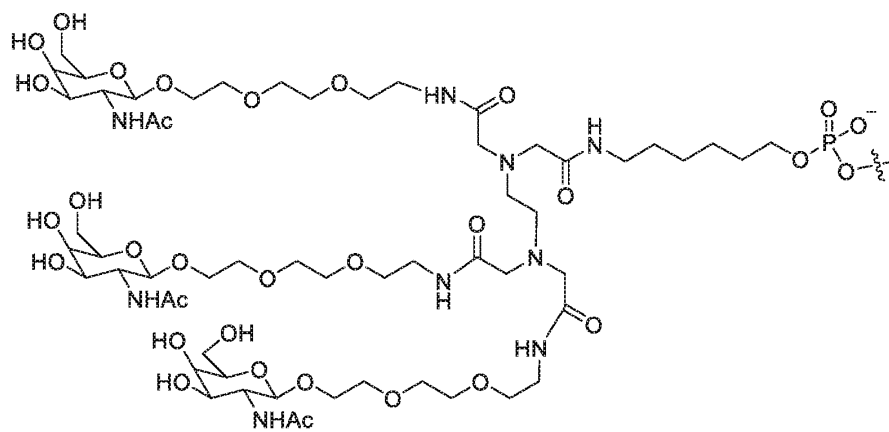
在某些实施方案中，dsRNA 试剂包含至少一种修饰的核苷酸并且还包含一个或更多个靶向基团或连接基团。在一些实施方案中，一个或更多个靶向基团或连接基团与正义链缀合。在一些实施方案中，靶向基团或连接基团包括 N-乙酰基-半乳糖胺 (GalNAc)。在一些实施方案中，靶向基团具有以下结构：



GLO-1,

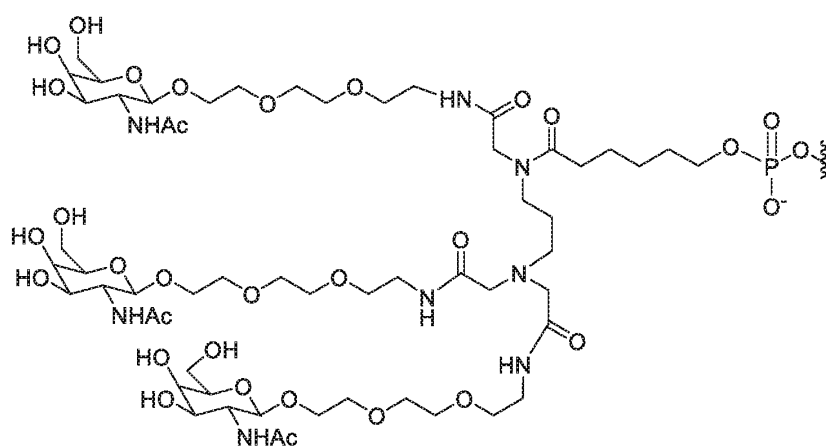


GLS-1,

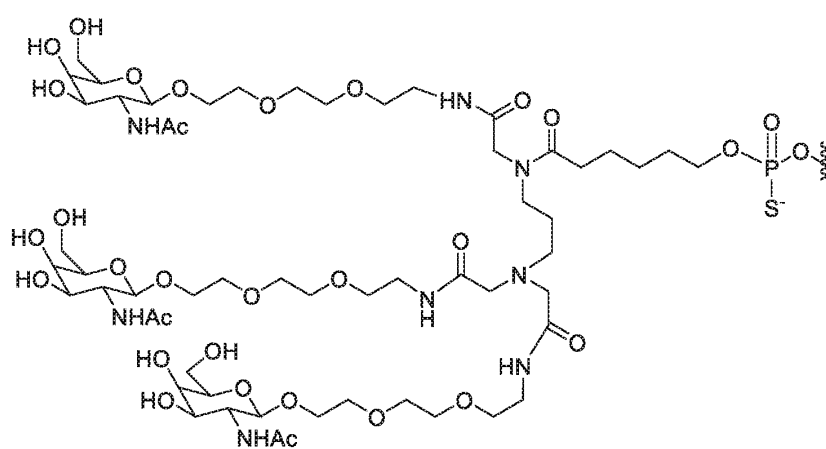


GLO-2,

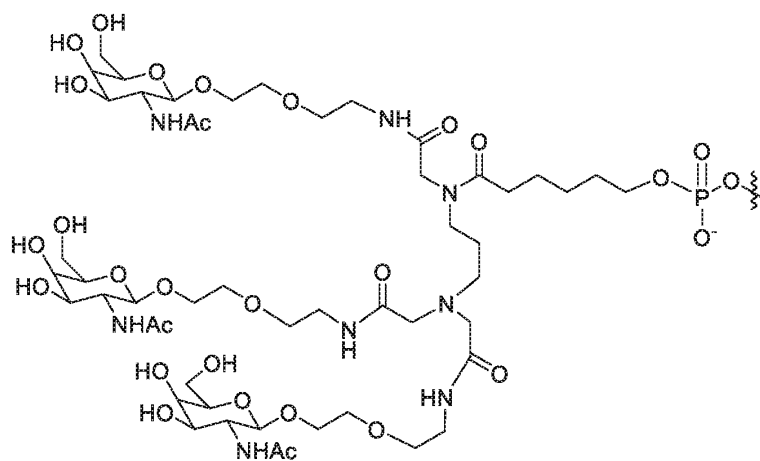




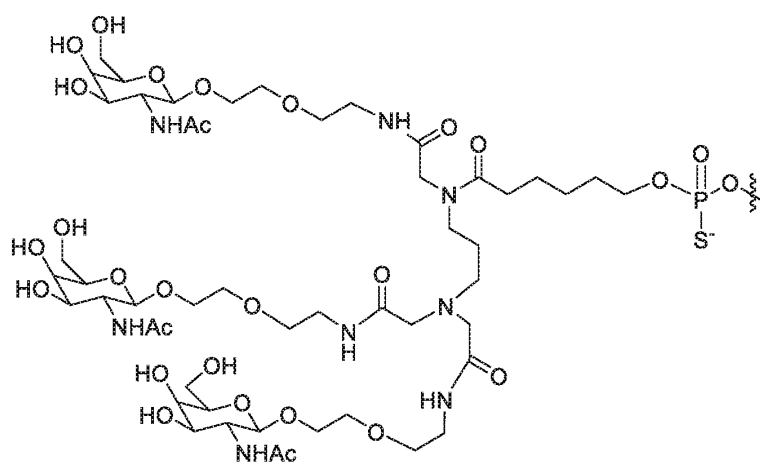
GLO-4,



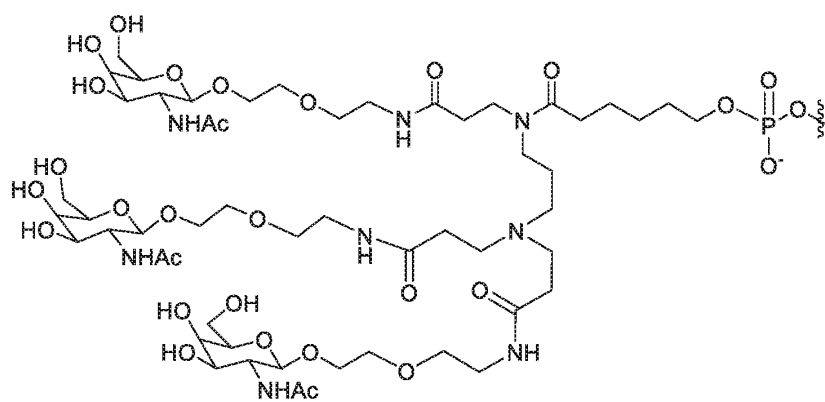
GLS-4,



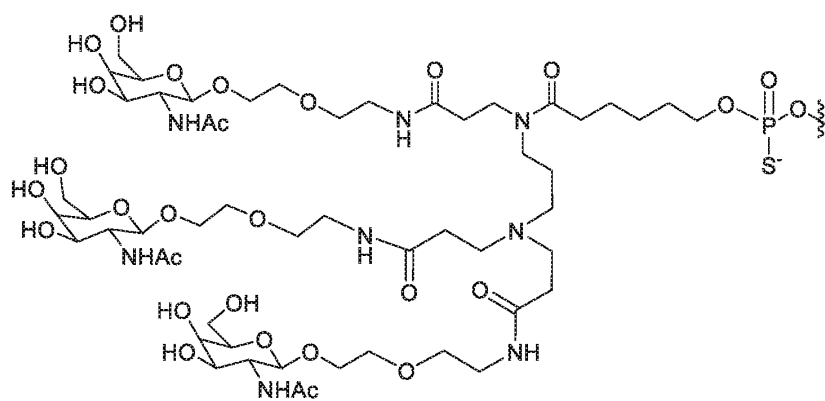
GLO-5,



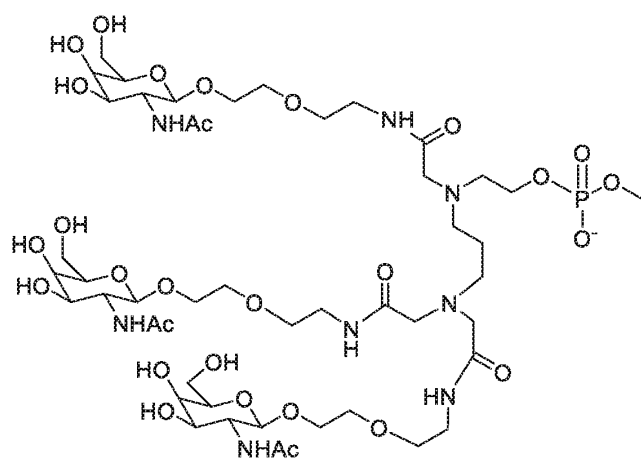
GLS-5,



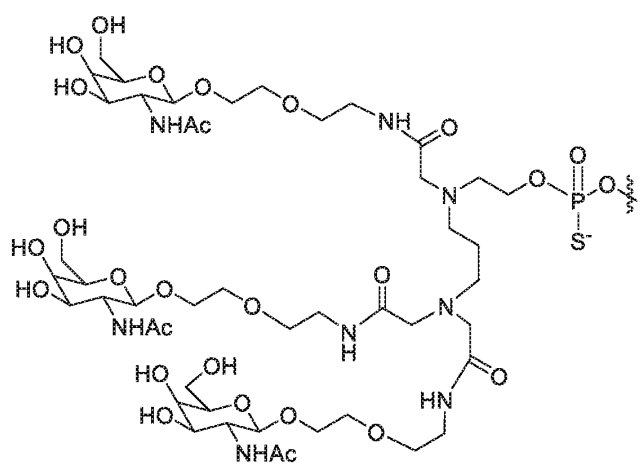
GLO-6,



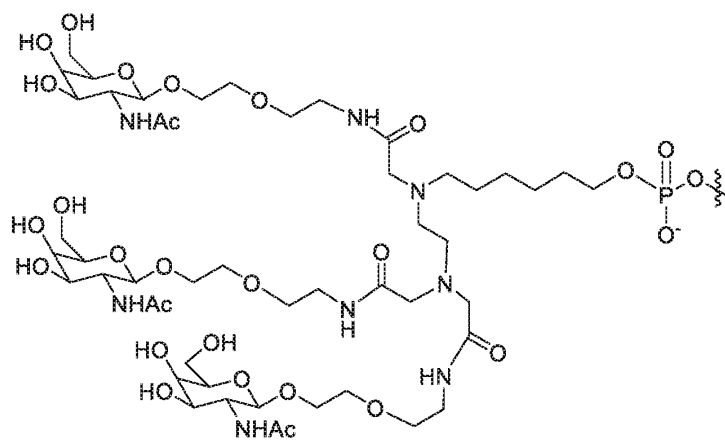
GLS-6,



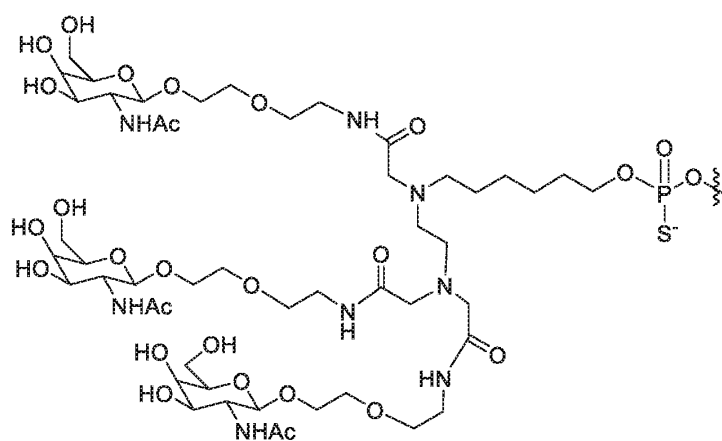
GLO-7,



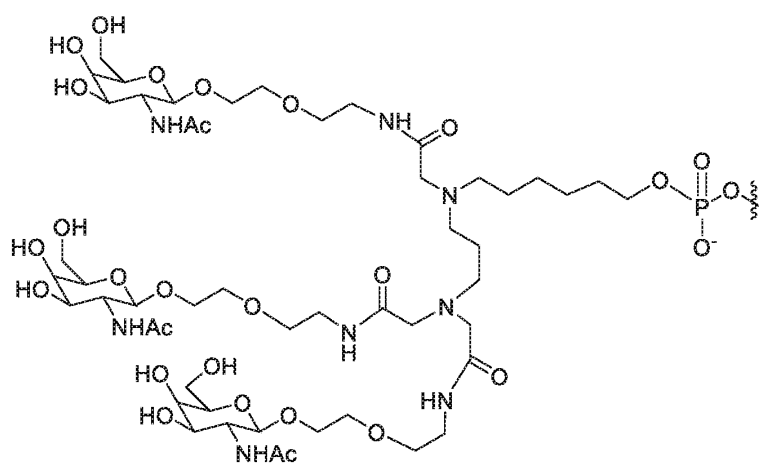
GLS-7,



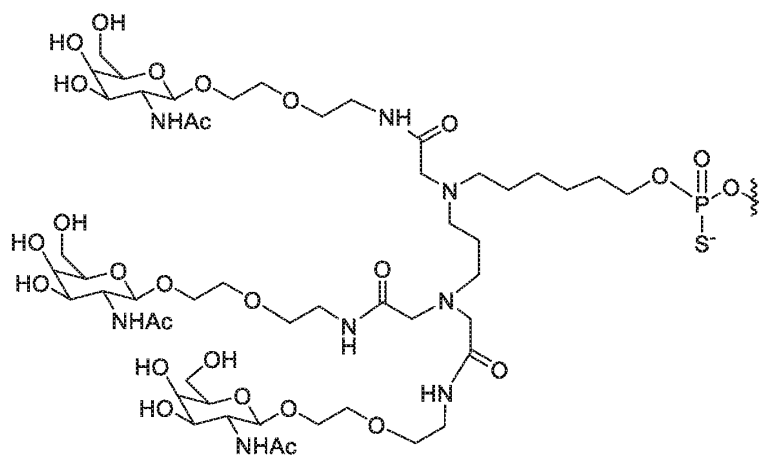
GLO-8,



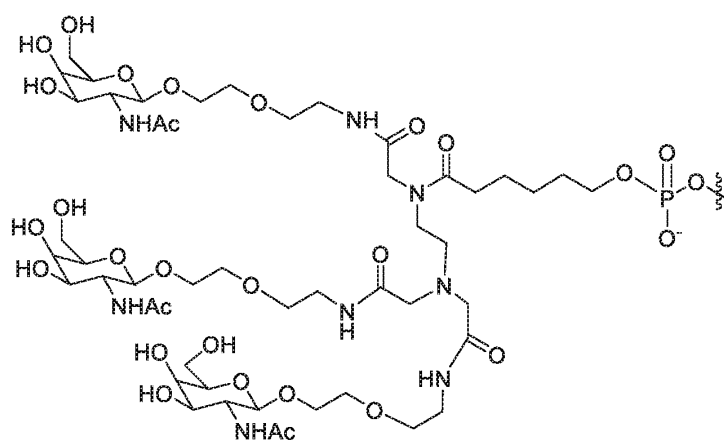
GLS-8,



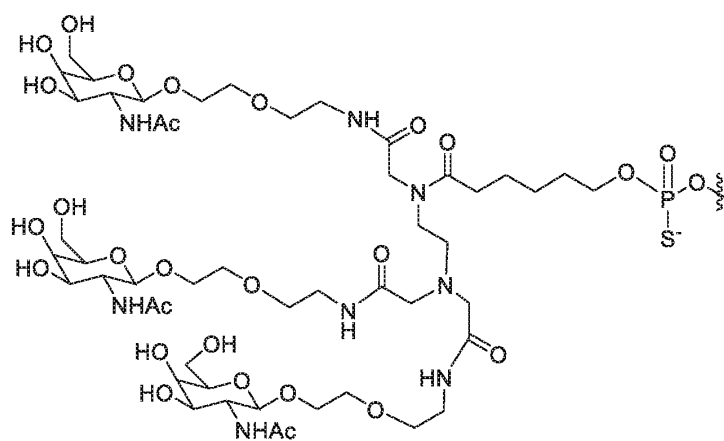
GLO-9,



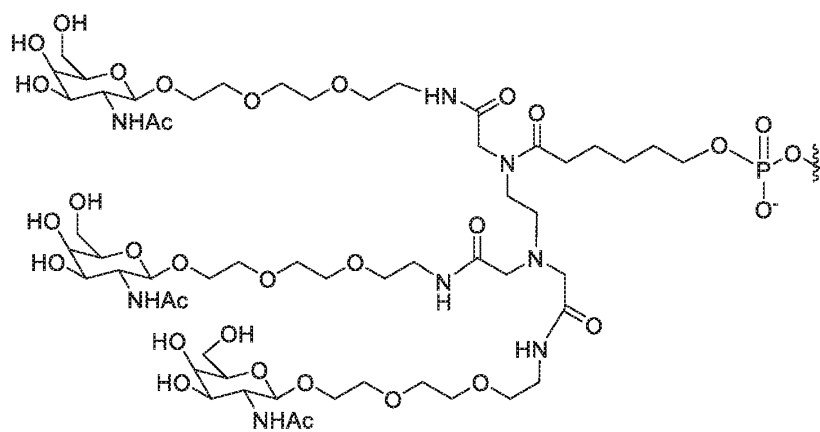
GLS-9,



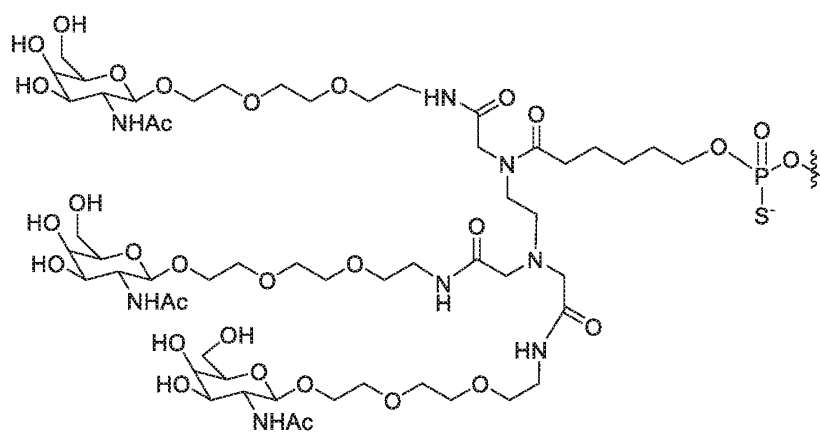
GLO-10,



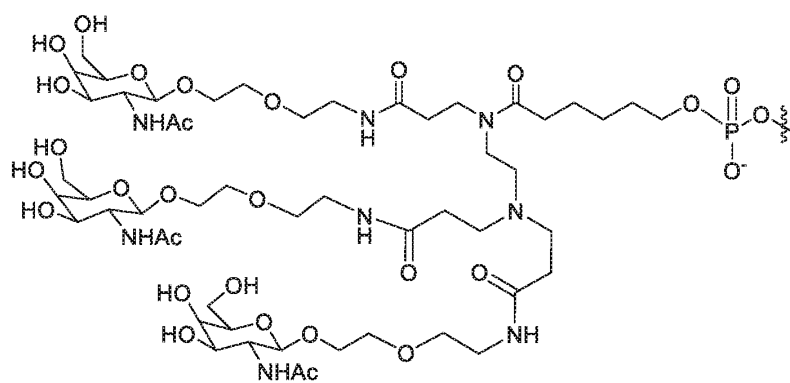
GLS-10,



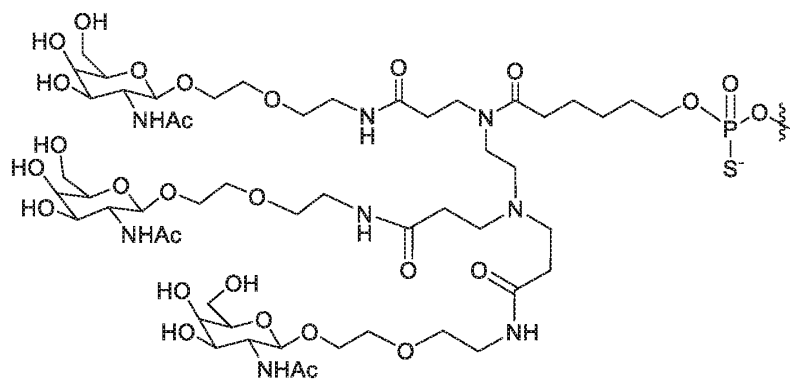
GLO-11,



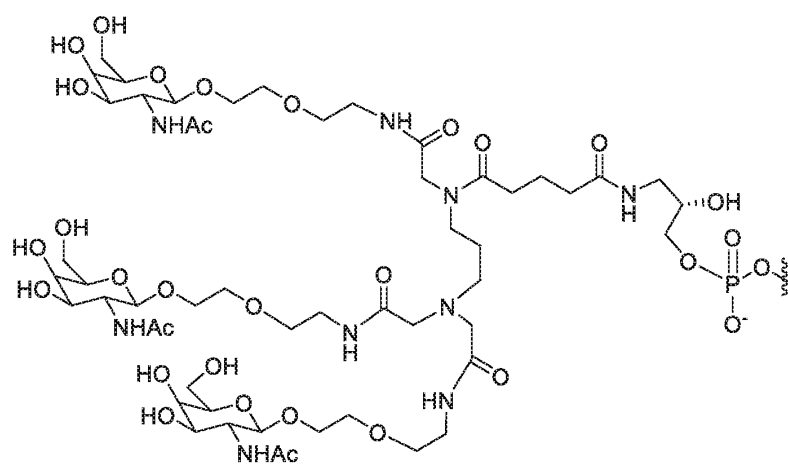
GLS-11,



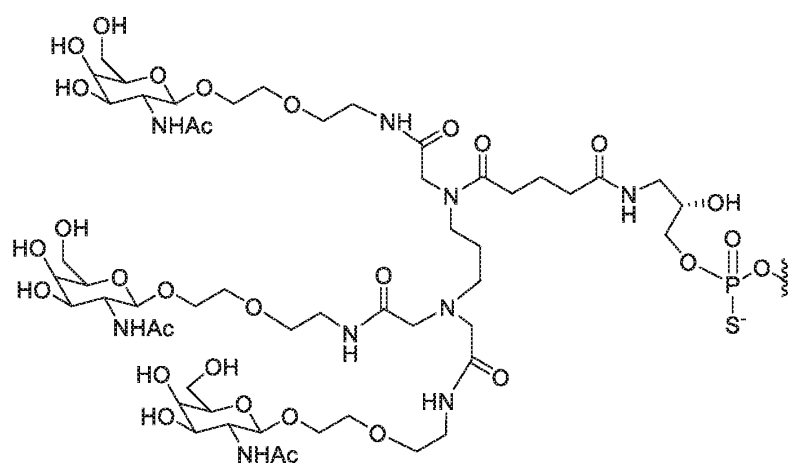
GLO-12,



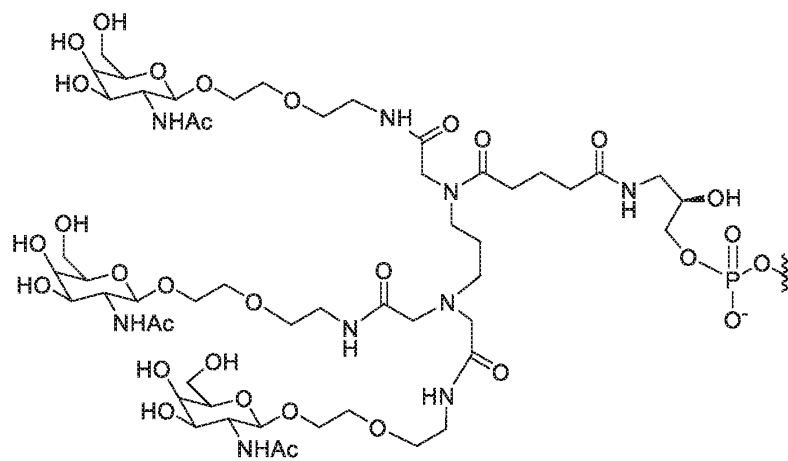
GLS-12,



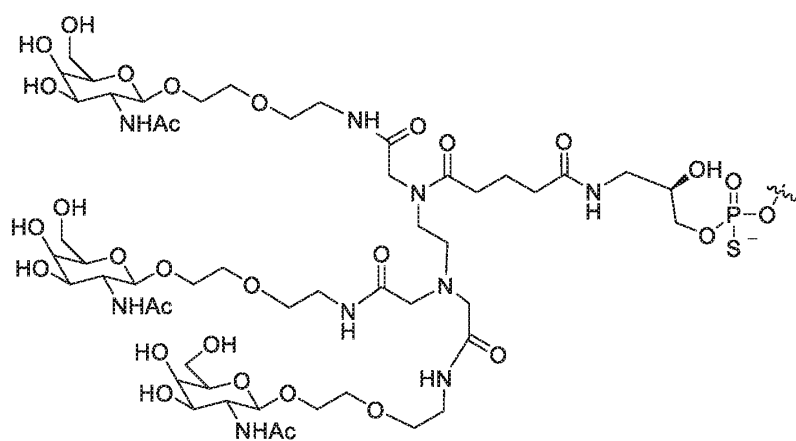
GLO-13,



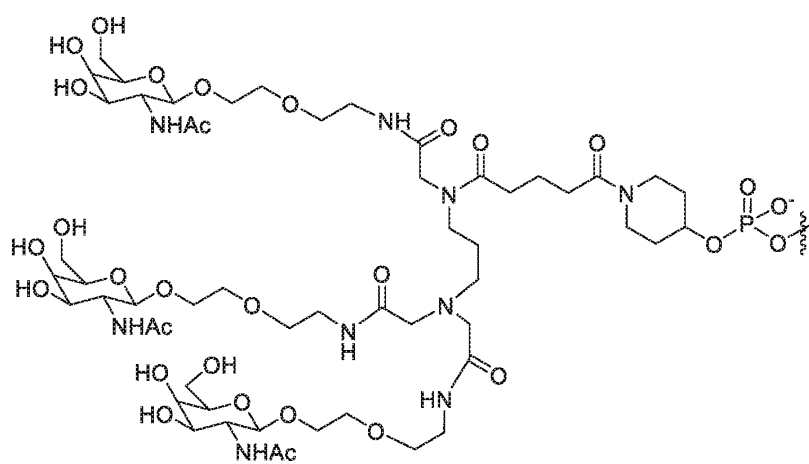
GLS-13,



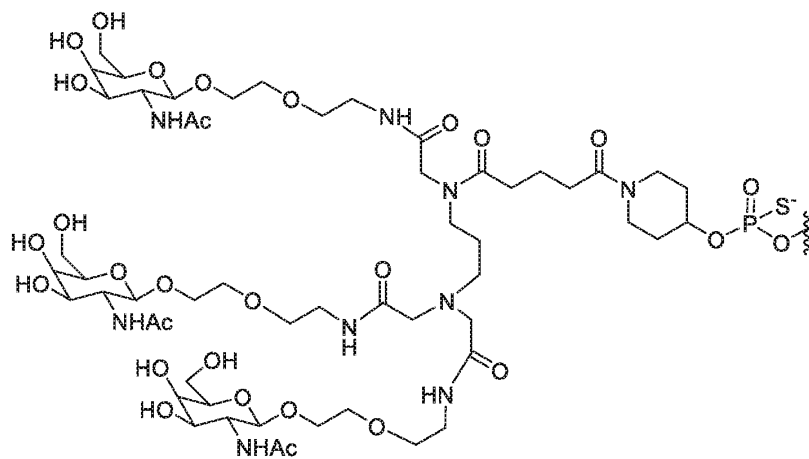
GLO-14,



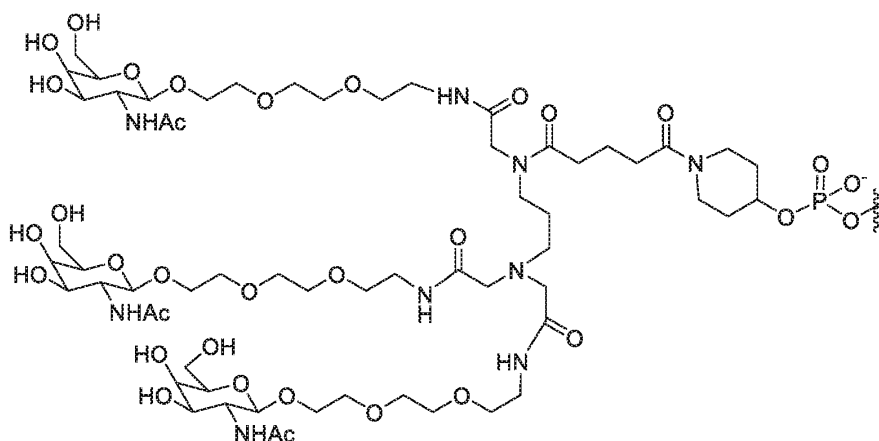
GLS-14,



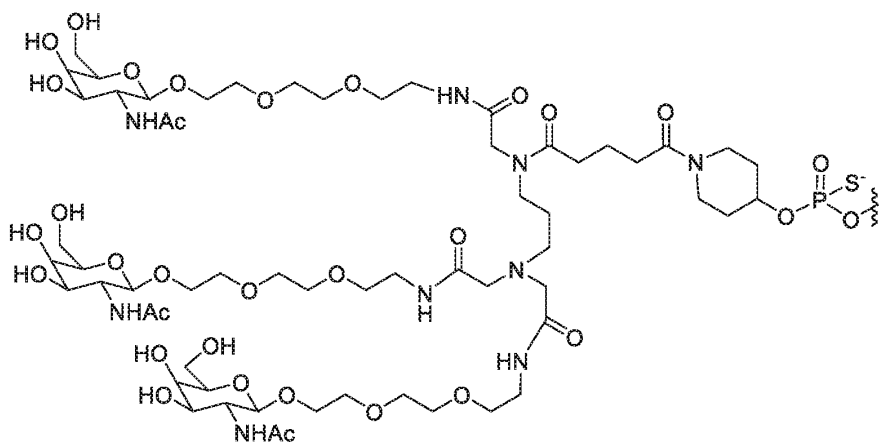
GLO-15,



GLS-15,



GLO-16, 或



GLS-16.

在某些实施方案中，dsRNA 试剂包含与正义链的 5'-末端缀合的靶向基团。在一些实施方案中，dsRNA 试剂包含与正义链的 3'-末端缀合的靶向基团。在一些实施方案中，反义链在 3'-末端包含一个反向无碱基残基。在某些实施方案中，正义链在 3'或/和 5'末端包含一个或两个反向无碱基残基。在一些实施方案中，dsRNA 试剂具有两个平末端。在一些实施方案中，至少一条链包含至少 1 个核苷酸长的 3'突出端。在一些实施方案中，至少一条链包含至少 2 个核苷酸长的 3'突出端。

在某些实施方案中，本发明涉及用于治疗の開环核酸（UNA）寡聚体。開环核酸（unlocked nucleic acid, UNA）是 RNA 的无环类似物，其中核糖环的 C2'和 C3'原子之间的键已被切断。已经证明，掺入 UNA 对 siRNA 基因沉默活性具有良好的耐受性，在某些情况下甚至可以增强其活性（Meghan A. et al. “Locked vs. unlocked nucleic acids (LNA vs. UNA): contrasting structures work towards common therapeutic goals”. *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 5680–5689）。

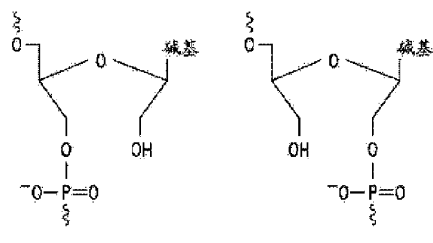
UNA 是一种热不稳定修饰, 用 UNA 替换核糖核苷酸会降低碱基配对强度和双链体稳定性。将 UNA 策略性地放置在 siRNA 反义链的种子区域可以降低通过 microRNA

(miRNA)介导的基因沉默机制中的脱靶活性。miRNA 主要通过反义种子区（从 5'端开始的第 2-8 位）与靶 mRNA 之间的碱基配对来识别靶基因，以进行基因抑制。每个 miRNA 都可能调节大量基因。RNA 诱导沉默复合物（RISC）所加载的 siRNA 反义链也可以通过 miRNA 介导的机制潜在地调节大量非预期基因。因此，在 siRNA 的种子区域中加入热不稳定的核苷酸，如 UNA，可以降低脱靶活性（Lam JK, Chow MY, Zhang Y, Leung SW. siRNA Versus miRNA as Therapeutics for Gene Silencing. Mol Ther Nucleic Acids. 2015 Sep 15;4(9):e252. doi: 10.1038/mtna.2015.23. PMID: 26372022; PMCID: PMC4877448.）。具体而言，这样的 RNA 寡核苷酸或 RNA 寡核苷酸的复合物在种子区域含有至少一个 UNA 核苷酸单体（Narendra Vaish et al. “Improved specificity of gene silencing by siRNAs containing unlocked nucleobase analog”. Nucleic Acids Research, 2011, Vol. 39, No. 5 1823–1832）。

根据本技术方案，在 RNA 寡核苷酸或 RNA 寡核苷酸的复合物中并入 UNA 的潜在优势包括但不限于：

1. 减少脱靶活性。在 siRNA 种子区添加 UNA 会降低种子区的碱基配对强度，从而降低由 micro-RNA 机制引起的潜在脱靶活性。
2. UNA 在 siRNA 活性方面具有良好的耐受性。在某些情况下，UNA 可以导致活性增强。

可用于本技术方案的示例性 UNA 单体包括但不限于：



在一些实施例中，dsRNA 试剂是经修饰的双链体，为选自表 2-4：AD00158-19-2、AD00158-19-1、AD00158-3、AD00158-1、AD00158-2、AD00158、AD00159、AD00159-1、AD00159-2、AD00159-19-1、AD00159-19-2、AD00163、AD00163-1、AD00163-2、AD00163-19-1、AD00163-19-2、AD00163-3、AD00300-1、AD00300-19-1、AD00300-19-2 中任意一条双链体。

在一些实施例中，dsRNA 试剂是经修饰的双链体，为选自表 2-4：AV01227、AV01228、AV01229、AV01230、AV01231、AV01232、AV01233、AV01234、AV01235、AV01236、AV01237、AV01238、AV01239、AV01240、AV01241、AV01242、AV01243、AV01244、AV01245、AV01246、AV01247、AV01248、AV01249、AV01250、AV01251、AV01252、

AV01253、AV01254、AV01255、AV01256、AV01257 中任意一条双链体。

根据本发明的一个方面，提供了一种组合物，其包含本发明上述 dsRNA 试剂方面的任意实施方案。在某些实施方案中，组合物还包含药学上可接受的载体。在一些实施方案中，组合物还包含一种或更多种另外的治疗剂。在某些实施方案中，组合物被包装在药盒、容器、包装物、分配器、预填充注射器或小瓶中。在一些实施方案中，组合物被配制用于皮下给药或被配制用于静脉内（IV）给药。

根据本发明的另一方面，提供了一种细胞，其包含本发明上述 dsRNA 试剂方面的任意实施方案。在一些实施方案中，细胞是哺乳动物细胞，任选地是人细胞。

根据本发明的另一方面，提供了一种抑制细胞中 AGT 基因表达的方法，该方法包括：(i)制备包含有效量的上述 dsRNA 试剂或上述组合物方面的任意实施方案的细胞。在某些实施方案中，该方法还包括：(ii)将制备的细胞维持足够的时间以获得 AGT 基因的 mRNA 转录物的降解，从而抑制细胞中 AGT 基因的表达。在一些实施方案中，细胞在对象体内并且 dsRNA 试剂经皮下施用于对象。在一些实施方案中，细胞在对象体内并且 dsRNA 试剂通过 IV 给药施用于对象。在某些实施方案中，该方法还包括在向对象施用 dsRNA 试剂后评估对 AGT 基因的抑制，其中评估的手段包括：(i) 确定对象中 AGT 相关疾病或病症的一个或多个生理特征，以及(ii)将所确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征和/或 AGT 相关疾病或病症的对照生理特征进行比较，其中的比较结果指示对象中 AGT 基因表达的抑制存在或不存在。在一些实施方案中，所确定的生理特征是在血液中的 AGT 水平；在一些实施方案中，所确定的生理特征是血压，其包括收缩压（SBP）、舒张压（DBP）和平均动脉压（MAPR）。血液中 AGT 水平和/或血压的降低表明对象中 AGT 基因表达的降低。

根据本发明的另一方面，提供了一种抑制对象中 AGT 基因表达的方法，其包括向对象施用有效量的前述 dsRNA 试剂方面的实施方案或前述组合物的实施方案。在一些实施方案中，将 dsRNA 试剂皮下施用于对象。在某些实施方案中，dsRNA 试剂通过 IV 给药施用于对象。在一些实施方案中，该方法还包括：在施用 dsRNA 试剂后评估 AGT 基因的抑制，其中评估手段包括：(i) 确定对象的 AGT 相关疾病或病症的一种或更多种生理特征；(ii)将确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征和/或 AGT 相关疾病或病症的对照生理特征进行比较；其中比较结果指示对象中 AGT 基因表达的抑制存在或不存在。在一些实施方案中，所确定的生理特征是在血液中的 AGT 水平；在一些实施方案中，所确定的生理特征是血压，其包括收缩压（SBP）、舒张压（DBP）和平均动脉压（MAPR）。血液中 AGT 水平和/或血压的降低表明对象中 AGT 基因表达的降低。

根据本发明的另一方面，提供了一种治疗与 AGT 蛋白相关之疾病或病症的方法，其包括：向对象施用有效量的本发明的前述 dsRNA 试剂方面的任意实施方案或本发明的前述

组合物的任意实施方案，以抑制 AGT 基因表达。在某些实施方式中，AGT 相关障碍选自：高血压病、高血压、临界性高血压、原发性高血压、继发性高血压、孤立性收缩期或舒张期高血压、妊娠相关高血压、糖尿病性高血压、顽固性高血压、难治性高血压、阵发性高血压、肾血管性高血压、戈德布拉特氏（Goldblatt）高血压、眼高血压、青光眼、肺高血压、门脉高血压、系统性静脉高血压、收缩期高血压、不稳定性高血压；高血压性心脏病、高血压性肾病变、动脉粥样硬化、动脉硬化、血管病变、糖尿病性肾病变、糖尿病性视网膜病变、慢性心力衰竭、心肌病变、糖尿病性心肌病变、肾小球硬化症、主动脉狭窄、主动脉瘤、心室纤维化、心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病、肾衰竭、系统性硬化症、宫内发育迟缓（IUGR）、胎儿生长受限。在一些实施方案中，该方法还包括：向对象施用另外的治疗方案。在一些实施方案中，另外的治疗方案包括 AGT 相关疾病或病症的治疗。在某些实施方案中，另外的治疗方案包括：向对象施用一种或更多种本发明的 AGT 反义多核苷酸；向对象施用非 AGT dsRNA 治疗剂；以及在对象中进行行为改变。在一些实施方案中，非 AGT dsRNA 治疗剂是以下中的一种：另外的治疗剂，如利尿剂、血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、 β -阻滞剂、血管扩张剂、钙通道阻滞剂、醛固酮拮抗剂、 α_2 -激动剂、肾素抑制剂、 α -阻滞剂、外周作用肾上腺素能剂、选择性 D1 受体部分激动剂、非选择性 α -肾上腺素能拮抗剂、合成的、甾体抗盐皮质激素剂，或上述任何的组合，及配制成药剂组合的高血压治疗剂。

在一些实施方案中，将 dsRNA 试剂皮下施用于对象。在某些实施方案中，dsRNA 试剂通过 IV 给药施用于对象。在一些实施方案中，该方法还包括确定所施用的双链核糖核酸（dsRNA）试剂在对象中的功效。在一些实施方案中，确定治疗在对象中的功效的手段包括：(i) 确定对象中 AGT 相关疾病或病症的一种或更多种生理特征；(ii) 将确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征进行比较，其中该比较结果指示对对象施用双链核糖核酸（dsRNA）试剂的功效存在、不存在和水平中的一种或更多种。在一些实施方案中，所确定的生理特征是在血液中的 AGT 水平；在一些实施方案中，所确定的生理特征是血压，其包括收缩压（SBP）、舒张压（DBP）和平均动脉压（MAPR）。血液中 AGT 水平和/或血压的降低表明对对象施用双链核糖核酸（dsRNA）试剂的有效性的存在。

根据本发明的另一方面，提供了与对象中 AGT 蛋白的基线治疗前水平相比降低对象中 AGT 蛋白水平的方法，其包括向对象施用有效量的本发明的前述 dsRNA 试剂方面的任意实施方案或本发明的前述组合物的任意实施方案，以降低 AGT 基因表达的水平。在一些实施方案中，将 dsRNA 试剂皮下施用于对象或通过 IV 施用于对象。

根据本发明的另一方面，提供了与对象中 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征相比改变对象中 AGT 相关疾病或病症的生理特征的方法，该方法包括向对象施用有效量的本发明前述 dsRNA 试剂方面的任意实施方案或本发明的前述组合物的任意实施方案，以

改变对象中 AGT 相关疾病或病症的生理特征。在一些实施方案中，将 dsRNA 试剂皮下施用于对象或通过 IV 施用于对象。在某些实施方案中，生理特征是在血液中的 AGT 水平；在一些实施方案中，所确定的生理特征是血压，其包括收缩压（SBP）、舒张压（DBP）和平均动脉压（MAPR）。

序列说明

双链体 AD00051 至 AD00122-19-2、AD00163-3、AV01227至AVAV01257、AV01711 显示在表 1 中并且显示了其正义链序列。

双链体 AD00051 至 AD00122-19-2、AD00163-3、AV01227至AVAV01257、AV01711 显示在表 1 中并且显示了其反义链序列。

SEQ ID NO: 519 是人血管紧张素原（AGT）mRNA [NCBI 参考序列：NM_001384479.1]：

```
GAAGAAGCTGCCGTTGTTCTGGGTACTACAGCAGAAGGGTATGCGGAAGCGAGCACCC
CAGTCTGAGATGGCTCCTGCCGGTGTGAGCCTGAGGGCCACCATCCTCTGCCTCCTGGC
CTGGGCTGGCCTGGCTGCAGGTGACCGGGTGTACATACACCCCTTCCACCTCGTCATCC
ACAATGAGAGTACCTGTGAGCAGCTGGCAAAGGCCAATGCCGGGAAGCCCAAAGACC
CCACCTTCATACCTGCTCCAATTCAGGCCAAGACATCCCCTGTGGATGAAAAGGCCCTA
CAGGACCAGCTGGTGCTAGTCGCTGCAAACTTGACACCGAAGACAAGTTGAGGGCCG
CAATGGTCGGGATGCTGGCCAACTTCTTGGGCTTCCGTATATATGGCATGCACAGTGAGC
TATGGGGCGTGGTCCATGGGGCCACCGTCCTCTCCCCAACGGCTGTCTTTGGCACCCCTG
GCCTCTCTCTATCTGGGAGCCTTGGACCACACAGCTGACAGGCTACAGGCAATCCTGGG
TGTTCCCTTGGAAGGACAAGAACTGCACCTCCCGGCTGGATGCGCACAAGGTCCTGTCT
GCCCTGCAGGCTGTACAGGGCCTGCTAGTGGCCCAGGGCAGGGCTGATAGCCAGGCCC
AGCTGCTGCTGTCCACGGTGGTGGGCGTGTTCACAGCCCCAGGCCTGCACCTGAAGCA
GCCGTTTGTGCAGGGCCTGGCTCTCTATACCCCTGTGGTCCCTCCACGCTCTCTGGACTT
CACAGAACTGGATGTTGCTGCTGAGAAGATTGACAGGTTTCATGCAGGCTGTGACAGGA
TGGAAGACTGGCTGCTCCCTGATGGGAGCCAGTGTGGACAGCACCCCTGGCTTTCAACA
CCTACGTCCACTTCCAAGGGAAGATGAAGGGCTTCTCCCTGCTGGCCGAGCCCCAGGA
GTTCTGGGTGGACAACAGCACCTCAGTGTCTGTTCCCATGCTCTCTGGCATGGGCACCT
TCCAGCACTGGAGTGACATCCAGGACAACCTTCTCGGTGACTCAAGTGCCCTTCACTGA
GAGCGCCTGCCTGCTGCTGATCCAGCCTCACTATGCCTCTGACCTGGACAAGGTGGAGG
GTCTCACTTTCCAGCAAACTCCCTCAACTGGATGAAGAACTATCTCCCCGGACCATC
CACCTGACCATGCCCCAACTGGTGTGCAAGGATCTTATGACCTGCAGGACCTGCTCGC
CCAGGCTGAGCTGCCCCGCCATTCTGCACACCGAGCTGAACCTGCAAAAATTGAGCAAT
```

GACCGCATCAGGGTGGGGGAGGTGCTGAACAGCATTTTTTTTGAGCTTGAAGCGGATG
AGAGAGAGCCCACAGAGTCTACCCAACAGCTTAACAAGCCTGAGGTCTTGGAGGTGAC
CCTGAACCGCCCAATCCTGTTTGTGTGTATGATCAAAGCGCCACTGCCCTGCACTTCCT
GGGCCGCGTGGCCAACCCGCTGAGCACAGCATGAGGCCAGGGCCCCAGAACACAGTG
CCTGGCAAGGCCTCTGCCCCCTGGCCTTTGAGGGCAAAGGCCAGCAGCAGATAACAACCC
CGGACAAATCAGCGATGTGTCACCCCCAGTCTCCACCTTTTCTTCTAATGAGTCGACTT
TGAGCTGGAAAGCAGCCGTTTCTCCTTGGTCTAAGTGTGCTGCATGGAGTGAGCAGTAG
AAGCCTGCAGCGGCACAAATGCACCTCCCAGTTTGCTGGGTTTATTTTAGAGAATGGGG
GTGGGGGAGGCAAGAACCAGTGTTTAGCGCGGGACTACTGTTCCAAAAAGAATTCCAAC
CGACCAGCTTGTTTGTGAAACAAAAAAGTGTTCCCTTTTCAAGTTGAGAACAAAAATT
GGGTTTTAAATTAAGTATACATTTTGCATTGCCTTCGGTTTGTATTTAGTGTCTTGAA
TGTAAGAACATGACCTCCGTGTAGTGTCTGTAATACCTTAGTTTTTCCACAGATGCTTG
TGATTTTTGAACAATACGTGAAAGATGCAAGCACCTGAATTTCTGTTTGAATGCGGAAC
CATAGCTGGTTATTTCTCCCTTGTGTTAGTAATAAACGTCTTGCCACAATAAGCCTCCAA
AAA。

SEQ ID NO: 520 是小鼠血管紧张素原 (AGT) mRNA [NCBI 参考序列: NM_007428.4]

ATGACTCCACGGGGGAGGCCTGAAGGCCACCATCTTCTGCATCTTGACCTGGGTGAG
CCTGACGGCTGGGGACCGCGTATACATCCACCCCTTCCATCTCCTTTACCACAACAAGA
GCACCTGCGCCCAGCTGGAGAACCCCAAGTGTGGAGACACTCCCAGAGTCAACGTTTCGA
GCCTGTGCCCATTGAGGCCAAGACCTCCCCTGTGAATGAGAAGACCCTGCATGATCAGC
TCGTGCTGGCCGCGGAGAAGCTAGAGGATGAGGACCGGAAGCGGGCTGCCAGGTGCG
CAATGATCGCCAACCTTCGTGGGCTTCCGCATGTACAAGATGCTGAATGAGGCAGGAAGT
GGGGCCAGTGGGGCCATCCTCTCACCACCAGCTCTCTTTGGCACCCCTGGTCTCTTTCTA
CCTTGGATCCTTAGATCCCACGGCCAGCCAGCTGCAGACGCTGCTGGATGTCCCTGTGA
AGGAGGGAGACTGCACCTCCCGACTAGATGGACACAAGGTCCTCGCTGCCCTGCGGGC
CATTCAGGGCTTGCTGGTCAACCAGGGTGGGAGCAGCAGCCAGACACCCCTGCTACAG
TCCATTGTGGTGGGGCTCTTCACTGCTCCAGGCTTTCGTCTAAAGCACTCATTGTTCAG
AGCCTGGCTCTCTTTACCCCTGCCCTCTTCCCACGCTCTCTGGATTTATCCACTGACCCA
GTTCTTGCCACTGAGAAAATCAACAGGTTTCATAAAGGCTGTGACAGGGTGGAAGATGA
ACTTGCCACTGGAGGGGGTCAAGTACAGACAGCACCTACTTTTCAACACCTACGTTTCAC
TTCCAAGGAACGATGAGAGGTTTCTCTCAGCTGCCTGGAGTCCATGAATTCTGGGTGGA
CAACAGCATCTCGGTGTCTGTGCCCATGATCTCCGGCACTGGCAACTTCCAGCACTGGA
GTGACACCCAGAACAACTTCTCCGTGACGTGCGTGCCCTAGGTGAGAGAGCCACCCCT
GCTGCTCATCCAGCCCCACTGCACCTCAGATCTCGACAGGGTGGAGGCCCTCATCTTCC

GGAACGACCTCCTGACTTGGATAGAGAACCCGCCTCCTCGGGCCATCCGCCTGACTCTG
CCCCAGCTGGAAATCCGAGGATCCTACAATCTGCAGGACCTGCTGGCTGAGGACAAGC
TGCCCACCCTTTTGGGTGCGGAGGCAAATCTGAACAACATTGGTGACACCAACCCCCG
AGTGGGAGAGGTTCTCAATAGCATCCTCCTCGAACTCAAAGCAGGAGAGGAGGAACAG
CCGACCACGTCTGTCCAGCAGCCTGGCTCACCGGAGGCACTGGATGTGACCCTGAGCA
GCCCCCTCCTGTTTCGCCATCTACGAGCAGGACTCAGGCACGCTGCACTTTCTGGGCAGA
GTGAATAACCCCCAGAGTGTGGTGTGA

SEQ ID NO: 521 是食蟹猴血管紧张素原（AGT）mRNA [NCBI 参考序列：
NM_001283634.1]

ATGCAGAAAGCGAGCACCCCAGTCCGAGATGGCTCCTGCCAGCGTGAGCCTGAGGGCCA
CCATCCTCTGCCTCCTGGCCTGGGCTGGCCTGGCCACAGGTGACCGGTGTACATACAC
CCCTTCCACCTCGTCATCCACAATGAGAGTACCTGTGAGCAGCTGGCAAAGGCCGATGC
TGGAAGCCCCAAAGATCCCACCTTCACACCTGTTCCGATACAGGCCAAGACGTCTCCTG
TGGATGAAAAGGCCCTGCAGGACCAGCTAGTGCTGGTTGCCGAAAACTCGACACCGA
GGACAAGTTGAGAGCCGCGATGGTCGGGATGCTGGCCAACTTCTTGGGCTTCCGTATAT
ATGGCATGCACAGTGAGCTATGGGGCGTGGTCCATGGGGCCACCATCCTCTCCCCAACG
GCTGTCTTTGGCACCCCTGGCCTCTCTCTACCTGGGAGCGTTGGACCACACAGCCGACAG
GCTACAGGCAATCCTGGGCGTCCCTTGGAAGGACAAGAACTGCACCTCCCGGCTGGAT
GCGCACAAGGTCTCTCTGCCCTGCAGGCTGTACAGGGCCTGCTGGTGGCCCAGGGCA
GGGCTGACGGCCAGTCCCAGCTGCTGTTGTCCACAGTGGTGGGTCTCTTCACAGCCCC
AGATCTGCACCTGAAGCAGCCGTTTGTGCAGGGCCTGGCTCTCTATGCCCCTGTGGTCC
TCCCACGCTCTCTGGACTTCACAGACCTGGAAGTCGCTGCTGAGAAGATTGACAGGTTC
ATGCAGGCTGTGACAGGATGGAAGATTAGCAGCCCCCTGACGGGAGCCAGTGCGGACA
GCACCCTGGTTTTCAACACCTACGTCCATTTCCAAGGGAAGATGAGGGACTTCTTCCTG
CTGGCTGAGCCCCAGGAGTTCTGGGTGGACAACAGCACCTCAGTGTCTGTCCCCATGCT
GTCTGGCGTGGGCACCTTCCAGCACTGGAGCGACGCCAGGACAACCTTCTCAGTGACT
CAAGTGCCCTTTACTGAGAGCGCCTGCTTGCTGCTGATTCAGCCTCACTACGCCTCTGA
CCTGGACAAGGTGGAGGGTCTCACTTTCCAGCAAACTCCCTCAACTGGATGAAGAAA
CTGTCTCCCCGGGCCATCCACCTGACCATGCCCCGACTGGTGCTGCGAGGATCTTATGA
CCTGCAGGACCTGCTTGCCCAGGCTGAGCTGCCCGCCATTCTGGGCACCGAGCTGAAC
CTGCAAAAATTGAGCAATGACAACCTCAGGGTGGGGAAGGTGCTGAACAGCATTCTTT
TTGAACTCGAAGCGGATGAGAGAGAGCCCACAGAGTCTACCCGACAGCTGAACAGGC
CTGAGTTCTTGGAGGTGACCCTGGACCGCCCATTCCTGTTTGCTGTGTATGATCAAAGT
GCCACTGCCCTGCACTTCCTGGGCGTGTGGCCAACCCGCTGAGCCCAGCATGA

在显示于表 2 的序列中，化学修饰表示为：大写：2'-氟；小写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*。

在显示于表 3 的序列中，体内研究中使用的递送分子在每条正义链的 3'末端表示为“GLO-0”。化学修饰表示为：大写：2'-氟；小写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*；开环核酸：UNA（注：AD00052、AD00113-AD00260：无 UNA；AD00282-AD00301：UNA 版本）。

在显示于表 4 的序列中，化学修饰表示为：大写：2'-氟；小写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*；Invab = 反向无碱基。

附图说明：图 1 是分别给予 2 mg/kg 的 AD00158-1、AD00158-2、AD00163-1、AD00159-1、AD00300-1 后食蟹猴血清 AGT 蛋白水平示意图；

图 2 是给予 10mg/kg 的 AD00163-3 后食蟹猴血清 AGT 蛋白水平示意图；

图 3 是给予 10mg/kg 的 AD00163-3 后食蟹猴血清 SBP 变化示意图；

图 4 是给予 10mg/kg 的 AD00163-3 后食蟹猴平均血压（MBP）示意图；

图 5 是给予 10mg/kg 的 AD00163-3 后食蟹猴舒张压（DBP）示意图。

具体实施方式

本发明的部分实施方案包括能够抑制血管紧张素原（AGT）基因表达的 RNAi 试剂，例如但不限于双链(ds)RNAi 试剂。本发明的部分实施方案还包括包含 AGT RNAi 试剂的组合物和使用该组合物的方法。本文公开的 AGT RNAi 试剂可接附于递送化合物以递送至细胞，包括递送至肝细胞。本发明的药物组合物可包含至少一种 dsAGT 试剂和递送化合物。在本发明的一些实施方案中，递送化合物是含 GalNAc 的递送化合物。递送至细胞的 AGT RNAi 试剂能够抑制 AGT 基因表达，从而降低基因的 AGT 蛋白产物在细胞中的活性。本发明的 dsRNAi 试剂可用于治疗 AGT 相关疾病和病症。这样的 dsRNAi 试剂包括例如表 1 中所显示的双链体 AD00051 至 AD00122-19-2。在一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如双链体 AD00158、AD00163、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122。在另一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如 AD00158-1、AD00158-2、AD00163-1、AD00163-3、AD00159-1 或 AD00300-1。在其他一些实施方案中，这样的 dsRNAi 试剂包括双链体变体，例如双链体 AD00158、AD00163、AD00163-3、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122 的变体。

在本发明的一些实施方案中，降低细胞或对象中 AGT 表达分别治疗与细胞或对象中 AGT 表达相关的疾病或病症。可通过降低 AGT 活性治疗的疾病和病症的非限制性实例是：高血压病、高血压、临界性高血压、原发性高血压、继发性高血压、孤立性收缩期或舒张期

高血压、妊娠相关高血压、糖尿病性高血压、顽固性高血压、难治性高血压、阵发性高血压、肾血管性高血压、戈德布拉特氏（Goldblatt）高血压、眼高血压、青光眼、肺高血压、门脉高血压、系统性静脉高血压、收缩期高血压、不稳定性高血压；高血压性心脏病、高血压性肾病变、动脉粥样硬化、动脉硬化、血管病变、糖尿病性肾病变、糖尿病性视网膜病变、慢性心力衰竭、心肌病变、糖尿病性心肌病变、肾小球硬化症、主动脉狭窄、主动脉瘤、心室纤维化、心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病、肾衰竭、系统性硬化症、宫内发育迟缓（IUGR）、胎儿生长受限。

下面描述了如何制备和使用包含 AGT 单链（ssRNA）和双链（dsRNA）试剂的组合物来抑制 AGT 基因表达，以及用于治疗由 AGT 基因表达引起或调节的疾病和病症的组合物和方法。术语“RNAi”也是本领域已知的，并且可以被称为“siRNA”。

如本文所用，术语“RNAi”是指包含 RNA 并通过 RNA 诱导的沉默复合物（RISC）途径介导 RNA 转录物的靶向切割的试剂。如本领域已知的，RNAi 靶区域是指在基因转录过程中形成的 RNA 分子的核苷酸序列的连续部分，其包括信使 RNA（mRNA），它是初级转录产物 RNA 的加工产物。该序列的靶标部分将至少足够长以用作在该部分处或附近进行 RNAi 定向切割的底物。靶序列可以是 8-30 个核苷酸长（包括端值）、10-30 个核苷酸长（包括端值）、12-25 个核苷酸长（包括端值）、15-23 个核苷酸长（包括端值）、16-23 个核苷酸长（包括端值），或 18-23 个核苷酸长（包括端值），并包括每个规定范围内的所有较短长度。在本发明的一些实施方案中，靶序列为 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25 或 26 个核苷酸长。在某些实施方案中，靶序列的长度在 9 到 26 个核苷酸之间（包括端值），包括其间的所有子范围和整数。例如，虽然不意在限制，但在本发明的某些实施方案中，靶序列为 8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个核苷酸长，该序列与 AGT 基因的 RNA 转录物的至少一部分完全或至少基本上互补。本发明的一些方面包括包含一种或更多种 AGT dsRNA 试剂和药学上可接受的载体的药物组合物。在本发明的某些实施方案中，如本文所述的 AGT RNAi 抑制 AGT 蛋白的表达。

如本文所用，“dsRNA 试剂”是指包含 RNA 或 RNA 样（例如，化学修饰的 RNA）寡核苷酸分子的组合物，其能够降解或抑制靶 mRNA 转录物的翻译。尽管不希望限于特定理论，但本发明的 dsRNA 试剂可通过 RNA 干扰机制起作用（即，通过与哺乳动物细胞的 RNA 干扰途径机制（RNA 诱导的沉默复合物或 RISC）相互作用来诱导产生 RNA 干扰），或通过任何替代机制或途径起作用。在植物、无脊椎动物和脊椎动物细胞中实现基因沉默的方法是本领域所公知的（参见例如，Sharp et al., *Genes Dev.* 2001, 15:485; Bernstein, et al., (2001) *Nature* 409:363; Nykanen, et al., (2001) *Cell* 107:309; 以及 Elbashir, et al., (2001) *Genes Dev.* 15:188），其各自的公开内容通过引用整体并入本文。本领域已知的基因沉默手段可

与本文提供的公开内容结合使用以实现抑制 AGT 的表达。

本文公开的 dsRNA 试剂由正义链和反义链组成，其包括但不限于：短干扰 RNA (siRNA)、RNAi 试剂、微 RNA (miRNA)、短发夹 RNA (shRNA) 和切丁酶 (Dicer) 底物。本文描述的 dsRNA 试剂的反义链至少部分地与所靶向的 mRNA 互补，本领域能够理解，多种长度的 dsRNA 双链体结构可用于抑制靶基因表达。例如，已知具有 19、20、21、22 和 23 个碱基对的双链体结构的 dsRNA 可有效诱导 RNA 干扰 (Elbashir et al., EMBO 2001, 20:6877-6888)。本领域还已知较短或较长的 RNA 双链体结构也可有效诱导 RNA 干扰。本发明的某些实施方案中的 AGT dsRNA 可以包含至少一条长度至少为 21 nt 的链，或者双链体可以具有基于表 1-4 中任何列出的序列之一的长度减 1、2、3 nt 或更短的长度。与分别在表 1-4 中列出的 dsRNA 相比，在其一端或两端减少 4 个核苷酸也可以是有效的。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂可具有来自表 1-4 的一个或更多个序列的至少 15、16、17、18、19、20 或更多个连续核苷酸的部分序列，并且它们抑制 AGT 基因表达的能力与由包含全序列（此处也称为“亲本”序列）的 dsRNA 产生的抑制水平相差不超过 5%、10%、15%、20%、25% 或 30%。

本发明的组合物和方法的某些实施方案在组合物中包含单链 RNA 和/或将单链 RNA 施用于对象。例如，表 1-4 任一项中所列的反义链可以作为一种组合物或在一种组合物内，该组合物施用给对象会降低对象中 AGT 多肽活性和/或 AGT 基因的表达。表 1-4 显示了某些 AGT dsRNA 试剂的反义链和正义链核心延伸碱基序列。可以包含在本发明的某些组合物中和/或在本发明的某些方法中施用的单链反义分子在本文中称为“单链反义试剂”或“反义多核苷酸试剂”。可以包含在某些组合物中和/或在本发明的某些方法中施用的单链正义分子在本文中称为“单链正义试剂”或“正义多核苷酸试剂”。术语“碱基序列”在本文中是指没有化学修饰或递送化合物的多核苷酸序列。例如，表 1 所示的正义链对应于是表 3 中的相应碱基序列；但表 3 中的相应序列中显示了各自的化学修饰和递送化合物。在此公开的序列可以被分配标识符。例如，单链正义序列可以用“正义链 SS#”来标识；单链反义序列可以用“反义链 AS#”来标识；并且包含正义链和反义链的双链体可以用“双链体 AD#”来标识。

表 1 包括正义链和反义链，并提供了由表 1 中同一行上的正义链和反义链形成的双链体的标识号。在本发明的某些实施方案中，反义序列在其第 1 位中包含核碱基 u 或核碱基 a。在本发明的某些实施方案中，反义序列在反义序列的第 1 位包含核碱基 u。如本文所用，术语“匹配位置”在某种意义上是指当两条链作为双链体时每条链中互相“配对”的位置。例如，在 21 核碱基正义链和 21 核碱基反义链中，正义链第 1 位与反义链第 21 位的核碱基处于“匹配位置”。在另一个非限制性实例中，对于 23 核碱基正义链和 23 核碱基反义链，正义链的第 2 位核碱基与反义链的第 22 位处于匹配位置。在另一个非限制性实例中，在 18 核碱基正义链和 18 核碱基反义链中，正义链第 1 位核碱基与反义链第 18 位核碱基处于匹配位置；并且

正义链中的第 4 位核碱基与反义链中的第 15 位核碱基处于匹配位置。技术人员会理解如何识别双链和成对链的正义和反义链之间的匹配位置。

表 1 中的最后一列表示双链体的双链体 AD#/AV#，该双链体在同一表格行中包含正义和反义序列。例如，表 1 公开了指定为“双链体 AD# AD00051”的双链体，其包含相应的正义链序列和反义链序列。因此，表 1 中的每一行都标识了本发明的双链体，每一个都包含显示在同一行中的正义和反义序列，每个双链体的指定标识符均显示在该行的最后一列中。

在本发明方法的一些实施方案中，向对象施用包含表 1 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂。在本发明的一些实施方案中，向对象施用的 RNAi 试剂包括双链体，所述双链体包含表 1 中列出的碱基序列中的至少一个，并包含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23 或 24 个序列修改。在本发明方法的一些实施方案中，还包括将表 1 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂连接至递送分子上，其非限制性实例是包含 GalNAc 的递送化合物。

表 1：无修饰的 AGT RNAi 试剂反义链和正义链序列。所有序列均显示为 5'到 3'方向。双链体 AD#/AV#是分配给表中同一行中两条链的双链体的编号。

正义链碱基序列 5'→ 3'	SEQ ID NO	反义链碱基序列 5'→ 3'	SEQ ID NO	双链体 AD#/AV#
GCGUCAUCCACAAUGAGAGUA	1	UACUCUCAUUGUGGAUGACGC	98	AD00051
GUCAUCCACAAUGAGAGUACA	2	UGUACUCUCAUUGUGGAUGAC	99	AD00052
GAUCCACAAUGAGAGUACCUA	3	UAGGUACUCUCAUUGUGGAUC	100	AD00053
GUCCACAAUGAGAGUACCUGA	4	UCAGGUACUCUCAUUGUGGAC	101	AD00054
GUUCUUGGGCUUCCGUUAUAUA	5	UAUAUACGGAAGCCCAA	102	AD00055
GUUGGGCUUCCGUUAUAUAUGA	6	UCAUAUAUACGGAAGCCCAAC	103	AD00056
GUGGGCUUCCGUUAUAUAUGGA	7	UCCAUAUAUACGGAAGCCAC	104	AD00057

GGCUUCCGUUAUAUAUGGC AUA	8	UAUGCCAUUAUAUACGGA AGCC	105	AD00058
GCUUCCGUUAUAUAUGGCA UGA	9	UCAUGCCAUUAUAUACGG AAGC	106	AD00059
GCGUAUAUAUGGCAUGCA CAA	10	UUGUGCAUGCCAUUAUAU ACGC	107	AD00060
GGUUCCUUGGAAGGACAA GAA	11	UUCUUGUCCUCCAAGG AACC	108	AD00061
GAGAAGAUUGACAGGUUC AUA	12	UAUGAACCUGUCAAUUCU UCUC	109	AD00062
GAUGCAGGCUGUGACAGG AUA	13	UAUCCUGUCACAGCCUG CAUC	110	AD00063
GGAGUUCUGGGUGGACAA CAA	14	UUGUUGUCCACCCAGAA CUCC	111	AD00064
GCAACAGCACCUCAGUGU CUA	15	UAGACACUGAGGUGCUG UUGC	112	AD00065
GGGGUCUCACUUUCCAGC AAA	16	UUUGCUGGAAAGUGAG ACCCC	113	AD00066
GUCACUUUCCAGCAAAAC UCA	17	UGAGUUUUGCUGGAAA GUGAC	114	AD00067
GCCAGCAAAACUCCCUCA ACA	18	UGUUGAGGGAGUUUUG CUGGC	115	AD00068
GAGCAAAACUCCCUCAAC UGA	19	UCAGUUGAGGGAGUUU UGCUC	116	AD00069
GGAGCUGAACCUGCAAAA AUA	20	UAUUUUUGCAGGUUCA GCUCC	117	AD00070
GCUGAACCUGCAAAAAUU GAA	21	UUCAAUUUUUGCAGGU UCAGC	118	AD00071

GGAACCGCCCAUUCCUGU UUA	22	UAAACAGGAAUGGGCG GUUCC	119	AD00072
GAACCGCCCAUUCCUGUU UGA	23	UCAAACAGGAAUGGGCG GUUC	120	AD00073
GUUCCUGUUUGCUGUGUA UGA	24	UCAUACACAGCAAACAG GAAC	121	AD00074
GCUGUUUGCUGUGUAUGA UCA	25	UGAUCAUACACAGCAAA CAGC	122	AD00075
GUGUUUGCUGUGUAUGAU CAA	26	UUGAUCAUACACAGCAA ACAC	123	AD00076
GUUGCUGUGUAUGAUCAA AGA	27	UCUUUGAUCAUACACAG CAAC	124	AD00077
GUCCCACCUUUUCUUCUA AUA	28	UAUUAGAAGAAAAGGU GGGAC	125	AD00078
GACCUUUUCUUCUAAUGA GUA	29	UACUCAUUAGAAGAAA AGGUC	126	AD00079
GCCUUUUCUUCUAAUGAG UCA	30	UGACUCAUUAGAAGAA AAGGC	127	AD00080
GCGUUUCUCCUUGGUCUA AGA	31	UCUUAGACCAAGGAGAA ACGC	128	AD00081
GUUUCUCCUUGGUCUAAG UGA	32	UCACUUAGACCAAGGAG AAAC	129	AD00082
GGUUUGCUGGGUUUAUUU UAA	33	UUAAAAUAAACCCAGCA AACC	130	AD00083
GUUUGCUGGGUUUAUUUU AGA	34	UCUAAAAUAAACCCAGC AAAC	131	AD00084
GUUGCUGGGUUUAUUUUA GAA	35	UUCUAAAAUAAACCCAG CAAC	132	AD00085

GGGGUUUAUUUUAGAGAA UGA	36	UCAUUCUCUAAAAUAAA CCCC	133	AD00086
GGGUUUUUUUUAGAGAAU GGA	37	UCCAUUCUCUAAAAUAA ACCC	134	AD00087
GGGCAAGAACCAGUGUUU AGA	38	UCUAAACACUGGUUCUU GCCC	135	AD00088
GGCAAGAACCAGUGUUUA GCA	39	UGC AAAACACUGGUUCU UGCC	136	AD00089
GCAAGAACCAGUGUUUAG CGA	40	UCGCUAAACACUGGUUC UUGC	137	AD00090
GCUGUCCAAAAAGAAUU CCA	41	UGGAAUUCUUUUUGGA ACAGC	138	AD00091
GGUCCAAAAAGAAUCC AAA	42	UUUGGAAUUCUUUUUG GAACC	139	AD00092
GUUCCAAAAAGAAUCCA ACA	43	UGUUGGAAUUCUUUUU GGAAC	140	AD00093
GCAAAAAGAAUCCAACC GAA	44	UUCGGUUGGAAUUCUU UUUGC	141	AD00094
GAAAAAGAAUCCAACCG ACA	45	UGUCGGUUGGAAUUCU UUUUC	142	AD00095
GCAACCGACCAGCUUGUU UGA	46	UCAACAAGCUGGUCGG UUGC	143	AD00096
GAACCGACCAGCUUGUUU GUA	47	UACAAACAAGCUGGUCG GUUC	144	AD00097
GGACCAGCUUGUUUGUGA AAA	48	UUUUCACAAACAAGCUG GUCC	145	AD00098
GACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	49	UGUUUCACAAACAAGCU GGUC	146	AD00099

GCCAGCUUGUUUGUGAAA CAA	50	UUGUUUCACAAACAAGC UGGC	147	AD00100
GUCAUCCACAAUGAGAGU ACA	51	UGUACUCUCAUUGUGGA UGAC	148	AD00101
GUGGGCUUCCGUUAUAU GGA	52	UCCAUUAUACGGAAGC CCAC	149	AD00113
GCUGUUUGCUGUGUAUGA UCA	53	UGAUCAUACACAGCAAA CAGC	150	AD00114
GGUUUGCUGGGUUUAUUU UAA	54	UUAAAAUAAACCCAGCA AACC	151	AD00115
GCCAGCUUGUUUGUGAAA CAA	55	UUGUUUCACAAACAAGC UGGC	152	AD00116
GUCCCACCUUUUCUUCUA AUA	56	UAUUAGAAGAAAAGGU GGGAC	153	AD00122
GCCUUUUCUUCUAAUGAG UCA	57	UGACUCAUUAGAAGAA AAGGC	154	AD00123
GGGGUUUAUUUUAGAGAA UGA	58	UCAUUCUCUAAAAUAAA CCCC	155	AD00124
GGUUCCAAAAAGAAUUC AAA	59	UUUGGAAUUCUUUUUG GAACC	156	AD00125
GUUCCAAAAAGAAUCCA ACA	60	UGUUGGAAUUCUUUUU GGAAC	157	AD00126
CAUCCACAAUGAGAGUAC CUA	61	UAGGUACUCUCAUUGUG GAUG	158	AD00154
CUUCUUGGGCUUCCGUAU AUA	62	UAUAUACGGAAGCCCAA GAAG	159	AD00155
CAUGCAGGCUGUGACAGG AUA	63	UAUCCUGUCACAGCCUG CAUG	160	AD00156

GCUGAACCUGCAAAAAUU GAA	64	UUCAAUUUUUGCAGGU UCAGC	161	AD00157
CACCUUUUCUUCUAAUGA GUA	65	UACUCAUUAGAAGAAA AGGUG	162	AD00158
CCGUUUCUCCUUGGUCUA AGA	66	UCUUAGACCAAGGAGAA ACGG	163	AD00159
ACUGUCCAAAAAGAAUU CCA	67	UGGAAUUCUUUUUGGA ACAGU	164	AD00160
CAAAAAGAAUCCAACCG ACA	68	UGUCGGUUGGAAUUCU UUUUG	165	AD00161
CGACCAGCUUGUUUGUGA AAA	69	UUUUCACAAACAAGCUG GUCG	166	AD00162
GACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	70	UGUUUCACAAACAAGCU GGUC	167	AD00163
UCGUCAUCCACAAUGAGA GUA	71	UACUCUCAUUGUGGAUG ACGA	168	AD00252
GUCCACAAUGAGAGUACC UGA	72	UCAGGUACUCUCAUUGU GGAC	169	AD00253
AGGGUCUCACUUUCCAGC AAA	73	UUUGCUGGAAAGUGAG ACCCU	170	AD00254
CUGUUUGCUGUGUAUGAU CAA	74	UUGAUCAUACACAGCAA ACAG	171	AD00255
UUUGCUGUGUAUGAUCAA AGA	75	UCUUUGAUCAUACACAG CAAA	172	AD00256
GUUUCUCCUUGGUCUAAG UGA	76	UCACUUAGACCAAGGAG AAAC	173	AD00257
GCAAGAACCAGUGUUUAG CGA	77	UCGCUAAACACUGGUUC UUGC	174	AD00258

CCAAAAAGAAUCCAACC GAA	78	UUCGGUUGGAAUUCUU UUUGG	175	AD00259
CAACCGACCAGCUUGUUU GUA	79	UACAAACAAGCUGGUCG GUUG	176	AD00260
GACCUUUUCUUCUAAUGA GUA	80	UACUCAUUAGAAGAAA AGGUC	177	AD00158- 1
GACCUUUCUUCUAGCGA GUA	81	UACUCAUUAGAAGAAA AGGUC	178	AD00158- 2
GACCUUUUCUUCUAAUGA GUA	82	UACUCAUUAGAAGAAA AGGUC	179	AD00158- 3
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	83	UGUUUCACAAACAAGCU GGUG	180	AD00163- 1
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	84	UGUUUCACAAACAAGCU GGUG	181	AD00163- 2
GCGUUUCUCCUUGGUCUA AGA	85	UCUUAGACCAAGGAGAA ACGC	182	AD00159- 1
GCGUUUCUCCUUGGUCUA AGA	86	UCUUAGACCAAGGAGAA ACGC	183	AD00159- 2
GCAAAAAGAAUCCAACC GAA	87	UUCGGUUGGAAUUCUU UUUGC	184	AD00300- 1
CCUUUUCUUCUAAUGAGU A	88	UACUCAUUAGAAGAAA AGG	185	AD00158- 19-1
CCAGCUUGUUUGUGAAAC A	89	UGUUUCACAAACAAGCU GG	186	AD00163- 19-1
GUUUCUCCUUGGUCUAAG A	90	UCUUAGACCAAGGAGAA AC	187	AD00159- 19-1
AAAAAGAAUCCAACCGA A	91	UUCGGUUGGAAUUCUU UUU	188	AD00300- 19-1

CCCACCUUUUCUUCUAAU A	92	UAUUAGAAGAAAAGGU GGG	189	AD00122- 19-1
CCUUUUCUUCUAAUGAGU U	93	AACUCAUUAGAAGAAA AGG	190	AD00158- 19-2
CCAGCUUGUUUGUGAAAC U	94	AGUUUCACAAACAAGCU GG	191	AD00163- 19-2
GUUUCUCCUUGGUCUAAG U	95	ACUUAGACCAAGGAGAA AC	192	AD00159- 19-2
AAAAAGAAUCCAACCGA U	96	AUCGGUUGGAAUUCUU UUU	193	AD00300- 19-2
CCCACCUUUUCUUCUAAU U	97	AAUUAGAAGAAAAGGU GGG	194	AD00122- 19-2
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	522	UGUUUCACAAACAAGCU GGUG	523	AD00163- 3
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACA	528	UGUUUCACAAACAAGCU GGUG	559	AV01227
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACU	529	AGUUUCACAAACAAGCU GGUG	560	AV01228
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACC	530	GGUUUCACAAACAAGCU GGUG	561	AV01229
CACCAGCUUGUUUGUGAA ACG	531	CGUUUCACAAACAAGCU GGUG	562	AV01230
AGCUUGUUUGUGAAACA	532	UGUUUCACAAACAAGCU	563	AV01231
CAGCUUGUUUGUGAAACA	533	UGUUUCACAAACAAGCU G	564	AV01232
ACAGCUUGUUUGUGAAAC A	534	UGUUUCACAAACAAGCU GU	565	AV01233
UCAGCUUGUUUGUGAAAC	535	UGUUUCACAAACAAGCU	566	AV01234

A		GA		
GCAGCUUGUUUGUGAAAC		UGUUUCACAAACAAGCU		
A	536	GC	567	AV01235
CCAGCUUGUUUGUGAAAC		UGUUUCACAAACAAGCU		
A	537	GG	568	AV01236
ACCAGCUUGUUUGUGAAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
CA	538	GGU	569	AV01237
UCCAGCUUGUUUGUGAAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
CA	539	GGA	570	AV01238
GCCAGCUUGUUUGUGAAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
CA	540	GGC	571	AV01239
CCCAGCUUGUUUGUGAAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
CA	541	GGG	572	AV01240
GACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	542	GGUC	573	AV01241
AACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	543	GGUU	574	AV01242
UACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	544	GGUA	575	AV01243
CGACCAGCUUGUUUGUGA		UGUUUCACAAACAAGCU		
AACA	545	GGUCG	576	AV01244
CCGACCAGCUUGUUUGUG		UGUUUCACAAACAAGCU		
AAACA	546	GGUCGG	577	AV01245
ACCGACCAGCUUGUUUGU		UGUUUCACAAACAAGCU		
GAAACA	547	GGUCGGU	578	AV01246
AACCGACCAGCUUGUUUG		UGUUUCACAAACAAGCU		
UGAAACA	548	GGUCGGUU	579	AV01247
CAACCGACCAGCUUGUUU	549	UGUUUCACAAACAAGCU	580	AV01248

GUGAAACA		GGUCGGUUG		
GAAUCCAACCGACCAGC		UGUUUCACAAACAAGCU		
UUGUUUGUGAAACA	550	GGUCGGUUGGAAUUC	581	AV01249
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	551	GGUGUU	582	AV01250
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	552	GGUGGA	583	AV01251
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	553	GGUG	584	AV01252
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	554	GGUG	585	AV01253
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	555	GGUG	586	AV01254
CACCAGCUUGUUUGUAAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	556	GGUG	587	AV01255
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UAUUUCACAAACAAGCU		
AUA	557	GGUG	588	AV01256
CACCAGCUUGUUUGUGAA		UGUUUCACAAACAAGCU		
ACA	558	GGUG	589	AV01257
CCAGCUUGUUUGUGAAAC	652	GUUUCACAAACAAGCUG		
		G	653	AV01711

表 2 显示了本发明的某些化学修饰的 AGT RNAi 剂反义链和正义链序列。在本发明方法的一些实施方案中，将具有表 2 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂施用于细胞和/或对象。在本发明方法的一些实施方案中，将具有表 2 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂施用于对象。在本发明的一些实施方案中，向对象施用的 RNAi 试剂包含在表 2 第一列中标注的双链体，并且分别包含显示在表 2 中同一行第三列和第六列的正义和反义链序列中的序列修饰。在本发明方法的一些实施方案中，表 2 中所示的序列可以连接到（在本文中也称为“缀合到”）能够将 RNAi 试剂递送至对象的细胞和/或组织的化合物上。可用于本发明的某些实施方案中的递送化合物的非限制性实例是含 GalNAc 的化合物。在表 2 中，第一列表示碱基序列的

双链体 AD#或 AV#，与表 1 对应。对于双链体 AD#标识的碱基序列，不仅显示正义和反义链所包含的碱基序列，而且具有表 2 同一行中所示的指定化学修饰。例如，表 1 第一行显示了正义和反义碱基单链序列，它们一起构成双链体，标识为：双链体 AD# AD00051；而表 2 列出的双链体 AD# AD00051 中，作为双链体，其包含 AD00051-SS 和 AD00051-AS 的碱基序列，而且分别包含在第三列和第六列中显示的正义和反义序列中的化学修饰。表 2 第 2 列中的“正义链 SS#”是同一行中第 3 列所示正义序列（包括修饰）的指定标识符。表 2 第五列中的“反义链 AS#”是第六列中显示的反义序列（包括修饰）的指定标识符。

表 2：提供化学修饰的 AGT RNAi 试剂反义链和正义链序列。所有序列都显示为 5'到 3'。这些序列用于本文所述的某些体外测试研究。化学修饰表示为：大写：2'-氟；小写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*

双链体 AD#	正义链 SS#	正义序列	SEQ ID NO	反义链 AS#	反义序列	SEQ ID NO
AD00051	AD00051-SS	g*c*gucaucCaCaAugagagu*a	195	AD00051-AS	u*A*cucuCaugUgGaUgac*g*c	245
AD00053	AD00053-SS	g*a*uccacaAuGaGaguaccu*a	196	AD00053-AS	u*A*gguaCuencAuUgUgga*u*c	246
AD00054	AD00054-SS	g*u*ccacaaUgAgAguaccug*a	197	AD00054-AS	u*C*agguAcucuCaUuGugg*a*c	247
AD00055	AD00055-SS	g*u*ucuuggGcUuCcguaau*a	198	AD00055-AS	u*A*uauaCggaaGcCcAaga*a*c	248
AD00056	AD00056-SS	g*u*ugggcuUcCgUauauang*a	199	AD00056-AS	u*C*auauAuacgGaAgCcca*a*c	249
AD00057	AD00057-SS	g*u*gggcuuCcGuAuauaugg*a	200	AD00057-AS	u*C*cauaUauacGgAaGccc*a*c	250
AD00058	AD00058-SS	g*g*cuncegUaUaUauggeau*a	201	AD00058-AS	u*A*ugccAuauaUaCgGaag*c*c	251
AD00059	AD00059-SS	g*c*nuccguAuAuAuggcaug*a	202	AD00059-AS	u*C*augcCauauAuAcGgaa*g*c	252
AD00060	AD00060-SS	g*c*guauauAuGgCaugcaca*a	203	AD00060-AS	u*U*gugcAugccAuAuAuac*g*c	253
AD00061	AD00061-SS	g*g*nuccmGgAaGgacaaga*a	204	AD00061-AS	u*U*cmgUccnuCcAaGgaa*c*c	254
AD00062	AD00062-SS	g*a*gaagauUgAcAgguucau*a	205	AD00062-AS	u*A*ugaaCcuguCaAuCuuc*u*c	255
AD00063	AD00063-SS	g*a*ugcaggCuGuGacaggau*a	206	AD00063-AS	u*A*uccuGueacAgCcUgea*u*c	256
AD00064	AD00064-SS	g*g*aguucuGgGuGgacaaca*a	207	AD00064-AS	u*U*guugUccacCcAgAacu*c*c	257
AD00065	AD00065-SS	g*c*aacagcAcCuCagugucu*a	208	AD00065-AS	u*A*gacaCugagGuGcUguu*g*c	258

AD00066	AD00066-SS	g*g*ggucucAcUuUccagcaa*a	209	AD00066-AS	u*U*ugcuGgaaaGuGaGacc*c*c	259
AD00067	AD00067-SS	g*u*cacuuuCcAgCaaacuc*a	210	AD00067-AS	u*G*aguuUugcuGgAaAgug*a*c	260
AD00068	AD00068-SS	g*c*cagcaaAaCuCccucaac*a	211	AD00068-AS	u*G*uugaGggagUuUuGcuG*g*c	261
AD00069	AD00069-SS	g*a*gcaaaaCuCcCcucaacug*a	212	AD00069-AS	u*C*aguuGagggAgUuUugc*u*c	262
AD00070	AD00070-SS	g*g*agcugaAcCuGcaaaaau*a	213	AD00070-AS	u*A*uuuuUgcagGuUcAgcu*c*c	263
AD00071	AD00071-SS	g*c*ugaaccUgCaAaaauga*a	214	AD00071-AS	u*U*cauuUuuugCaGgUuca*g*c	264
AD00072	AD00072-SS	g*g*aaccgcCcAuUccuguuu*a	215	AD00072-AS	u*A*aacaGgaauGgGcGguu*c*c	265
AD00073	AD00073-SS	g*a*accgccCaUuUcuguuug*a	216	AD00073-AS	u*C*aaacAggaaUgGcGggg*u*c	266
AD00074	AD00074-SS	g*u*uccuguUuGcUguguaug*a	217	AD00074-AS	u*C*auacAcagcAaAcAgga*a*c	267
AD00075	AD00075-SS	g*c*uguuugCuGuGuaugauc*a	218	AD00075-AS	u*G*aucaUacacAgCaAaca*g*c	268
AD00076	AD00076-SS	g*u*guuugcUgUgUaungauca*a	219	AD00076-AS	u*U*gaucAuacaCaGcAaac*a*c	269
AD00077	AD00077-SS	g*u*ugcuguGuAuGaucaaaag*a	220	AD00077-AS	u*C*uuugAucuuAcAcAgca*a*c	270
AD00078	AD00078-SS	g*u*ccaccUuUuCuucuaau*a	221	AD00078-AS	u*A*uuagAagaaAaGgUggg*a*c	271
AD00079	AD00079-SS	g*a*ccuuuuCuUcUaaugagu*a	222	AD00079-AS	u*A*cucaUuagaAgAaAagg*u*c	272
AD00080	AD00080-SS	g*c*cuuuucUuCuAaugaguc*a	223	AD00080-AS	u*G*acucAuuagAaGaAaag*g*c	273
AD00081	AD00081-SS	g*c*guuuuCuUuGgucuaag*a	224	AD00081-AS	u*C*uuagAccaaGgAgAaac*g*c	274
AD00082	AD00082-SS	g*u*uuuccUuUgUcuagug*a	225	AD00082-AS	u*C*acuuAgaccAaGgAgaa*a*c	275
AD00083	AD00083-SS	g*g*uuugcuGgGuUuaauuuu*a	226	AD00083-AS	u*U*aaaaUaaacCcAgCaaa*c*c	276

AD00084	AD00084-SS	g*u*ungcugGgUuUauuuuag*a	227	AD00084-AS	u*C*uaaaAuaaaCcCaGcaa*a*c	277
AD00085	AD00085-SS	g*u*ugcugGgUuUauuuuaga*a	228	AD00085-AS	u*U*cuaaAuaaaAcCcAgca*a*c	278
AD00086	AD00086-SS	g*g*gguuuaUuUuAgagaauag*a	229	AD00086-AS	u*C*auucUcuuaAaUaAacc*c*c	279
AD00087	AD00087-SS	g*g*guuuuUuUuGagaauag*a	230	AD00087-AS	u*C*cauuCucuaAaAuAaac*c*c	280
AD00088	AD00088-SS	g*g*gcaagaAcCaGuguuuag*a	231	AD00088-AS	u*C*uaaaCacugGuUcUugc*c*c	281
AD00089	AD00089-SS	g*g*caagaaCcAgUguuuag*c*a	232	AD00089-AS	u*G*cuaaAcacuGgUuCuug*c*c	282
AD00090	AD00090-SS	g*c*aagaacCaGuGuuuagcg*a	233	AD00090-AS	u*C*gcuaAaacUgGuUcuu*g*c	283
AD00091	AD00091-SS	g*c*uguuccAaAaAgaauucc*a	234	AD00091-AS	u*G*gaauUcuuuUuGgAaca*g*c	284
AD00092	AD00092-SS	g*g*uccaaAaAgAauuccaa*a	235	AD00092-AS	u*U*uggaAuuuUuUuGgaa*c*c	285
AD00093	AD00093-SS	g*u*uccaaaAaGaAuuccaa*c*a	236	AD00093-AS	u*G*uggAauucUuUuUgga*a*c	286
AD00094	AD00094-SS	g*c*aaaaagAaUuCcaaccga*a	237	AD00094-AS	u*U*cgggUggaaUuCuUuuu*g*c	287
AD00095	AD00095-SS	g*a*aaaagaAuUcCaaccgac*a	238	AD00095-AS	u*G*ucggUuggaAuUcUuuu*u*c	288
AD00096	AD00096-SS	g*c*aaccgaCcAgCuuguuuug*a	239	AD00096-AS	u*C*aaacAagcuGgUcGguu*g*c	289
AD00097	AD00097-SS	g*a*accgacCaGcUuguuuugu*a	240	AD00097-AS	u*A*caaaCaagcUgGuCggU*u*c	290
AD00098	AD00098-SS	g*g*accagcUuGuUugugaaa*a	241	AD00098-AS	u*U*uucaCaaacAaGcUggu*c*c	291
AD00099	AD00099-SS	g*a*ccagcuUgUuUugugaac*a	242	AD00099-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*c	292
AD00100	AD00100-SS	g*c*cagcuGuUuGugaaca*a	243	AD00100-AS	u*U*guuuCacaaAcAaGcug*g*c	293
AD00101	AD00101-SS	g*u*cauccaCaAuGagaguiac*a	244	AD00101-AS	u*G*uacuCucauUgUgGaug*a*c	294

AV/01227	AV/01227-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a	590	AV/01227-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	621
AV/01228	AV/01228-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaaac*u	591	AV/01228-AS	a*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	622
AV/01229	AV/01229-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaaac*c	592	AV/01229-AS	g*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	623
AV/01230	AV/01230-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaaac*g	593	AV/01230-AS	c*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	624
AV/01231	AV/01231-SS	a*g*cuUgUuUgugaaac*a	594	AV/01231-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgC*u	625
AV/01232	AV/01232-SS	c*a*gcuUgUuUgugaaac*a	595	AV/01232-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgC*u*g	626
AV/01233	AV/01233-SS	a*c*agcuUgUuUgugaaac*a	596	AV/01233-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*u	627
AV/01234	AV/01234-SS	u*c*agcuUgUuUgugaaac*a	597	AV/01234-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*a	628
AV/01235	AV/01235-SS	g*c*agcuUgUuUgugaaac*a	598	AV/01235-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*c	629
AV/01236	AV/01236-SS	c*c*agcuUgUuUgugaaac*a	599	AV/01236-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*g	630
AV/01237	AV/01237-SS	a*c*cagcuUgUuUgugaaac*a	600	AV/01237-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*u	631
AV/01238	AV/01238-SS	u*c*cagcuUgUuUgugaaac*a	601	AV/01238-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*a	632
AV/01239	AV/01239-SS	g*c*cagcuUgUuUgugaaac*a	602	AV/01239-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*c	633
AV/01240	AV/01240-SS	c*c*cagcuUgUuUgugaaac*a	603	AV/01240-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*g	634
AV/01241	AV/01241-SS	g*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a	604	AV/01241-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*c	635
AV/01242	AV/01242-SS	a*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a	605	AV/01242-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*u	636
AV/01243	AV/01243-SS	u*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a	606	AV/01243-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*a	637
AV/01244	AV/01244-SS	c*g*accagcuUgUuUgugaaac*a	607	AV/01244-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCuggu*c*g	638

AV01245	AV01245-SS	c*c*gaccagcuUgUuUgugaac*a	608	AV01245-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugguc*g*g	639
AV01246	AV01246-SS	a*c*cgaccagcuUgUuUgugaac*a	609	AV01246-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugguc*g*g	640
AV01247	AV01247-SS	a*a*ccgaccagcuUgUuUgugaac*a	610	AV01247-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugguc*g*g	641
AV01248	AV01248-SS	c*a*accgaccagcuUgUuUgugaac*a	611	AV01248-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugguc*g*g	642
AV01249	AV01249-SS	g*a*auuccaaccgaccagcuUgUuUgug	612	AV01249-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCuggucgguggaau	643
AV01250	AV01250-SS	aac*a	613	AV01250-AS	*u*c	644
AV01251	AV01251-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*a	614	AV01251-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugguc*g*a	645
AV01252	AV01252-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*a	615	AV01252-AS	u*G*uuu(cUNA)AcaaaCaAgCugg*u*g	646
AV01253	AV01253-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*a	616	AV01253-AS	u*G*uuuc(aUNA)caaaCaAgCugg*u*g	647
AV01254	AV01254-SS	c*a*ccagcuUGUuugugaac*a	617	AV01254-AS	u*G*uuuCaacaacaAgCugg*u*g	648
AV01255	AV01255-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*a	618	AV01255-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	649
AV01256	AV01256-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*a	619	AV01256-AS	u*A*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	650
AV01257	AV01257-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaac*c*a	620	AV01257-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	651

表 3 显示了本发明的某些化学修饰的 AGT RNAi 试剂反义链和正义链序列。在本发明方法的一些实施方案中，将表 3 中所示的 RNAi 试剂施用于细胞和/或对象。在本发明方法的一些实施方案中，将具有表 3 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂施用于对象。在本发明的一些实施方案中，向对象施用的 RNAi 试剂包含在表 3 的第一列中标识的双链体，并且分别包含在表 3 中同一行第三列和第六列的正义和反义链序列中显示的序列修饰和/或递送化合物。该序列用于本文别处描述的某些体内测试研究。在本发明方法的一些实施方案中，表 3 中所示的序列可以连接到（在本文中也称为“缀合到”）用于递送的化合物上，其非限制性实例是含 GalNAc 的化合物，即在表 3 中第三列的正义链上具有标识为“GLX-n”的递送化合物。如本文所用，“GLX”用于表示“GLS”或“GLO”递送化合物（“X”可以是“S”或“O”），并且 GLX-n 可以是任何 GLS 和 GLO 可以在合成过程中连接到寡核苷酸 3'或 5'-末端的递送化合物。举例但不局限于此：GLX-13 和 GLX-14 可以在合成过程中连接到本发明的寡核苷酸的 3'-末端，GLX-5 和 GLX-15 可以在合成过程中连接到本发明的寡核苷酸的 5'-末端。在一些实施例中，如本文所用和表 3 所示，“GLX-n”用于表示所连接的含 GalNAc 的化合物，其是化合物 GLS-1、GLS-2、GLS-3、GLS-4、GLS-5、GLS-6、GLS-7、GLS-8、GLS-9、GLS-10、GLS-11、GLS-12、GLS-13、GLS-14、GLS-15、GLS-16、GLO-1、GLO-2、GLO-3、GLO-4、GLO-5、GLO-6、GLO-7、GLO-8、GLO-9、GLO-10、GLO-11、GLO-12、GLO-13、GLO-14、GLO-15 和 GLO-16 中的任一种。在一些实施中，GLO-0 表示为现有技术中已经公开可用于连接的含 GalNAc 的化合物，举例但是不限于，如 Jayaprakash, et al., (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961 中公开可用于连接的含 GalNAc 的化合物全部引用于此。在一些实施中，本领域技术人员将能够制备和使用本发明的 dsRNA 化合物，其中附着的递送化合物包括但是不限于：GLS-1、GLS-2、GLS-3、GLS-4、GLS-5、GLS-6 之一，GLS-7、GLS-8、GLS-9、GLS-10、GLS-11、GLS-12、GLS-13、GLS-14、GLS-15、GLS-16、GLO-1、GLO-2、GLO-3、GLO-4、GLO-5、GLO-6、GLO-7、GLO-8、GLO-9、GLO-10、GLO-11、GLO-12、GLO-13、GLO-14、GLO-15 和 GLO-16。其中每一个的结构在本文别处提供。表 3 的第一列提供了分配给表中该行中的正义和反义序列的双链体的双链体 AD#。例如，双链体 AD# AD00052 是正义链 AD00052-SS 和反义链 AD00052-AS 构成的双链体。表 3 中的每一行提供了一条正义链和一条反义链，并公开了所示正义链和反义链构成的双链体。表 3 第二列中的“正义链 SS#”是同一行第 3 列所示正义序列（包括修改）的指定标识符。表 3 第五列中的“反义链 AS#”是第六列中显示的反义序列（包括修饰）的指定标识符。某些所连接的含 GalNAc 的 GLO 化合物的标识符显示为 GLO-0，并且应当理解，GLO-n 或 GLS-n 化合物中的另一种可以替代显示为 GLO-0 的化合物，所得化合物也包括在本发明的方法和/或组合物的实施方案中。

表 3 提供了用于体内测试的化学修饰的 AGT RNAi 试剂反义链和正义链序列。所有序列都显示为 5'到 3'。这些序列用于本文别处描述的某些体内测试研究。体内研究中使用的递送分子在每条正义链的 3'末端表示为“GLO-0”。化学修饰表示为：大写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*；开环核酸：UNA（注：AD00052、AD00113-AD00260：无 UNA；AD00282-AD00301：UNA 版本）

双链体 AD#	正义链 SS#	正义序列	SEQ ID NO	反义链 AS#	反义序列	SEQ ID NO
AD00052	AD00052- SS	g*u*cauccaCaAuGagaguac*a(GLO- 0)	295	AD00052- AS	u*G*uacuCucauUgUgGaug*a*c	344
AD00113	AD00113- SS	g*u*gggcuCcGuAuauaugg*a(GLO- 0)	296	AD00113- AS	u*C*cauaUauacGgAaGccc*a*c	345
AD00114	AD00114- SS	g*c*uguuugCuGuGuaugauc*a(GLO- 0)	297	AD00114- AS	u*G*aucaUaacAgCaAaca*g*c	346
AD00115	AD00115- SS	g*g*uuugcuGgGuUuaauuuu*a(GLO- 0)	298	AD00115- AS	u*U*aaaaUaaacCcAgCaaa*c*c	347
AD00116	AD00116- SS	g*c*cagcuuGuUuGugaaaca*a(GLO- 0)	299	AD00116- AS	u*U*guuuCacaaAcAaGcug*g*c	348
AD00122	AD00122- SS	g*u*cccaccUuUuCuucuaau*a(GLO- 0)	300	AD00122- AS	u*A*uuagAagaaAaGgUggg*a*c	349
AD00123	AD00123- SS	g*c*cuuuueUuCuAaugaguc*a(GLO- 0)	301	AD00123- AS	u*G*acucAuuagAaGaAag*g*c	350

AD00124	AD00124- SS	g*g*gguuuaUuUuAgagaug*a(GLO- 0)	302	AD00124- AS	u*C*auucUcuuaAaUaAacc*c*c	351
AD00125	AD00125- SS	g*g*uuccaaAaAgAauuccaa*a(GLO- 0)	303	AD00125- AS	u*U*uggaAuucUuUuGgaa*c*c	352
AD00126	AD00126- SS	g*u*uccaaaAaGaAuuccaac*a(GLO- 0)	304	AD00126- AS	u*G*uggaAuucUuUuUgga*a*c	353
AD00154	AD00154- SS	c*a*uccacaAuGaGaguaccu*a(GLO- 0)	305	AD00154- AS	u*A*gguaCuucAuUgUgga*u*g	354
AD00155	AD00155- SS	c*u*ucuuaggGcUuCcguauau*a(GLO- 0)	306	AD00155- AS	u*A*uaaCggaaGcCcAaga*a*g	355
AD00156	AD00156- SS	c*a*ugcaggCuGuGacaggau*a(GLO- 0)	307	AD00156- AS	u*A*uccuGucaAGCcUgca*u*g	356
AD00157	AD00157- SS	g*c*ugaaccUgCaAaaauuga*a(GLO- 0)	308	AD00157- AS	u*U*caauUuuugCaGgUuca*g*c	357
AD00158	AD00158- SS	c*a*ccuuuuCuUcUaaugagu*a(GLO- 0)	309	AD00158- AS	u*A*cucaUuagaAgAaAagg*u*g	358
AD00159	AD00159- SS	c*c*guuuuCuUuGgucuaag*a(GLO- 0)	310	AD00159- AS	u*C*uuagAccaaGgAgAaac*g*g	359
AD00160	AD00160- SS	a*c*uguuccAaAaAgaauucc*a(GLO- 0)	311	AD00160- AS	u*G*gaauUcuuuUuGgAaca*g*u	360

	SS	0)			AS			
AD00161	AD00161- SS	c*a*aaagaAuUcCaaccgac*a(GLO-0)	312		AD00161- AS	u*G*ucggUuggaAuUcUuuu*u* g	361	
AD00162	AD00162- SS	c*g*accagcUuGuUugugaaa*a(GLO-0)	313		AD00162- AS	u*U*uucaCaaacAaGcUgggu*c*g	362	
AD00163	AD00163- SS	g*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a(GLO-0)	314		AD00163- AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCuagg*u*c	363	
AD00252	AD00252- SS	u*c*gucaucCaCaAugagagu*a(GLO-0)	315		AD00252- AS	u*A*cucuCaauugUgGaUgac*g*a	364	
AD00253	AD00253- SS	g*u*ccacaaUgAgAguaccug*a(GLO-0)	316		AD00253- AS	u*C*agguAcucuCaUuGugg*a*c	365	
AD00254	AD00254- SS	a*g*ggucucAcUuUccagcaa*a(GLO-0)	317		AD00254- AS	u*U*ugcuGgaaaGuGaGacc*c*u	366	
AD00255	AD00255- SS	c*u*gunugcUgUgUaugauca*a(GLO-0)	318		AD00255- AS	u*U*gaucAuacaCaGcAaac*a*g	367	
AD00256	AD00256- SS	u*u*ugcuguGuAuGaucaag*a(GLO-0)	319		AD00256- AS	u*C*uuugAuccuAcAcAgca*a*a	368	
AD00257	AD00257- SS	g*u*uuuccUuGgUcuaagug*a(GLO-0)	320		AD00257- AS	u*C*acuuAgaccAaGgAgaa*a*c	369	

AD00258	AD00258- SS	g*c*aagaacCaGuGuuagcg*a(GLO- 0)	321	AD00258- AS	u*C*gcuaAaacUgGuUcuu*g*c	370
AD00259	AD00259- SS	c*c*aaaaagAaUuCcaaccga*a(GLO-0)	322	AD00259- AS	u*U*cgguUggaaUuCuUuuu*g*g	371
AD00260	AD00260- SS	c*a*accgacCaGcUnguugu*a(GLO- 0)	323	AD00260- AS	u*A*caaaCaagcUgGuCggu*u*g	372
AD00282	AD00282- SS	g*u*eccaccUuUuCucuaau*a(GLO- 0)	324	AD00282- AS	u*A*uuAg(aUNA)agaaAaGgUg gg*a*c	373
AD00283	AD00283- SS	g*u*uuccaaaAaGaAuuccaac*a(GLO- 0)	325	AD00283- AS	u*G*uuGg(aUNA)auucUuUuUg ga*a*c	374
AD00284	AD00284- SS	g*c*cuuuucUuCuAaugagc*a(GLO- 0)	326	AD00284- AS	u*G*acUc(aUNA)uuagAaGaAa ag*g*c	375
AD00285	AD00285- SS	g*c*cagcuuGuUuGugaaaca*a(GLO- 0)	327	AD00285- AS	u*U*guUu(cUNA)acaaAcAaGc ug*g*c	376
AD00286	AD00286- SS	g*g*uuccaaAaAgAauuccaa*a(GLO- 0)	328	AD00286- AS	u*U*ugGa(aUNA)uuuUuUuGg aa*c*c	377
AD00287	AD00287- SS	g*g*uuugcuGgGuUuuuuua*a(GLO- 0)	329	AD00287- AS	u*U*aaAa(aUNA)aaacCcAgCaa a*c*c	378
AD00288	AD00288- SS	c*a*ccuuuuCuUcUaaugagu*a(GLO- 0)	330	AD00288- AS	u*A*cuCa(uUNA)uagaAgAaAa	379

	SS	0)			AS	gg*u*g	
AD00289	AD00289- SS	g*a*ccagcuUgUuUgugaac*a(GLO- 0)	331		AD00289- AS	u*G*uuUc(aUNA)caaaCaAgCu gg*u*c	380
AD00290	AD00290- SS	c*c*guuncuCcUuGgucuaag*a(GLO- 0)	332		AD00290- AS	u*C*uuAg(aUNA)ccaaGgAgAa ac*g*g	381
AD00291	AD00291- SS	c*g*accagcUuGuUugugaaa*a(GLO- 0)	333		AD00291- AS	u*U*uuCa(cUNA)aaacAaGcUg gu*c*g	382
AD00292	AD00292- SS	c*a*aaaagaAuUcCaaccgac*a(GLO-0)	334		AD00292- AS	u*G*ucGg(uUNA)uggaAuUcUu uu*u*g	383
AD00293	AD00293- SS	u*c*gucaucCaCaAugagagu*a(GLO- 0)	335		AD00293- AS	u*A*cuCu(cUNA)auugUgGaUg ac*g*a	384
AD00294	AD00294- SS	g*u*ccacaaUgAgAguaccug*a(GLO- 0)	336		AD00294- AS	u*C*agGu(aUNA)cucuCaUuGu gg*a*c	385
AD00295	AD00295- SS	a*g*ggucucAcUuUccagcaa*a(GLO- 0)	337		AD00295- AS	u*U*ugCu(gUNA)gaaaGuGaGa cc*c*u	386
AD00296	AD00296- SS	c*u*guungcUgUgUaugauca*a(GLO- 0)	338		AD00296- AS	u*U*gaUc(aUNA)uacaCaGcAaa c*a*g	387
AD00297	AD00297- SS	u*u*ugcuguGuAuGaucaaaag*a(GLO- 0)	339		AD00297- AS	u*C*uuUg(aUNA)ucauAcAcAg ca*a*a	388

AD00298	AD00298- SS	g*u*uucuccUuGgUcuaagug*a(GLO- 0)	340	AD00298- AS	u*C*acUu(aUNA)gaccAaGgAg aa*a*c	389
AD00299	AD00299- SS	g*c*aagaacCaGuGuuuagcg*a(GLO- 0)	341	AD00299- AS	u*C*gcUa(aUNA)acacUgGuUc uu*g*c	390
AD00300	AD00300- SS	c*c*aaaaagAaUuCcaaccga*a(GLO-0)	342	AD00300- AS	u*U*cgGu(uUNA)gaaUuCuUu uu*g*g	391
AD00301	AD00301- SS	c*a*accgacCaGcUunguug*a(GLO- 0)	343	AD00301- AS	u*A*caAa(cUNA)aagcUgGuCg gu*u*g	392
AD00302	AD00302- SS	c*c*aaccgaCcAgCunguug*a(GLO- 0)	524	AD00302- AS	u*C*aaAc(aUNA)agcuggUcGg uu*g*g	525

表 4 显示了本发明的某些化学修饰的 AGT RNAi 剂反义链和正义链序列。在本发明方法的一些实施方案中，将具有表 4 中所示多核苷酸序列的 RNAi 试剂施用于对象。在本发明的一些实施方案中，向对象施用的 RNAi 试剂包含在表 4 的第一列中的行中标注的双链体，并且包含在表 4 中的同一行第三列和第六列中的正义和反义链序列中显示的序列修饰和/或递送化合物。在本发明方法的一些实施方案中，表 4 中所示的序列可以连接至能够将 RNAi 试剂递送至对象的细胞和/或组织的化合物上。可用于本发明的某些实施方案中的递送化合物的非限制性实例是含 GalNAc 的化合物。在表 4 中，术语“GLX-n”表示在所示正义链中含有 GalNAc 的化合物。例如，术语“GLO-0”和“GLS-5”各自表示连接到正义链的不同的含 GalNAc 化合物。应当理解，显示为 GLO-0 的化合物可以被 GLO-n 或 GLS-n 化合物中的另一种替代，所得化合物也包括在本发明的方法和/或组合物的实施方案中。类似地，显示为 GLS-5 的化合物也可以被 GLS-n 或 GLO-n 化合物中的另一种替代，所得化合物包括在本发明的方法和/或组合物的实施方案中。在表 4 中，用于表示所连接的含 GalNAc 的化合物 GLX-n 是化合物 GLS-1、GLS-2、GLS-3、GLS-4、GLS-5、GLS-6、GLS-7、GLS-8、GLS-9、GLS-10、GLS-11、GLS-12、GLS-13、GLS-14、GLS-15、GLS-16、GLO-1、GLO-2、GLO-3、GLO-4、GLO-5、GLO-6、GLO-7、GLO-8、GLO-9、GLO-10、GLO-11、GLO-12、GLO-13、GLO-14、GLO-15 和 GLO-16，其中每一个的结构在本文别处提供。表 4 的第一列表示与表 3 中所示的双链体对应的双链体 AD#。双链体 AD#标识了对应于表 3 的双链体序列，表明表 4 中的正义、反义和双链体序列与表 3 中具有相同双链体 AD#的碱基序列相同，但是与表 3 中所示的相应序列和双链体相比，表 4 中的序列和双链体具有不同的化学修饰和/或递送化合物。例如，如表 4 所示，分别如 AD00113-1-SS、AD00113-1-AS 的序列及其双链体 AD#AD00113-1 与如表 3 所示的 AD00113-SS（正义）、AD00113-AS（反义）和双链 AD#AD00113 具有相同的碱基序列，而化学修饰和/或递送化合物则如每个表中所示。表 4 的第一列标识双链体 AD# 编号；每行中的数字标识的双链体包含分别在在同行中第三列和第六列中显示的正义链和反义链，并且包含修饰，并且在正义链 3'或者 5'上具有所连接的 GLO-或 GLS-递送化合物。

表 4 提供了化学修饰的 AGT RNAi 试剂反义链和正义链序列。这些序列用于在本文别处描述的某些体内研究。所有序列都显示为 5'到 3'。化学修饰表示为：大写：2'-氟；小写：2'-OMe；硫代磷酸酯：*；Invab = 反向无碱基。

双链体 AD#	正义链 SS#	正义序列 5'>3'	SEQ ID NO	反义链 AS#	反义序列 5'>3'	SEQ ID NO
AD00113-1	AD00113-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gugggcuuCcGuAuauaugga*(Invab)	393	AD00113-1-AS	u*C*cauaUauacGgAaGccc*a*c	456
AD00114-1	AD00114-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcuguungCuGuGuaugauca*(Invab)	394	AD00114-1-AS	u*G*aucaUacacAgCaAaca*g*c	457
AD00115-1	AD00115-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gguuugcuGgGuUauuuuaa*(Invab)	395	AD00115-1-AS	u*U*aaaaUaaacCcAgCaaa*c*c	458
AD00116-1	AD00116-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gccagcuuGuUuGugaacaa*(Invab)	396	AD00116-1-AS	u*U*guuuCacaaAcAaGcug*g*c	459
AD00122-1	AD00122-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gucccaccUuUuCuucuaaua*(Invab)	397	AD00122-1-AS	u*A*uuagAagaaAaGgUggg*a*c	460
AD00123-1	AD00123-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gccuuuucUuCuAaugaguca*(Invab)	398	AD00123-1-AS	u*G*acucAuuaGaaGaAaag*g*c	461
AD00124-1	AD00124-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gggguuuaUuUuAgagaaua*(Invab)	399	AD00124-1-AS	u*C*auucUcuuaaAaUaAacc*c*c	462

AD00125-1	AD00125-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gguccaaAaAgAuuccaaa*(Invab)	400	AD00125-1-AS	u*U*uggaAuucUuUuGgaa*c*c	463
AD00126-1	AD00126-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuccaaaAaGaAuuccaaca*(Invab)	401	AD00126-1-AS	u*G*unggAauucUuUuUgga*a*c	464
AD00154-1	AD00154-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cauccacaAuGaGaguaccua*(Invab)	402	AD00154-1-AS	u*A*gguaCucucAuUgUgga*u*g	465
AD00155-1	AD00155-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cuucungGcUuCcguaaua*(Invab)	403	AD00155-1-AS	u*A*uaucGgaaGcCcAaga*a*g	466
AD00156-1	AD00156-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caugcaggCuGuGacaggau*(Invab)	404	AD00156-1-AS	u*A*uccuGucacAgCcUgca*u*g	467
AD00157-1	AD00157-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcugaaccUgCaAaaauugaa*(Invab)	405	AD00157-1-AS	u*U*caauUuuugCaGgUuca*g*c	468
AD00160-1	AD00160-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*acuguuccAaAaAgaauucca*(Invab)	406	AD00160-1-AS	u*G*gaauUcuuuUuGgAaca*g*u	469
AD00161-1	AD00161-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caaaaagaAuUcCaaccgaca*(Invab)	407	AD00161-1-AS	u*G*ucggUuggaAuUcUuuu*u*g	470
AD00162-1	AD00162-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cgaccagcUuGuUugugaaaa*(Invab)	408	AD00162-1-AS	u*U*uncaCaaacAaGcUggu*c*g	471
AD00252-1	AD00252-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cgaccagcUuGuUugugaaaa*(Invab)	409	AD00252-1-AS	u*A*cucuCaungUgGaUgac*g*a	472

AD00253-1	1-SS	5)*(Invab)*ucgucaucCaCaAugagagua*(Invab)	410	AS		
	AD00253-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guccacaaUgAgAguaccuga*(Invab)		AD00253-1-AS	u*C*agguAcucuCaUuGugg*a*c	473
AD00254-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*agggucucAcUuUccagcaaa*(Invab)	411	AD00254-1-AS	u*U*ugcuGgaaaGuGaGacc*c*u	474
AD00255-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cuguuugcUgUgUaugaucaa*(Invab)	412	AD00255-1-AS	u*U*gaucAuacaCaGcAaac*a*g	475
AD00256-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*uuugcuguGuAuGaucaaa*(Invab)	413	AD00256-1-AS	u*C*uuugAucuuAcAcAgca*a*a	476
AD00257-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuuccUuGgUcuaaguga*(Invab)	414	AD00257-1-AS	u*C*acuuAgaccAaGgAgaa*a*c	477
AD00258-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcaagaacCaGuGuuuagcga*(Invab)	415	AD00258-1-AS	u*C*gcuaAaacacUgGuUcuu*g*c	478
AD00259-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccaaaagAaUuCcaccgaa*(Invab)	416	AD00259-1-AS	u*U*cgguUggaaUuCuUuuu*g*g	479
AD00260-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caaccgacCaGcUuguuugua*(Invab)	417	AD00260-1-AS	u*A*caaaCaagcUgGuCggg*u*g	480
AD00282-1	1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gucccccUuUuCuucuaaua*(Invab)	418	AD00282-1-AS	u*A*uuAg(aUNA)agaaAaGgUggg*a*c	481

AD00283-1	AD00283-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuccaaaAaGaAuuccaaca*(Invab)	419	AD00283-1-AS	u*G*uuGg(aUNA)auucUuUuUgga*a*c	482
AD00284-1	AD00284-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gccuuucUuCuAaugaguca*(Invab)	420	AD00284-1-AS	u*G*acUc(aUNA)uuagAaGaAaag*g*c	483
AD00285-1	AD00285-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gccagcuUuGuGugaacaa*(Invab)	421	AD00285-1-AS	u*U*guUu(cUNA)acaaAcAaGcug*g*c	484
AD00286-1	AD00286-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gguuccaaAaAgAauuccaaa*(Invab)	422	AD00286-1-AS	u*U*ugGa(aUNA)uuucUuUuUgga*a*c	485
AD00287-1	AD00287-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gguuugcuGgGuUauuuuaa*(Invab)	423	AD00287-1-AS	u*U*aaAa(uUNA)aaacCcAgCaaa*c*c	486
AD00288-1	AD00288-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caccuuuCuUcUaauagaa*(Invab)	424	AD00288-1-AS	u*A*cuCa(uUNA)uagaAgAaAagg*u*g	487
AD00289-1	AD00289-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gaccagcuUgUuUgugaaaca*(Invab)	425	AD00289-1-AS	u*G*uuUc(aUNA)caaaCaAgCugg*u*c	488
AD00290-1	AD00290-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccguuucCcUuGgucaaga*(Invab)	426	AD00290-1-AS	u*C*uuAg(aUNA)ccaaGgAgAaac*g*g	489
AD00291-1	AD00291-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cgaccagcUuGuUugugaaaa*(Invab)	427	AD00291-1-AS	u*U*uuCa(cUNA)aaacAaGcUggg*c*g	490
AD00292-1	AD00292-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cgaccagcUuGuUugugaaaa*(Invab)	428	AD00292-1-AS	u*G*ucGg(uUNA)uggaAuUcUuuu*u*g	491

	1-SS	5)*(Invab)*caaaaagaAuUcCaaccgaca*(Invab)		AS		
AD00293-1	AD00293-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*ucgucaucCaCaAugagagua*(Invab)	429	AD00293-1-AS	u*A*cuCu(cUNA)auugUgGaUgac*g*a	492
AD00294-1	AD00294-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guccacaaUgAgAguaccuga*(Invab)	430	AD00294-1-AS	u*C*agGu(aUNA)cucuCaUuGugg*a*c	493
AD00295-1	AD00295-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*agggucucAcUuUccagcaaa*(Invab)	431	AD00295-1-AS	u*U*ugCu(gUNA)gaaaGuGaGacc*c*u	494
AD00296-1	AD00296-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cuguuugcUgUgUaugaucaaa*(Invab)	432	AD00296-1-AS	u*U*gaUc(aUNA)uacaCaGcAaac*a*g	495
AD00297-1	AD00297-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*uuugcuguGuAuGaucaaa*(Invab)	433	AD00297-1-AS	u*C*uuUg(aUNA)ucauAcAcAga*a*a	496
AD00298-1	AD00298-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuucuccUuGgUcuaaguga*(Invab)	434	AD00298-1-AS	u*C*acUu(aUNA)gaccAaGgAgaa*a*c	497
AD00299-1	AD00299-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcaagaacCaGuGuuuagcga*(Invab)	435	AD00299-1-AS	u*C*gcUa(aUNA)acacUgGuUcuu*g*c	498
AD00301-1	AD00301-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caaccgacCaGcUuguuugua*(Invab)	436	AD00301-1-AS	u*A*caAa(cUNA)aaagcUgGuCggu*u*g	499
AD00302-1	AD00302-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccaaccgaCcAgCuuguuuga*(Invab)	437	AD00302-1-AS	u*C*aaAc(aUNA)agcuggUcGguu*g*g	500

AD00158-1	AD00158-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gaccuuuuCuUcUaaugagua*(Invab)	438	AD00158-1-AS	u*A*cucaUuagaAgAaAagg*u*c	501
AD00158-2	AD00158-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*gaccuuucUuUcUagcgagua*(Invab)	439	AD00158-2-AS	u*A*cucaUuagaAgAaAagg*u*c	502
AD00158-3	AD00158-3-SS	g*a*ccuuuuCuUcUaaugagu*a(GLO-0)	440	AD00158-3-AS	u*A*cucaUuagaAgAaAagg*u*c	503
AD00163-1	AD00163-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*caccagcuUgUuUgugaaaca*(Invab)	441	AD00163-1-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	504
AD00163-2	AD00163-2-SS	c*a*ccagcuUgUuUgugaaac*a(GLO-0)	442	AD00163-2-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	505
AD00159-1	AD00159-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcuuuuCuUcUgucuaaga*(Invab)	443	AD00159-1-AS	u*C*uuagAccaaGgAgAaac*g*c	506
AD00159-2	AD00159-2-SS	g*c*guuuuCuUcUgucuaag*a(GLO-0)	444	AD00159-2-AS	u*C*uuagAccaaGgAgAaac*g*c	507
AD00300-1	AD00300-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*gcaaaaagAaUuCcaaccgaa*(Invab)	445	AD00300-1-AS	u*U*cgGu(uUNA)ggaaUuCuUuuu*g*c	508
AD00158-19-1	AD00158-19-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccuuuuCuUcUaaugagua*(Invab)	446	AD00158-19-1-AS	u*A*cucaUuagaAgAaAa*g*g	509
AD00163-	AD00163-	(GLS-5)*(Invab)*	447	AD00163-	u*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*g	510

19-1	19-1-SS	ccagcuUgUuUgugaaca*(Invab)		19-1-AS		
AD00159-19-1	AD00159-19-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuucuCcUuGgucuaaga*(Invab)	448	AD00159-19-1-AS	u*C*uuagAccaaGgAgAa*a*c	511
AD00300-19-1	AD00300-19-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*aaaaagAaUuCcaaccgaa*(Invab)	449	AD00300-19-1-AS	u*U*cgGu(uUNA)ggaaUuCuUu*u*u	512
AD00122-19-1	AD00122-19-1-SS	(GLS-5)*(Invab)*cccaccUuUuCuucuaaua*(Invab)	450	AD00122-19-1-AS	u*A*uuagAagaaAaGgUg*g*g	513
AD00158-19-2	AD00158-19-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccuuuuCuUcUaaugagu*(Invab)	451	AD00158-19-2-AS	a*A*cucaUuagaAgAaAa*g*g	514
AD00163-19-2	AD00163-19-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*ccagcuUgUuUgugaacu*(Invab)	452	AD00163-19-2-AS	a*G*uuucAcaaaCaAgCu*g*g	515
AD00159-19-2	AD00159-19-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*guuucuCcUuGgucuaagu*(Invab)	453	AD00159-19-2-AS	a*C*uuagAccaaGgAgAa*a*c	516
AD00300-19-2	AD00300-19-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*aaaaagAaUuCcaaccgaa*(Invab)	454	AD00300-19-2-AS	a*U*cgGu(uUNA)ggaaUuCuUu*u*u	517
AD00122-19-2	AD00122-19-2-SS	(GLS-5)*(Invab)*cccaccUuUuCuucuaauu*(Invab)	455	AD00122-19-2-AS	a*A*uuagAagaaAaGgUg*g*g	518
AD00163-3	AD00163-3-SS	(GLS-15)*(Invab)*caccagcuUgUuUgugaaca*(Invab)	526	AD00163-3-AS	u*G*uuucAcaaaCaAgCugg*u*g	527

AD00159-3	AD00159-3-SS	(GLS-15)*(Invab)*gcuuuuCuUuGgicuaaga*(Invab)	654	AD00159-3-AS	u*C*uuagAccaaGgAgAaac*g*c	655
-----------	--------------	--	-----	--------------	---------------------------	-----

错配

本领域技术人员已知，对于 dsRNA 的功效而言，错配是可以容忍的，尤其是错配在 dsRNA 的末端区域内的情况。某些错配具有更好的耐受性，例如具有摆动碱基对 G:U 和 A:C 的错配对功效的耐受性更好（Du et al., A systematic analysis of the silencing effects of an active siRNA at all single-nucleotide mismatched target sites. *Nucleic Acids Res.* 2005 Mar 21;33(5):1671-7. Doi: 10.1093/nar/gki312. *Nucleic Acids Res.* 2005;33(11):3698）。本发明的方法和化合物的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂可以含有一个或更多个与 AGT 靶序列的错配。在一些实施方案中，本发明的 AGT dsRNA 试剂不包含错配。在某些实施方案中，本发明的 AGT dsRNA 试剂包含不超过 1 个错配。在一些实施方案中，本发明的 AGT dsRNA 试剂包含不超过 2 个错配。在某些实施方案中，本发明的 AGT dsRNA 试剂包含不超过 3 个错配。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂的反义链包含与不位于互补区域中心的 AGT 靶序列的错配。在一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂的反义链包含 1、2、3、4 或更多个错配，其位于互补区域的 5'或 3'末端之一或两者的最末 5、4、3、2 或 1 个核苷酸内。本文所述的方法和/或本领域已知的方法可用于确定包含与 AGT 靶序列错配的 AGT dsRNA 试剂是否有效抑制 AGT 基因的表达。

互补性

如本文所用，除非另有说明，否则术语“互补性/互补”当用于描述第一核苷酸序列（例如，AGT dsRNA 试剂正义链或靶标 AGT mRNA）与第二核苷酸序列（例如，AGT dsRNA 试剂反义链或单链反义多核苷酸）的相关性时，是指包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交[在哺乳动物生理条件（或体外类似条件）下形成碱基对间氢键]、并且在某些条件下形成双螺旋或双螺旋结构的能力。其中也可以应用其他条件，例如在生物体内可能遇到的生理相关条件。技术人员将能够根据杂交核苷酸的最终应用确定最适合测试两个序列互补性的条件集。互补序列包括沃森-克里克碱基对或非沃森-克里克碱基对，并且包括天然或修饰的核苷酸或核苷酸模拟物，只要至少达到上述杂交要求的程度即可。序列同一性或互补性与修饰无关。

例如，在如本文所述的 AGT dsRNA 内的互补序列包含含有第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一个或两个核苷酸序列的全长上的碱基配对。此类序列在本文中可被称为彼此“完全互补”。应当理解，在设计两个寡核苷酸以在杂交时形成一个或更多个单链突出端的实施方案中，这种突出端在本

文中不被视为基于互补性确定的错配。例如，AGT dsRNA 试剂包含一个长度为 19 个核苷酸的寡核苷酸和另一个长度为 20 个核苷酸的寡核苷酸，其中较长的寡核苷酸包含与较短的寡核苷酸完全互补的 19 个核苷酸的序列，出于本文所述的目的，此种情况可以称为“完全互补”。因此，如本文所用，“完全互补”是指第一多核苷酸的连续序列中的所有（100%）碱基会与第二多核苷酸的连续序列中的相同数目的碱基杂交。连续序列可以包含第一或第二核苷酸序列的全部或部分。

如本文所用，术语“基本互补”是指在核碱基序列的杂交对中，第一多核苷酸的连续序列中的碱基的至少约 85%（但不是全部）会与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。如果两个序列在杂交时包含一个或更多个错配碱基对，例如至少 1、2、3、4 或 5 个错配碱基对，则可以使用术语“基本上互补”来指第一序列相对于第二序列形成多达 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个碱基对 (bp) 的双链体，同时保留在与其最终应用最相关的条件下杂交的能力，例如，通过 RISC 途径抑制 AGT 基因表达。术语“部分互补”在本文中可用于指核碱基序列的杂交对中，第一多核苷酸的连续序列中碱基的至少 75%（但不是全部）会与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。在一些实施方案中，“部分互补”是指第一多核苷酸的连续序列中至少 76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 的碱基会与第二多核苷酸的连续序列中相同数量的碱基杂交。

术语“互补”、“完全互补”、“基本互补”和“部分互补”在本文中使用时可用于指 AGT dsRNA 试剂的正义链与反义链之间的碱基匹配、AGT dsRNA 试剂的反义链与靶 AGT mRNA 的序列之间的碱基匹配，或单链反义寡核苷酸与靶 AGT mRNA 序列之间的碱基匹配。应当理解，术语“AGT dsRNA 试剂的反义链”可以指与“AGT 反义多核苷酸试剂”相同的序列。

如本文所用，在提及核酸序列时使用的术语“基本相同”或“基本同一性”是指核酸序列与参考序列相比，包含具有至少约 85% 或更高序列同一性的序列，优选至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98% 或至少 99% 同一性。序列同一性的百分比通过在比对窗口上比较两个序列的最佳比对来确定。百分比是通过以下方式计算的：确定在两个序列中出现相同核酸碱基的位置数以产生匹配位置的数量；将匹配位置的数量除以比对窗口中的位置总数，然后将结果乘以 100，从而得出序列同一性的百分比。本文公开的发明包括与本文公开（例如，在表 1-5 中）的那些基本相同的核苷酸序列。在一些实施方案中，所述核苷酸序列与本文公开（例如，在表 1-4 中）的序列完全相同，或具有至少约 85%、86%、87%、88%、

89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的同一性。

如本文所用，术语“包含序列的链”是指包含核苷酸链的寡核苷酸，所述核苷酸链由使用标准核苷酸命名法指代的序列描述。如本文所用，术语“双链 RNA”或“dsRNA”指包含 RNA 分子或 RNAi 分子复合物的序列，所述分子或复合物具有包含两条反向平行且基本或完全互补的核酸链的杂交双链区，其分别被称为相对于靶 AGT RNA 具有“正义”和“反义”方向。双链区可以具有允许通过 RISC 途径特异性降解靶标 AGT RNA 的任何所需长度，但通常长度为 9 至 30 个碱基对，例如长度为 15-30 个碱基对。考虑到 9 到 30 个碱基对之间的双链体，双链体可以是此范围内的任何长度，例如，9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 个碱基对，以及其中的任何子范围，包括但不限于 15-30 个碱基对、15-26 个碱基对；15-23 碱基对、15-22 碱基对、15-21 碱基对、15-20 碱基对、15-19 碱基对、15-18 碱基对、15-17 碱基对、18-30 个碱基对、18-26 个碱基对、18-23 个碱基对、18-22 个碱基对、18-21 个碱基对、18-20 个碱基对、19-30 个碱基对、19-26 个碱基对、19-23 个碱基对、19-22 个碱基对、19-21 个碱基对、19-20 个碱基对、20-30 个碱基对、20-26 个碱基对、20-25 个碱基对、20-24 个碱基对、20-23 个碱基对、20-22 个碱基对、20-21 个碱基对、21-30 个碱基对、21-26 个碱基对、21-25 个碱基对、21-24 个碱基对、21-23 个碱基对或 21-22 个碱基对。通过用切丁酶和类似酶加工在细胞中产生的 AGT dsRNA 试剂的长度通常在 19-22 个碱基对的范围内。AGT dsDNA 剂的双链区的一条链包含与靶 AGT RNA 的区域基本互补的序列。形成双链体结构的两条链可以来自具有至少一个自身互补区的单个 RNA 分子，或者可以由两个或更多个单独的 RNA 分子形成。在双链区由单个分子形成的情况下，该分子可以具有由单链核苷酸链在 3'-末端的一条链和相应的 5'-末端的另一条链形成的双链体结构（本文称为“发夹环”）。在本发明的一些实施方案中，发夹构型包含至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 个或更多个未配对的核苷酸。当 AGT dsRNA 试剂的基本互补的两条链由单独的 RNA 分子组成时，这些分子不需要共价连接，但也可以共价连接。当两条链通过发夹环以外的方式共价连接时，连接结构被称为“接头”。术语“siRNA”在本文中也用于指如本文所述的 dsRNA 试剂。

在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂可以包含在 dsRNA 试剂的一个或两个末端具有未配对核苷酸或核苷酸类似物的正义和反义序列。没有未配对核苷酸的末端被称为“平末端”并且没有核苷酸突出端。如果 dsRNA 试剂的两端都是平末端，则 dsRNA 被称为“平末端的”。在本发明的一些实施方案中，dsRNA 试剂的第一末端是平末端的，在一些实施方案中，dsRNA 试剂的第二末端是平末端的，并且在本发明的某

些实施方案中，AGT dsRNA 试剂的两个末端都是平末端的。

在本发明的 dsRNA 试剂的一些实施方案中，dsRNA 不具有一个或两个平末端。在这种情况下，在 dsRNA 试剂的一条链的末端有至少一个未配对的核苷酸。例如，当 dsRNA 一条链的 3'-末端延伸超出另一条链的 5'-末端时，则存在核苷酸突出端，反之亦然。dsRNA 可包含至少 1、2、3、4、5、6 或更多个核苷酸的突出端。核苷酸突出端可包含核苷酸/核苷类似物或由其组成，包括脱氧核苷酸/核苷。应当理解，在一些实施方案中，核苷酸突出端在 dsRNA 试剂的正义链上、在 dsRNA 试剂的反义链上，或在 dsRNA 试剂的两端，突出端的核苷酸可存在于 dsRNA 的反义链或正义链的 5' 端、3' 端或两端。在本发明的某些实施方案中，突出端中的一个或多个核苷酸被核苷硫代磷酸酯替换。

如本文所用，术语“反义链”或“引导链”是指包含与 AGT 靶序列基本互补的区域的 AGT dsRNA 试剂的链。如本文所用，术语“正义链”或“过客链”是指包含与 AGT dsRNA 试剂的反义链的区域基本互补的区域的 AGT dsRNA 试剂的链。

修饰

在本发明的一些实施方案中，AGT RNAi 剂的 RNA 被化学修饰以获得增强的稳定性和/或一种或更多种其他有益特性。本发明的某些实施方案中的核酸可以通过本领域公知的方法合成和/或修饰，例如，见 “Current protocols in Nucleic Acid Chemistry,” Beaucage, S. L. et al. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, N.Y., USA，其作为参考在此并入本文。可以存在于本发明的 AGT dsRNA 试剂的某些实施方案中的修饰包括例如：(a) 末端修饰，例如 5' 端修饰（磷酸化、缀合、反向连接等）、3' 端修饰（缀合、DNA 核苷酸、反向连接等）；(b) 碱基修饰，例如用稳定碱基、去稳定碱基或与扩展的配偶体库进行碱基配对的碱基替换、缺失碱基（无碱基核苷酸）或缀合碱基；(c) 糖修饰（例如，在 2' 位置或 4' 位置）或糖的替换；以及 (d) 骨架修饰，包括磷酸二酯键的修饰或替换。在本发明的 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和 AGT 正义多核苷酸的某些实施方案中可用的 RNA 化合物的具体实例包括但不限于包含修饰骨架或没有天然核苷间键联的 RNA。作为非限制性实例，具有骨架修饰的 RNA 在骨架中可以不具有磷原子。在其核苷间骨架中没有磷原子的 RNA 可称为寡核苷。在本发明的某些实施方案中，修饰的 RNA 在其核苷间骨架中具有磷原子。

应当理解，术语“RNA 分子”或“RNA”或“核糖核酸分子”不仅包括在自然界中表达或发现的 RNA 分子，还包括 RNA 的类似物和衍生物，其包含一种或更多种如本文所述

或本领域已知的核糖核苷酸/核糖核苷类似物或衍生物。术语“核糖核苷”和“核糖核苷酸”在本文中可互换使用。RNA 分子可以在核碱基结构或核糖-磷酸骨架结构中进行修饰（例如，如下文所述），并且包含核糖核苷类似物或衍生物的分子必须保留形成双链体的能力。作为非限制性实例，RNA 分子还可包含至少一种修饰的核糖核苷，其包括但不限于 2'-O-甲基修饰的核苷、包含 5'硫代磷酸酯基团的核苷、与胆固醇衍生物或十二烷酸双癸酰胺基团相连的末端核苷、锁核苷、无碱基核苷、2'-脱氧-2'-氟修饰的核苷、2'-氨基修饰的核苷、2'-烷基修饰的核苷、吗啉代核苷、氨基磷酸酯或包含核苷的非天然碱基，或其任何组合。在本发明的一些实施方案中，RNA 分子包含以下数量的修饰的核糖核苷：至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20 或长达 AGT dsRNA 试剂分子的核糖核苷的全长。对于这种 RNA 分子中的多个修饰的核糖核苷中的每一个，修饰不必相同。

在一些实施方案中，本发明的 dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸可以包含一个或更多个独立选择的修饰核苷酸和/或一个或更多个独立选择的非磷酸二酯键。本文所用的术语“独立选择”用于指选定的要素，例如修饰的核苷酸、非磷酸二酯键等，是指两个或更多个选定的要素可以彼此相同但不必彼此相同。如本文所用，“核苷酸碱基”、“核苷酸”或“核碱基”是杂环嘧啶或嘌呤化合物，其是所有核酸的标准成分，并且包括形成核苷酸的碱基：腺嘌呤 (a)、鸟嘌呤 (g)、胞嘧啶 (c)、胸腺嘧啶 (t) 和尿嘧啶 (u)。核碱基可进一步修饰以包括（但不旨在限制）：通用碱基、疏水性碱基、混杂碱基、尺寸扩大的碱基和氟化碱基。术语“核糖核苷酸”或“核苷酸”在本文中可用于指未修饰的核苷酸、修饰的核苷酸或替代部分。本领域技术人员将认识到，鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤和尿嘧啶可以被其他部分替换，而不会显著改变包含带有这种替换部分的核苷酸的寡核苷酸的碱基配对特性。

在一个实施方案中，预期用于本文所述的方法和组合物中的修饰的 RNA 是肽核酸 (PNA)，其具有形成所需双链体结构并且允许或介导靶 RNA 经由 RISC 途径的特异性降解的能力。在本发明的某些实施方案中，AGT RNA 干扰剂包括与靶 AGT RNA 序列相互作用以指导靶 AGT RNA 切割的单链 RNA。

修饰的 RNA 骨架可以包含例如硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯（包括 3'-亚烷基磷酸酯和手性磷酸酯）、次磷酸酯、氨基磷酸酯（包括 3'-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯）、硫代氨基磷酸酯、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酯，和硼酸磷酸酯（其具有正常 3'-5'连接的，以及这些的 2'-5'连接类似物，以及具有倒置极性的那些，其中相邻的核苷单元对以 3'-5'至 5'-3'或 2'-5'至 5'-2'形式连接）。还包括各种盐、混合盐和游离酸形式。制备

含磷键的方法是本领域的常规实施手段，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂、某些修饰的 AGT 反义多核苷酸和/或某些修饰的 AGT 正义多核苷酸。

其中不包含磷原子的修饰的 RNA 骨架具有由短链烷基或环烷基核苷间键联、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间键联、或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间键联形成的骨架。其包括具有吗啉键的那些（部分由核苷的糖部分形成）；硅氧烷骨架；硫化物、亚砷和砷骨架；甲乙酰和硫甲乙酰骨架；亚甲基甲乙酰和硫甲乙酰骨架；含有烯烃的骨架；氨基磺酸盐骨架；亚甲基亚氨基和亚甲基胍基骨架；磺酸盐和磺酰胺骨架；酰胺骨架；以及其他混合有 N、O、S 和 CH₂ 成分的部分。制备不含磷原子的修饰的 RNA 骨架的方法在本领域中是常规实践，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂、某些修饰的 AGT 反义多核苷酸和/或某些修饰的 AGT 正义多核苷酸。

在本发明的某些实施方案中，RNA 模拟物被包括在 AGT dsRNA、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸中，例如但不限于用新基团替换核苷酸单元的糖和核苷间键联（即骨架）。在此类实施方案中，保持碱基单位以与合适的 AGT 核酸靶化合物杂交。一种这样的寡聚化合物（已被证明具有优异杂交特性的 RNA 模拟物），被称为肽核酸（PNA）。在 PNA 化合物中，RNA 的糖骨架被含有酰胺的骨架，特别是氨乙基甘氨酸骨架取代。核碱基被保留并直接或间接地与骨架酰胺部分的氮杂氮原子结合。制备 RNA 模拟物的方法是本领域常规实践的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂。

本发明的一些实施方案包括具有硫代磷酸酯骨架的 RNA 和具有杂原子骨架的寡核苷，特别是 -CH₂--NH--CH₂--、--CH₂--N(CH₃)--O--CH₂--[称为亚甲基（甲基亚氨基）或 MMI 骨架]、--CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--、--CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂--以及 --N(CH₃)--CH₂----[其中天然磷酸二酯骨架表示为 --O--P--O--CH₂--]。制备具有硫代磷酸酯骨架的 RNA 和具有杂原子骨架的寡核苷的方法是本领域常规实践的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂、某些 AGT 反义多核苷酸和/或某些 AGT 正义多核苷酸。

修饰的 RNA 还可以包含一个或多个取代的糖部分。本发明的 AGT dsRNA、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸可在 2'位置包含以下之一：OH；F；O--、S--、或 N-烷基；O--、S--或 N-烯基；O-、S-或 N-炔基；或 O-烷基-O-烷基，其中烷基、烯基和炔基可以是取代或未取代的 C₁ 至 C₁₀ 烷基或 C₂ 至 C₁₀ 烯基和炔基。示例性的合适的修饰包括：O[(CH₂)_nO]_mCH₃、O(CH₂)_nOCH₃、O(CH₂)_nNH₂、O(CH₂)_nCH₃、O(CH₂)_nONH₂、以及 O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂，其中 n 和 m 为 1 至约 10。在其他实施方案中，dsRNA 在 2'位置包括以下之一：C₁ 至 C₁₀ 低级烷基、取代的低级烷基、烷芳基、

芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基；取代的甲硅烷基、RNA裂解基团、报告基团、嵌入剂；用于改善AGT dsRNA试剂的药代动力学特性的基团；或用于改善AGT dsRNA试剂、AGT反义多核苷酸和/或AGT正义多核苷酸的药效学特性的基团，和其他具有类似性质的取代基。在一些实施方案中，修饰包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O--CH₂CH₂OCH₃，也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin et al., *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504)，即烷氧基-烷氧基。另一种示例性修饰是2'-二甲氨基乙氧基乙氧基，即O(CH₂)₂ON(CH₃)₂基团，也称为2'-DMAOE，如下文实施例中所述；以及2'-二甲氨基乙氧基乙氧基(在本领域中也称为2'-O-二甲氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE)，即2'-O--CH₂-O--CH₂--N(CH₂)₂。制备所描述的那些的修饰RNA的方法是本领域常规实践的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的AGT dsRNA试剂。

其他修饰包括2'-甲氧基(2'-OCH₃)、2'-氨基丙氧基(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂)和2'-氟(2'-F)。类似的修饰也可以在本发明的AGT dsRNA试剂、AGT反义多核苷酸的RNA上的其他位置、AGT正义多核苷酸和/或AGT正义多核苷酸的其他位置，特别是3'末端核苷酸上或2'-5'连接的AGT dsRNA、AGT反义多核苷酸或AGT正义多核苷酸中的糖的3'位置、和5'末端核苷酸的5'位置进行。AGT dsRNA试剂、AGT反义多核苷酸和/或AGT正义多核苷酸也可以具有糖模拟物，例如代替呋喃戊糖的环丁基部分。制备例如所描述的那些的修饰RNA的方法是本领域常规实践的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的AGT dsRNA试剂、AGT反义多核苷酸和/或AGT正义多核苷酸。

在一些实施方案中，AGT dsRNA试剂、AGT反义多核苷酸和/或AGT正义多核苷酸可以包括核碱基(在本领域中通常简称为“碱基”)修饰或取代。如本文所用，“未修饰的”或“天然”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)，以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。修饰的核碱基包括其他合成和天然核碱基，例如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-甲基和其他腺嘌呤和鸟嘌呤的烷基衍生物、2-丙基和其他腺嘌呤和鸟嘌呤的烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-卤尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶；8-卤代、8-氨基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羟基以及其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤；5-卤代，特别是5-溴、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶；7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-氮杂鸟嘌呤和7-氮杂腺嘌呤以及3-氮杂鸟嘌呤和3-氮杂腺嘌呤。可以包含在本发明的AGT dsRNA试剂的某些实施方案中的另外的核碱基是本领域已知

的，参见例如：Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. Ed. Wiley-VCH, 2008; The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, Ed. John Wiley & Sons, 1990, English et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613, Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993。制备包含核碱基修饰和/或取代的 dsRNA、AGT 反义链多核苷酸和/或 AGT 正义链多核苷酸(例如本文所述的那些)的方法是本领域常规实践的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂、AGT 正义多核苷酸和/或 AGT 反义多核苷酸。

本发明的 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸的某些实施方案包括经修饰以包括一种或更多种锁核酸 (LNA) 的 RNA。锁核酸是具有这样的修饰核糖部分的核苷酸，其包含额外的连接 2'和 4'碳的桥。这种结构有效地将核糖“锁定”在 3'-内结构构象中。在本发明的 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸中添加锁核酸可以增加血清中的稳定性，并减少脱靶效应 (Elmen, J. et al., (2005) Nucleic Acids Research 33(1):439-447; Mook, O R. et al., (2007) Mol Canc Ther 6(3):833-843; Grunweller, A. et al., (2003) Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。制备包含锁核酸的 dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸的方法是本领域常规实施的，并且此类方法可用于制备本发明的某些修饰的 AGT dsRNA 试剂。本发明的 AGT dsRNA 化合物、正义多核苷酸和/或反义多核苷酸的某些实施方案包括至少一种修饰的核苷酸，其中所述至少一种修饰的核苷酸包含：2'-O-甲基核苷酸、2'-氟核苷酸、2'-脱氧核苷酸、2',3'-seco 核苷酸模拟物、锁核苷酸、2'-F-阿拉伯糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、2'-烷基修饰的核苷酸、吗啉代核苷酸和 3'-OMe 核苷酸、包含 5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸，或与胆固醇衍生物或十二烷酸双癸酰胺基团连接的末端核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、氨基磷酸酯或包含核苷酸的非天然碱基。在一些实施方案中，AGT dsRNA 化合物在反义链（在本文中也称为引导链）的 5'末端处包含 E-乙烯基磷酸酯核苷酸。

本发明的某些实施方案中，在 AGT dsRNA 化合物、正义多核苷酸的 3'和 5'末端和/或反义多核苷酸的 3'末端包含至少一种修饰的核苷酸，其中至少一种修饰的核苷酸包括：无碱基核苷酸、核糖醇、反向核苷酸、反向无碱基核苷酸、反向 2'-OMe 核苷酸、反向 2'-脱氧核苷酸。本领域技术人员已知，在寡核苷酸末端包含无碱基或反向无碱基核苷酸可增强稳定性 (Czaderna et al. Structural variations and stabilizing modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells. Nucleic Acids Res. 2003;31(11):2705-2716. doi:10.1093/nar/gkg393)。

本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 化合物、反义多核苷酸包含至少一种修饰的核苷酸，其中所述至少一种修饰的核苷酸包含开环核酸核苷酸（UNA）或/和二醇核酸核苷酸（GNA）。本领域技术人员已知，UNA 和 GNA 是热不稳定化学修饰，可以显著改善 siRNA 化合物的脱靶谱（Janas, et al., Selection of GalNAc-conjugated siRNAs with limited off-target-driven rat hepatotoxicity. Nat Commun. 2018;9(1):723. doi:10.1038/s41467-018-02989-4; Laursen et al., Utilization of unlocked nucleic acid (UNA) to enhance siRNA performance in vitro and in vivo. Mol BioSyst. 2010;6:862–70）。

可以在本发明的某些实施方案的 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸的 RNA 中包含另一种修饰，其包括分别增强 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸的一种或更多种特征的一种或更多种配体、部分或与 RNA 化学连接的缀合物。可以增强的特征的非限制性实例是：AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸活性、细胞分布、AGT dsRNA 试剂的递送、AGT dsRNA 试剂的药代动力学特性以及 AGT dsRNA 试剂的细胞摄取。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂包含一个或更多个靶向基团或连接基团，在本发明的 AGT dsRNA 试剂的某些实施方案中，其与正义链缀合。靶向基团的非限制性实例是包含 N-乙酰基-半乳糖胺（GalNAc）的化合物。术语“靶向基团”、“靶向剂”、“连接剂”、“靶向化合物”和“靶向配体”在本文中可互换使用。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂包含与正义链的 5'-末端缀合的靶向化合物。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂包含与正义链的 3'-末端缀合的靶向化合物。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂包含含有 GalNAc 的靶向基团。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂不包含与正义链的 3'-末端和 5'-末端之一或两者缀合的靶向化合物。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂不包含与正义链的 5'-末端和 3'-末端之一或两者缀合的含有 GalNAc 的靶向化合物。

另外的靶向和连接剂是本领域众所周知的，例如，可用于本发明的某些实施方案中的靶向和连接剂包括但不限于脂质部分，例如胆固醇部分（Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556）、胆酸（Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053-1060）、硫醚，例如 beryl-S-三苯甲基硫醇（Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan et al., Biorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765-2770）、硫胆固醇（Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538）、脂肪链，例如十二烷二醇或十一烷基残基（Saison-Behmoaras et al., EMBO J, 1991, 10:1111-1118; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259:327-330; Svinarchuk et al., Biochimie, 1993, 75:49-54）、磷脂，例如二-十六烷基-rac-甘油或三乙基-铵 1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸

酯 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783)、聚胺或聚乙二醇链 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969-973) 或金刚烷乙酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654)、棕榈酰部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237) 或十八胺或己氨基-羧基胆固醇部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923-937)。

包含 AGT dsRNA 试剂、AGT 反义多核苷酸和/或 AGT 正义多核苷酸的组合物的某些实施方案可包含改变 AGT dsRNA 试剂的分布、靶向等性质的配体。在包含本发明的 AGT dsRNA 试剂的组合物的一些实施方案中, 例如与不存在此类配体的物种相比, 配体增加对选定靶标 (例如分子、细胞或细胞类型、区室, 例如细胞或器官区室、组织、器官或身体区域) 的亲和力。在本发明的组合物和/或方法中有用的配体可以是天然存在的物质, 例如蛋白质 (例如人血清白蛋白 (HSA)、低密度脂蛋白 (LDL) 或球蛋白)、碳水化合物 (例如, 葡聚糖、支链淀粉、几丁质、壳聚糖、菊粉、环糊精或透明质酸) 或脂质。配体也可以是重组或合成分子, 例如合成聚合物, 例如合成聚氨基酸或聚胺。聚氨基酸的实例是聚赖氨酸 (PLL)、聚 L-天冬氨酸、聚 L-谷氨酸、苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚(L-丙交酯-共-乙醇酸)共聚物、二乙烯基醚-马来酸酐共聚物、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺共聚物 (HMPA)、聚乙二醇 (PEG)、聚乙烯醇 (PVA)、聚氨酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-异丙基丙烯酰胺聚合物, 或聚磷嗪。多胺的示例包括: 聚乙烯亚胺、聚赖氨酸 (PLL)、精胺、亚精胺、多胺、假肽-多胺、拟肽多胺、树枝状多胺、精氨酸、胍、鱼精蛋白、阳离子脂质、阳离子卟啉、多胺的季盐或 α 螺旋肽。

本发明的组合物和/或方法中包含的配体可包含靶向基团, 其非限制性实例为细胞或组织靶向剂, 例如, 凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质, 例如结合特定细胞类型如肾细胞或肝细胞的抗体。靶向基团可以是促甲状腺素、促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性蛋白 A、黏蛋白碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰-半乳糖胺、N-乙酰-葡萄糖胺多价甘露糖、多价岩藻糖、糖基化聚氨基酸、多价半乳糖、转铁蛋白、双磷酸盐、聚谷氨酸盐、聚天冬氨酸、脂质、胆固醇、类固醇、胆汁酸、叶酸、维生素 B12、维生素 A、生物素或 RGD 肽或 RGD 肽模拟物。

配体的其他实例包括染料、嵌入剂 (例如吡啶)、交联剂 (例如补骨脂素、丝裂霉素 C)、卟啉 (TPPC4、texaphyrin、Sapphyrin)、多环芳烃 (例如吩嗪、二氢吩嗪); 人工核酸内切酶 (例如 EDTA)、亲脂性分子, 例如胆固醇、胆酸、金刚烷乙酸、1-萘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶氧基己基、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕榈酸、肉豆蔻酸、O3-(油酰基)石胆酸、O3-(油酰基)胆

酸、二甲氧基三苯甲基或吩噻嗪和肽缀合物（例如，触角肽、Tat 肽）、烷化剂、磷酸盐、氨基、巯基、PEG（例如，PEG-40K）、MPEG、[MPEG]₂、聚氨基、烷基、取代烷基、放射性标记物、酶、半抗原（例如生物素）、转运/吸收促进剂（例如阿司匹林、维生素 E、叶酸）、合成核糖核酸酶（例如咪唑、双咪唑、组胺、咪唑簇、吡啶-咪唑偶联物、四氮杂大环的 Eu³⁺复合物）、二硝基苯基、HRP 或 AP。

本发明的组合物和/或方法中包括的配体可以是蛋白质，例如糖蛋白或肽，例如对共配体具有特定亲和力的分子，或抗体，例如与特定细胞类型如癌细胞、内皮细胞、心肌细胞或骨细胞结合的抗体。在本发明的组合物和/或方法的实施方案中有用的配体可以是激素或激素受体。在本发明的组合物和/或方法的实施方案中有用的配体可以是脂质、凝集素、碳水化合物、维生素、辅酶、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰-半乳糖胺、N-乙酰-葡萄糖胺多价甘露糖或多价岩藻糖。在本发明的组合物和/或方法的实施方案中有用的配体可以是例如通过破坏细胞的细胞骨架（例如，通过破坏细胞的微管、微丝和/或中间丝）而增加 AGT dsRNA 试剂向细胞中的摄取的物质。此类试剂的非限制性实例是：taxon、长春新碱、长春碱、细胞松弛素、诺考达唑、japlakinolide、latrunculin A、鬼笔环肽、swinholid A、indanocine 和 myoservin。

在一些实施方案中，与本发明的 AGT dsRNA 试剂连接的配体用作药代动力学(PK)调节剂。可用于本发明的组合物和/或方法的 PK 调节剂的实例包括但不限于：亲脂剂、胆汁酸、类固醇、磷脂类似物、肽、蛋白质结合剂、PEG、维生素、胆固醇、脂肪酸、胆酸、石胆酸、二烷基甘油酯、二酰基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生、布洛芬、维生素 E、生物素、结合血清蛋白的适体等。还已知包含许多硫代磷酸酯键的寡核苷酸与血清蛋白结合，因此，在骨架中包含多个硫代磷酸酯键的短寡核苷酸，例如约 5 个碱基、10 个碱基、15 个碱基或 20 个碱基的寡核苷酸也可用作本发明的组合物和/或方法中的配体。

AGT dsRNA 试剂组合物

在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂在组合物中。本发明的组合物可包含一种或更多种 AGT dsRNA 试剂和任选的一种或更多种药学上可接受的载体、递送剂、靶向剂、可检测标签等，根据本发明方法的一些实施方案可用的靶向剂的非限制性实例是将本发明的 AGT dsRNA 试剂引导至和/或进入待治疗细胞的试剂。靶向剂的选择将取决于以下要素：AGT 相关疾病或病症的性质，以及靶细胞类型。在一个非限制性实例中，在本发明的一些实施方案中，可能需要将 AGT dsRNA 试剂靶向至和/或进入肝细胞。应当理解，在本发明方法的一些实施方案中，治疗剂包含仅具有递送剂的 AGT dsRNA

试剂，例如包含 N-乙酰半乳糖胺（GalNAc）的递送剂，而没有任何附加的连接元件。例如，在本发明的一些方面，AGT dsRNA 试剂可以连接到包含 GalNAc 的递送化合物上，并且包含在含有药学上可接受载体的组合物中，并且在没有任何连接至 AGT dsRNA 试剂的可检测标记或靶向剂等的情况下施用至细胞或对象。

在本发明的 AGT dsRNA 试剂与一种或更多种递送剂、靶向剂、标记剂等一起施用和/或连接到其上的情况下，本领域技术人员能够了解并能够选择和使用适合的试剂用于本发明的方法中。在本发明的某些方法中可以使用标记试剂来确定 AGT dsRNA 试剂在细胞和组织中的位置，并且可用于确定已在本发明的方法中施用的包含 AGT dsRNA 试剂的治疗组合物的细胞、组织或器官位置。接附和使用标记试剂如酶标记、染料、放射性标记等的手段是本领域公知的。应当理解，在本发明的组合物和方法的一些实施方案中，标记试剂连接至 AGT dsRNA 试剂中所包含的正义多核苷酸和反义多核苷酸之一或两者。

AGT dsRNA 试剂和 AGT 反义多核苷酸试剂的递送

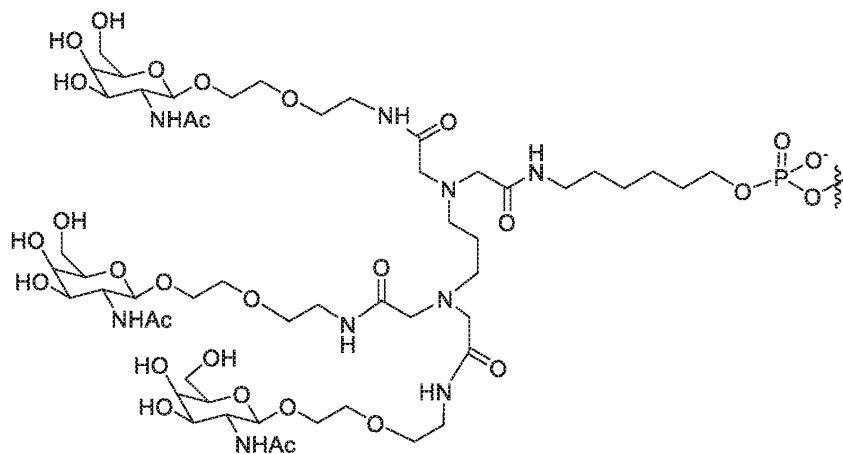
本发明方法的某些实施方案包括将 AGT dsRNA 试剂递送到细胞中。如本文所用，术语“递送”是指促进或影响细胞摄取或吸收。AGT dsRNA 试剂的吸收或摄取可通过独立的扩散或活性细胞过程来发生，或通过使用可与本发明的 AGT dsRNA 试剂相关的递送剂、靶向剂等来进行。适用于本发明方法的递送方式包括但不限于体内递送，其中将 AGT dsRNA 试剂注射到组织部位或全身给药。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂连接至递送剂。

可用于将 AGT dsRNA 试剂递送至细胞、组织和/或对象的方法的非限制性实例包括：AGT dsRNA-GalNAc 缀合物、SAMI RNA 技术、基于 LNP 的递送方法和裸 RNA 递送。这些和其他递送方法已在本领域成功地用于递送治疗性 RNAi 试剂以治疗各种疾病和病症，例如但不限于：肝病、急性间歇性卟啉症（AIP）、血友病、肺纤维化等。多种递送方式的详细信息可在出版物中找到，例如：Nikam, R.R. & K. R. Gore (2018) *Nucleic Acid Ther*, 28 (4), 209-224 Aug 2018; Springer A.D. & S.F. Dowdy (2018) *Nucleic Acid Ther*. Jun 1; 28(3): 109-118; Lee, K. et al., (2018) *Arch Pharm Res*, 41(9), 867-874; 和 Nair, J.K. et al., (2014) *J. Am. Chem. Soc.* 136:16958-16961，其内容均以引用方式并入本文。

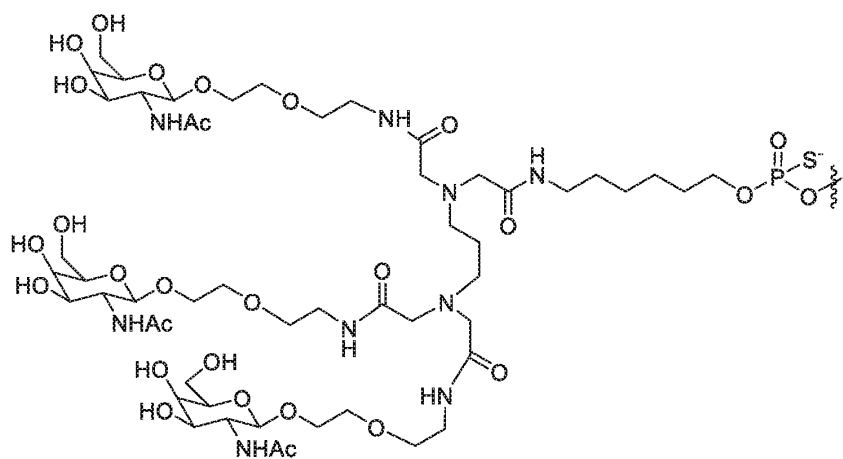
本发明的一些实施方案包括使用脂质纳米颗粒（LNP）将本发明的 AGT dsRNA 试剂递送至细胞、组织和/或对象。LNP 通常用于体内递送 AGT dsRNA 试剂，包括治疗性 AGT dsRNA 试剂。使用 LNP 或其他递送剂的一个好处是，当使用 LNP 或其他递送剂

递送至对象时，AGT RNA 剂的稳定性增加。在本发明的一些实施方案中，LNP 包含负载有一种或更多种本发明的 AGT RNAi 分子的阳离子 LNP。将包含 AGT RNAi 分子的 LNP 施用于对象，LNP 及其接附的 AGT RNAi 分子通过胞吞作用被细胞摄取，它们的存在导致 RNAi 触发分子的释放，从而介导 RNAi。

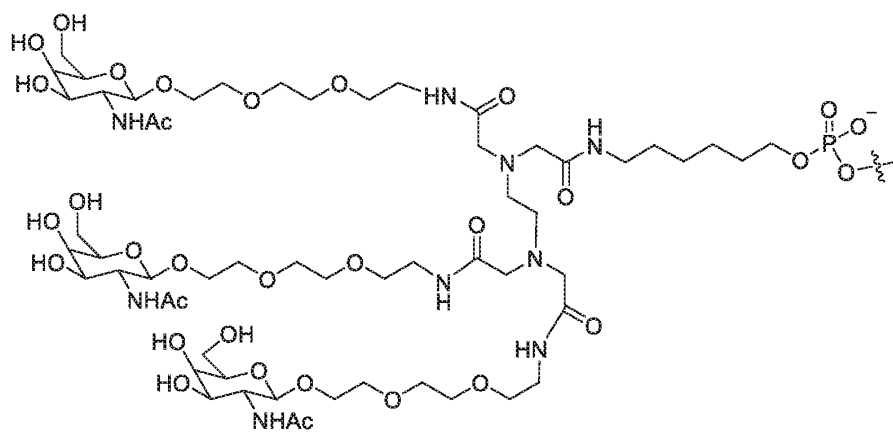
可用于本发明的实施方案以将本发明的 AGT dsRNA 试剂递送至细胞、组织和/或对象的递送剂的另一个非限制性实例是：包含 GalNAc 的试剂，其与本发明的 AGT dsRNA 试剂连接并将 AGT dsRNA 试剂递送至细胞、组织和/或对象。PCT 申请 WO2020191183A1 中公开了可用于本发明的方法和组合物的某些实施方案中的某些包含 GalNAc 的其他递送剂的实例。可用于本发明的组合物和方法中以将 AGT dsRNA 试剂递送至细胞的 GalNAc 靶向配体的非限制性实例是靶向配体簇。在此提出的靶向配体簇的实例如：具有磷酸二酯键的 GalNAc 配体（GLO）和具有硫代磷酸酯键的 GalNAc 配体（GLS）。术语“GLX-n”在本文中可用于表示所连接的含 GalNAc 的化合物是以下化合物：GLS-1、GLS-2、GLS-3、GLS-4、GLS-5、GLS-6、GLS-7、GLS-8、GLS-9、GLS-10、GLS-11、GLS-12、GLS-13、GLS-14、GLS-15、GLS-16、GLO-1、GLO-2、GLO-3、GLO-4、GLO-5、GLO-6、GLO-7、GLO-8、GLO-9、GLO-10、GLO-11、GLO-12、GLO-13、GLO-14、GLO-15 和 GLO-16 中的任一种，每个的结构如下所示，下图中 GalNAc 靶向配体与本发明的 RNAi 剂的连接位置在每个靶向配体的最右侧。应当理解，本发明的任何 RNAi 和 dsRNA 分子都可以连接到 GLS-1、GLS-2、GLS-3、GLS-4、GLS-5、GLS-6、GLS-7、GLS-8、GLS-9、GLS-10、GLS-11、GLS-12、GLS-13、GLS-14、GLS-15、GLS-16、GLO-1、GLO-2、GLO-3、GLO-4、GLO-5、GLO-6、GLO-7、GLO-8、GLO-9、GLO-10、GLO-11、GLO-12、GLO-13、GLO-14、GLO-15 和 GLO-16 上，以下是 GLO-1 到 GLO-16 和 GLS-1 到 GLS-16 的结构。



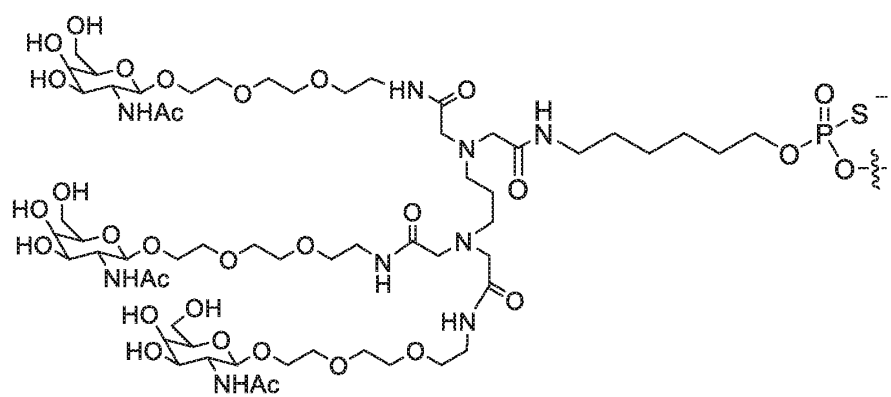
GLO-1



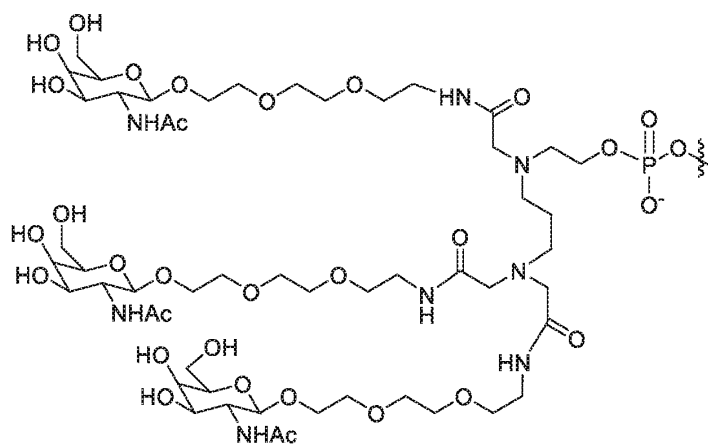
GLS-1



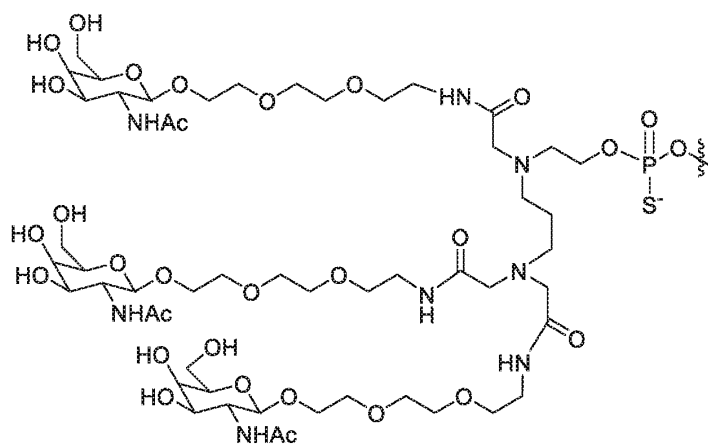
GLO-2



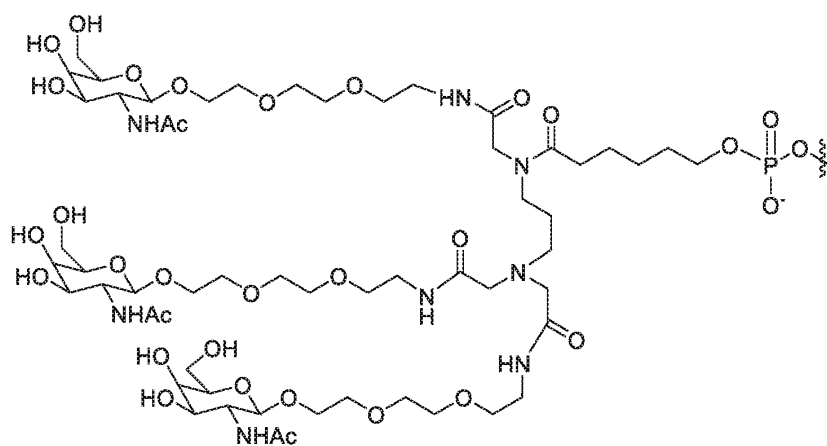
GLS-2



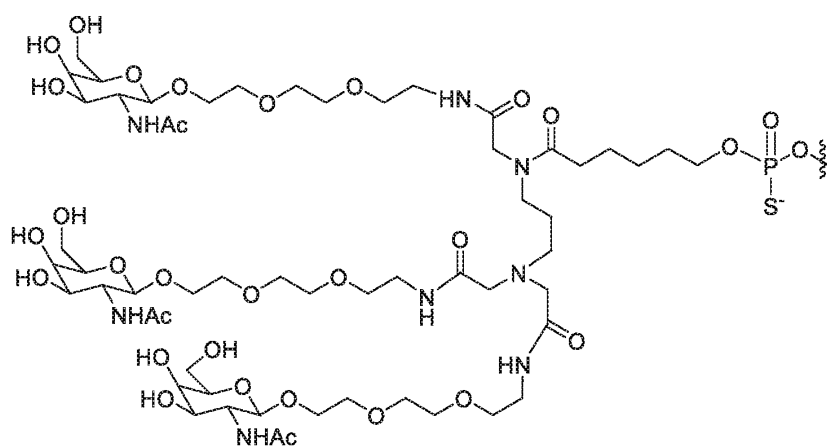
GLO-3



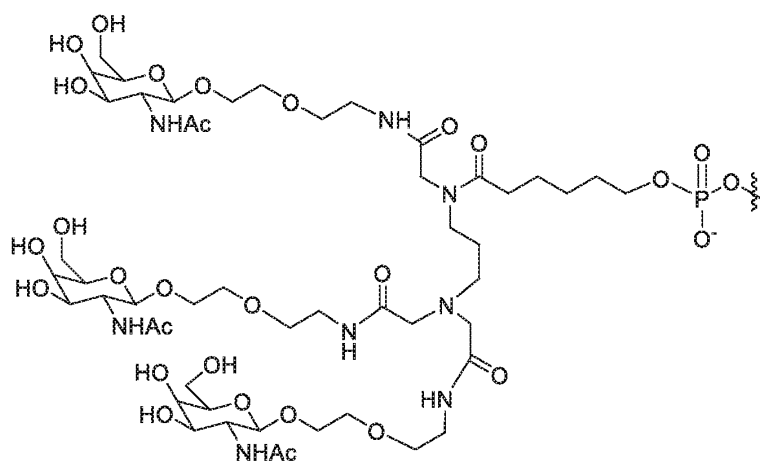
GLS-3



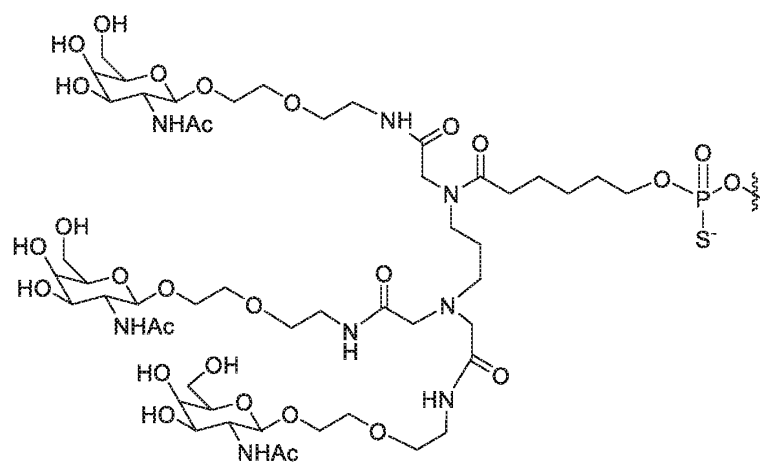
GLO-4



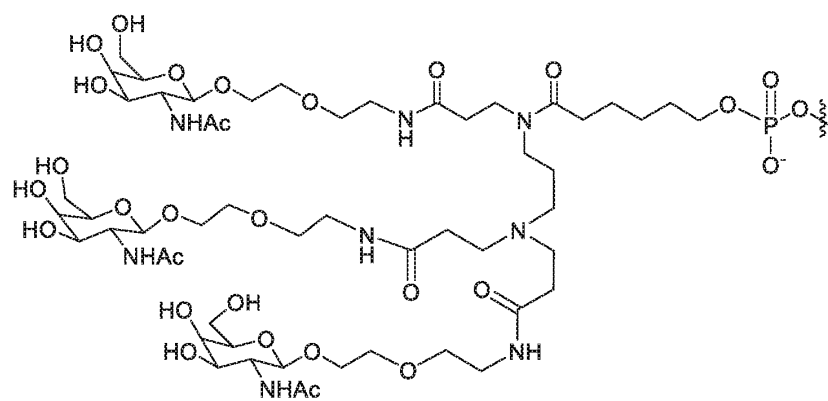
GLS-4



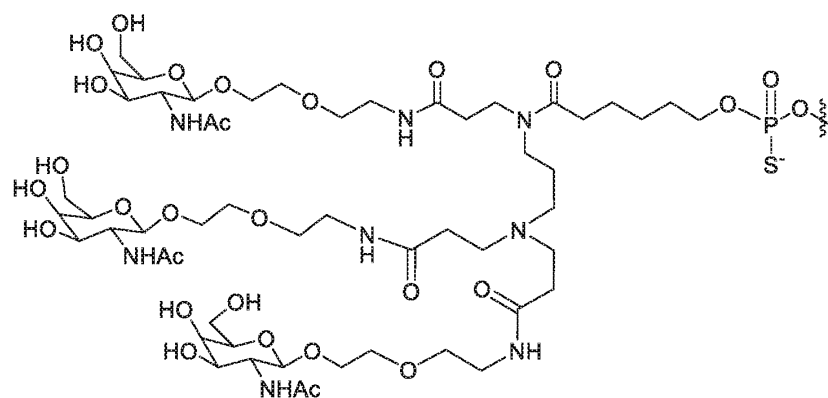
GLO-5



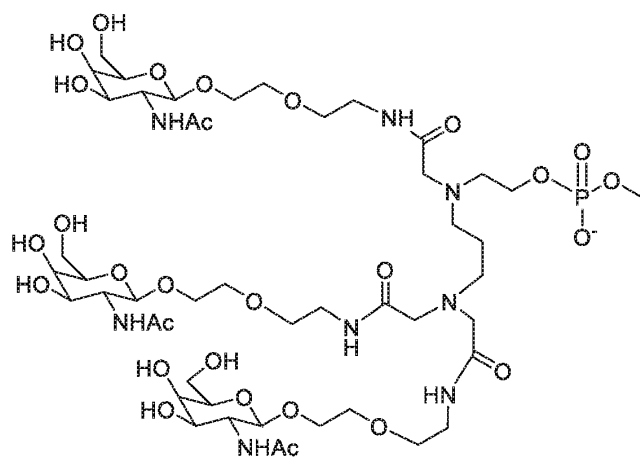
GLS-5



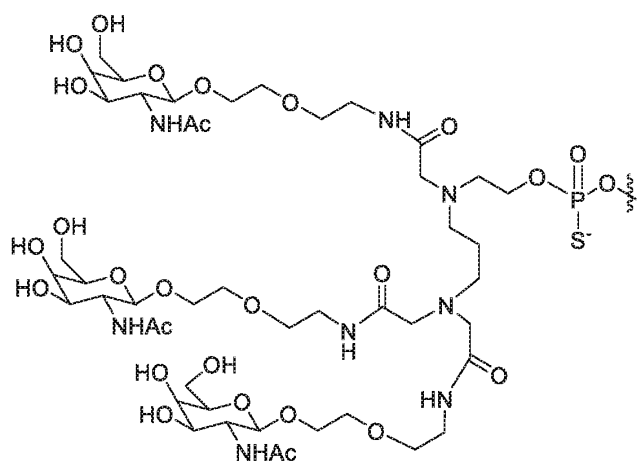
GLO-6



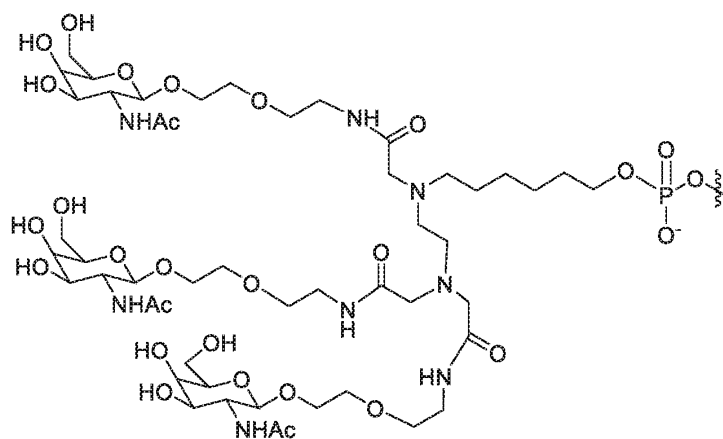
GLS-6



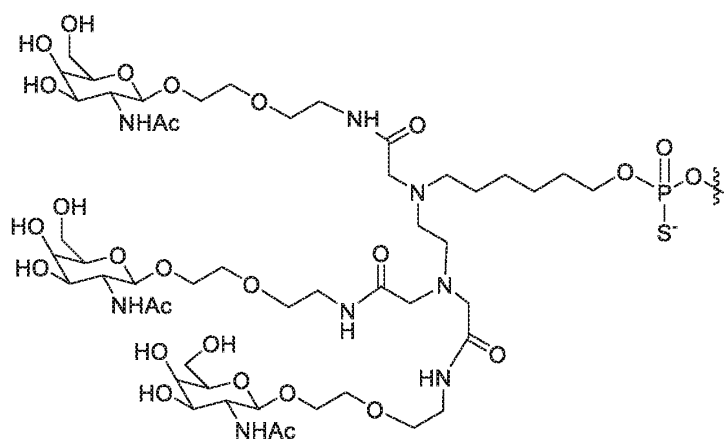
GLO-7



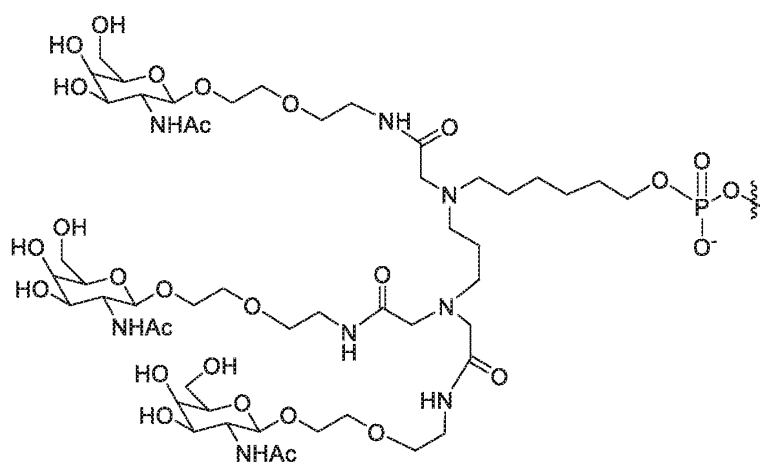
GLS-7



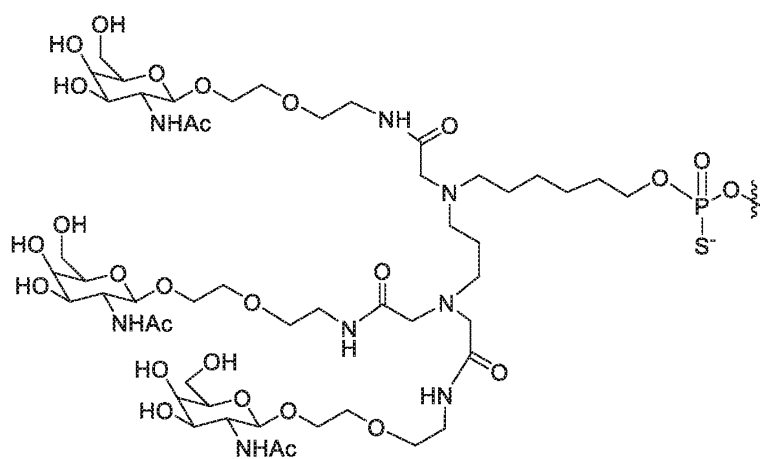
GLO-8



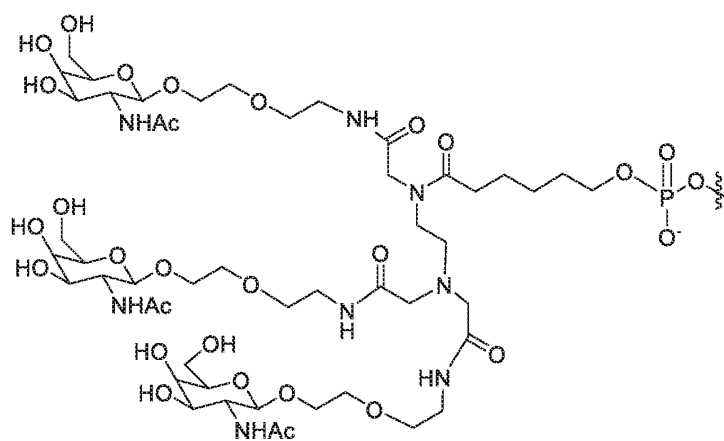
GLS-8



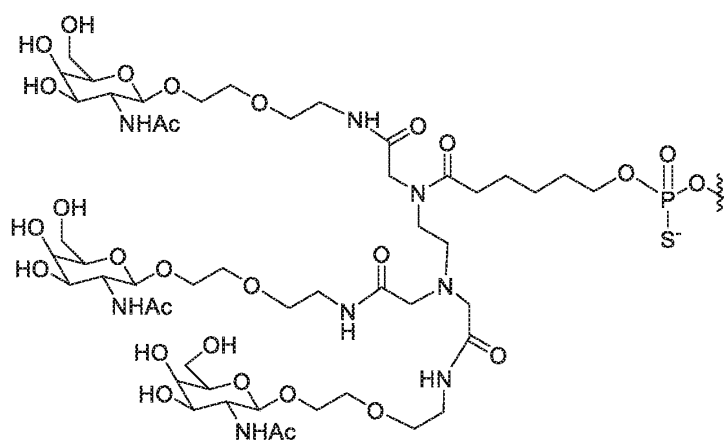
GLO-9



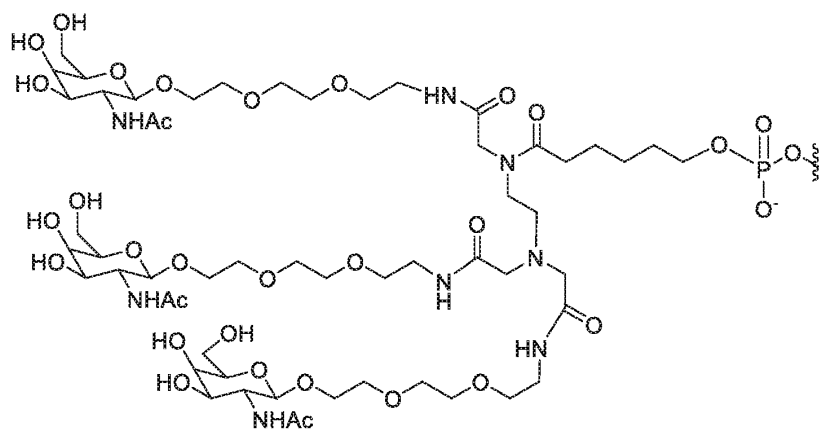
GLS-9



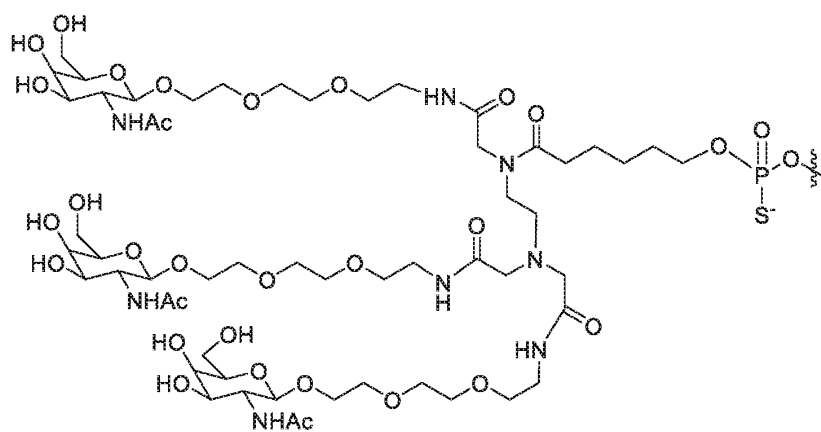
GLO-10



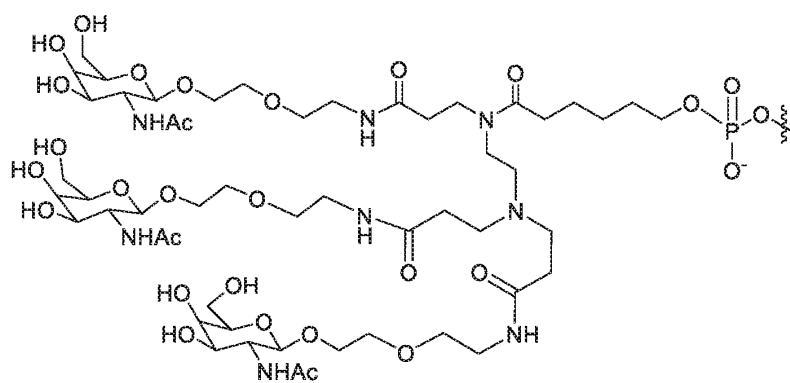
GLS-10



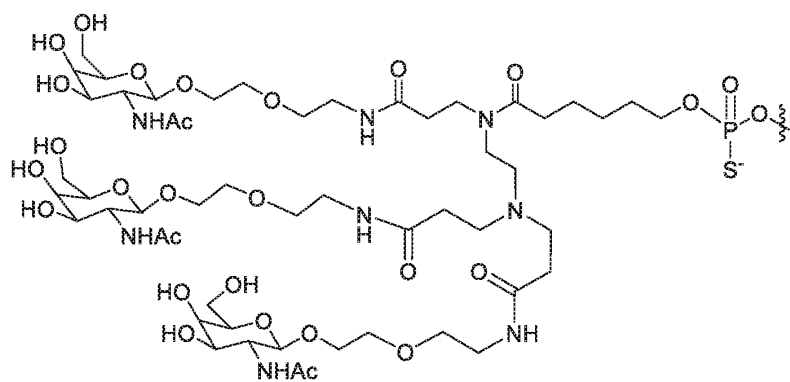
GLO-11



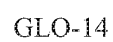
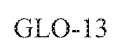
GLS-11

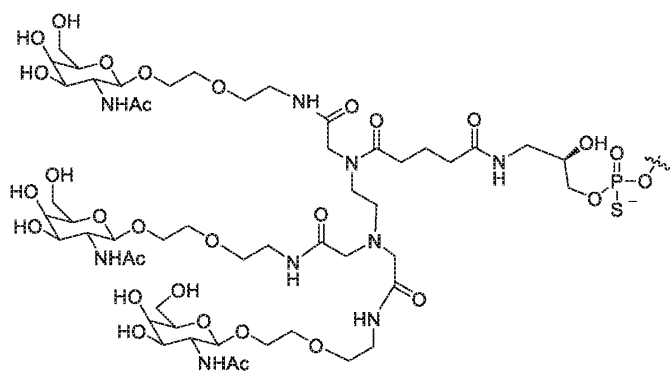


GLO-12

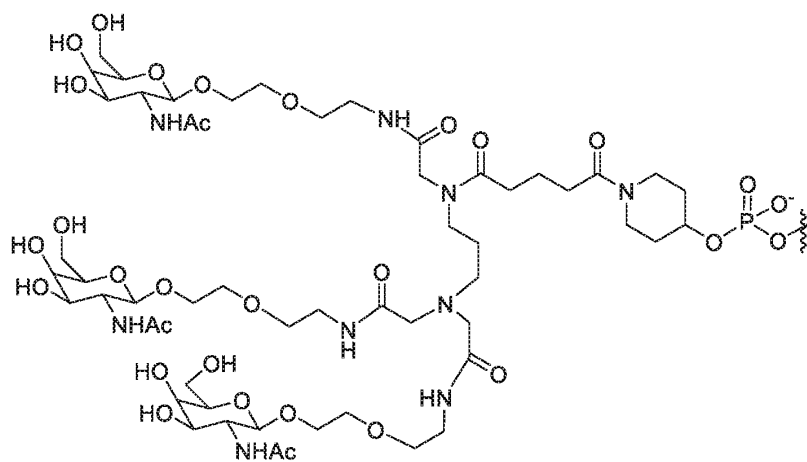


GLS-12

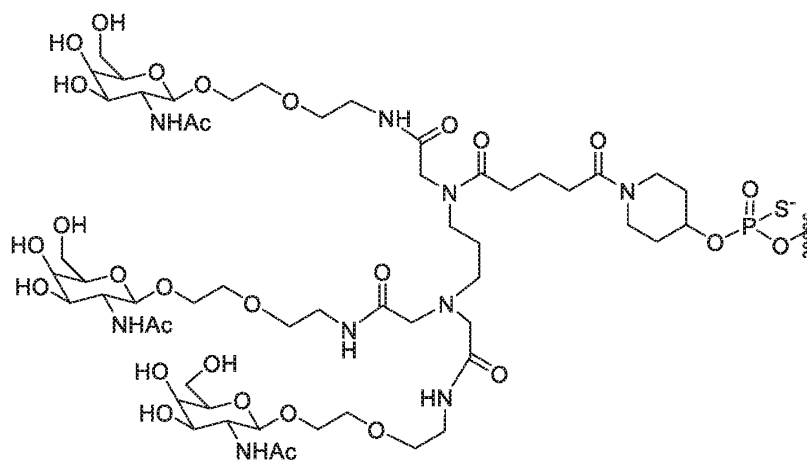




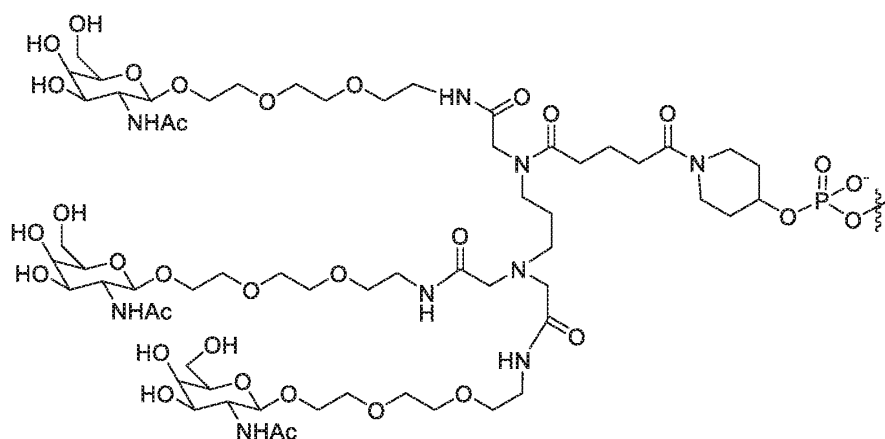
GLS-14



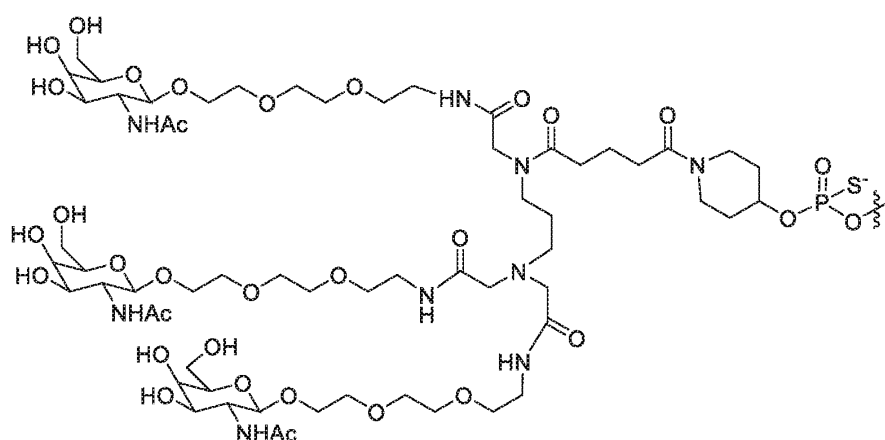
GLO-15



GLS-15



GLO-16



GLS-16。

在本发明的一些实施方案中，体内递送也可以通过 β -葡聚糖递送系统，例如美国专利 No. 5,032,401 和 5,607,677，以及美国公布 No. 2005/0281781 中描述的那些，它们的全部内容通过引用并入本文。也可以使用本领域已知的方法例如电穿孔和脂质转染将 AGT RNAi 试剂体外引入细胞。在本发明方法的某些实施方案中，AGT dsRNA 在没有靶向剂的情况下被递送。这些 RNA 可以作为“裸”RNA 分子递送。作为非限制性实例，本发明的 AGT dsRNA 可以在包含 RNAi 试剂但不包含靶向剂（例如 GalNAc 靶向化合物）的药物组合物中施用于对象，以治疗对象的 AGT 相关疾病或病症，例如高血压。

应当理解，除了本文描述的某些递送方式之外，其他 RNAi 递送方式可以与本文描述的 AGT RNAi 试剂和治疗方法的实施方案结合使用，例如但不限于本文描述的那些和本领域中使用的那些。

本发明的 AGT dsRNA 试剂可以有效降低细胞和/或对象中 AGT 多肽的水平和活性的量和方式施用于对象。在本发明方法的一些实施方案中，将一种或更多种 AGT dsRNA 试剂施用于细胞和/或对象以治疗与 AGT 表达和活性相关的疾病或病症。在一些

实施方案中，本发明的方法包括向需要此类治疗的对象施用一种或更多种 AGT dsRNA 试剂以减轻对象中与 AGT 表达相关的疾病或病症。可以施用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂以降低体外、离体和体内细胞中的一种或更多种中的 AGT 表达和/或活性。

在本发明的一些实施方案中，通过将 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂递送（例如引入）细胞中来降低细胞中 AGT 多肽的水平并因此降低其活性。靶向剂和方法可用于帮助将 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂递送至对象内的特定细胞类型、细胞亚型、器官、空间区域，和/或细胞内的亚细胞区域。AGT dsRNA 试剂可以在本发明的某些方法中单独地或与一种或更多种另外的 AGT dsRNA 试剂组合施用。在一些实施方案中，向对象施用 2、3、4 或更多种独立选择的 AGT dsRNA 试剂。在本发明的某些实施方案中，将 AGT dsRNA 试剂与一种或更多种用于治疗 AGT 相关疾病或病症的另外的治疗方案联合施用于对象以治疗 AGT 相关疾病或病症。另外的治疗方案的非限制性实例是：施用一种或更多种本发明的 AGT 反义多核苷酸、施用非 AGT dsRNA 治疗剂和行为改变。可以在以下一个或更多个时间施用另外的治疗方案：在施用本发明的 AGT dsRNA 试剂之前、同时和之后。应当理解，本文所用的“同时”是指在零时间的 5 分钟内、零时间的 10 分钟内、零时间的 30 分钟内、零时间的 45 分钟和零时间的 60 分钟内，其中“零时间”是向对象施用本发明的 AGT dsRNA 试剂的时间。非 AGT dsRNA 治疗剂的非限制性实例是：另外的治疗剂，如利尿剂、血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、 β -阻滞剂、血管扩张剂、钙通道阻滞剂、醛固酮拮抗剂、 α 2-激动剂、肾素抑制剂、 α -阻滞剂、外周作用肾上腺素能剂、选择性 D1 受体部分激动剂、非选择性 α -肾上腺素能拮抗剂、合成的、甾体抗盐皮质激素剂，或上述任何的组合，及配制成药剂组合的高血压治疗剂。行为改变的非限制性实例是：饮食方案、咨询和锻炼方案。这些和其他治疗剂以及行为改变是本领域已知的，并且可用于治疗对象的 AGT 疾病或病症，并且还可以与一种或更多种本发明的 AGT dsRNA 试剂组合，向对象给药以治疗 AGT 疾病或病症。向细胞或对象施用以治疗 AGT 相关疾病或病症的本发明的 AGT dsRNA 试剂可以与一种或更多种其他治疗剂或活性成分以协同方式起作用，从而增加一种或更多种治疗剂或活性成分的有效性和/或增加 AGT dsRNA 试剂治疗 AGT 相关疾病或病症的有效性。

本发明的治疗方法包括施用 AGT dsRNA 试剂，可在 AGT 相关疾病或病症发作之前和/或当存在 AGT 相关疾病或病症时使用，包括在疾病或病症的早期、中期、晚期阶段以及任何这些阶段之前和之后的所有时间使用。本发明的方法还可以治疗先前已经接受过一种或更多种其他治疗剂和/或治疗活性成分的 AGT 相关疾病或病症治疗的对象，

其中一种或更多种其他治疗剂和/或治疗活性成分在治疗对象的 AGT 相关疾病或病症方面不成功、成功性最小和/或不再成功。

载体编码的 dsRNA

在本发明的某些实施方案中，可以使用载体将 AGT dsRNA 试剂递送到细胞中。AGT dsRNA 试剂转录单位可包含在 DNA 或 RNA 载体中。用于将序列递送到细胞和/或对象中的此类编码转基因的载体的制备和使用是本领域公知的。可在本发明的方法中使用导致 AGT dsRNA 瞬时表达的载体，瞬时表达例如至少 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 小时或更多小时、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 周或更多周。瞬时表达的长度可以使用基于以下要素的常规方法确定：例如但不限于所选的特定载体构建体和靶细胞和/或组织。此类转基因可作为线性构建体、环状质粒或病毒载体引入，其可为整合或非整合载体。也可以构建转基因以使其作为染色体外质粒遗传（Gassmann, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995) 92:1292）。

AGT dsRNA 试剂的一条或更多条单链可以从表达载体上的启动子转录。在要表达两条单独的链以产生例如 dsRNA 的情况下，可以使用例如转染或感染的方式将两个单独的表达载体共同引入细胞。在某些实施方案中，本发明的 AGT dsRNA 试剂的每条单独链都可以被包含在同一表达载体上的启动子转录。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂被表达为通过接头多核苷酸序列连接的反向重复多核苷酸，使得 AGT dsRNA 试剂具有茎环结构。

RNA 表达载体的非限制性实例是 DNA 质粒或病毒载体。在本发明的实施方案中有用的表达载体可以与真核细胞相容。真核细胞表达载体在本领域是常规使用的，并且可从许多商业来源获得。AGT dsRNA 表达载体的递送可以是全身性的，例如通过静脉内或肌肉内给药、通过给药至从对象移出的靶细胞然后将靶细胞重新引入对象，或通过允许引入所需靶细胞的任何其他方式来进行。

可包括在该方法的实施方案中的病毒载体系统包括但不限于：(a)腺病毒载体；(b)逆转录病毒载体，包括但不限于慢病毒载体、莫洛尼鼠白血病病毒等；(c)腺相关病毒载体；(d)单纯疱疹病毒载体；(e)SV 40 载体；(f)多瘤病毒载体；(g)乳头状瘤病毒载体；(h)小核糖核酸病毒载体；(i)痘病毒载体，例如正痘病毒载体，例如痘苗病毒载体或禽痘病毒载体，例如金丝雀痘或家禽痘病毒载体；(j)辅助依赖型或无肠腺病毒载体。用于重组表达 AGT dsRNA 试剂的构建体可以包含调节元件，例如启动子、增强子等，它们可以被选择以提供组成型或调节型/诱导型表达。病毒载体系统以及启动子和增强

子的使用等在本领域是常规的并且可以与本文所述的方法和组合物结合使用。

本发明的某些实施方案包括使用病毒载体将 AGT dsRNA 试剂递送到细胞中。许多基于腺病毒的递送系统在本领域中常规用于递送至例如肺、肝、中枢神经系统、内皮细胞和肌肉。可用于本发明方法的病毒载体的非限制性实例是：AAV 载体、痘病毒如痘苗病毒、改良安卡拉病毒（MVA）、NYVAC、禽痘如禽痘或金丝雀痘病毒。

本发明的某些实施方案包括使用载体将 AGT dsRNA 试剂递送到细胞中的方法，并且此类载体可以在药学上可接受的载体中，所述载体可以但不必包括其中嵌入基因递送载体的缓释基质。在一些实施方案中，用于递送 AGT dsRNA 的载体可以由重组细胞产生，并且本发明的药物组合物可以包括一种或更多种产生 AGT dsRNA 递送系统的细胞。

含有 AGT dsRNA 或 ssRNA 试剂的药物组合物

本发明的某些实施方案包括含有 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂和药学上可接受的载体的药物组合物的用途。包含 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的药物组合物可用于本发明的方法中以降低细胞中的 AGT 基因表达和 AGT 活性，并可用于治疗 AGT 相关疾病或病症。此类药物组合物可以基于递送方式来配制。用于递送方式的制剂的非限制性实例是：配制用于皮下递送的组合物、配制用于通过肠胃外递送全身给药的组合物、配制用于静脉内（IV）递送的组合物、配制用于鞘内递送的组合物、配制用于直接递送至脑中的组合物等。可以使用一种或更多种方式施用本发明的药物组合物以将 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂递送到细胞中，例如：表面（例如，通过透皮贴剂）；肺部，例如通过吸入或吹入粉末或气雾剂，包括通过雾化器；气道内、鼻内、表皮和透皮、口服或肠胃外。肠胃外给药包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注；表皮下，例如通过植入装置；或颅内，例如通过实质内；鞘内或心室内施用。AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂也可以直接递送至靶组织，例如直接递送至肝脏、直接递送至肾脏等。可以理解的是，“递送 AGT dsRNA 试剂”或“递送 AGT 反义多核苷酸试剂”到细胞中分别包括递送 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂、直接在细胞中表达 AGT dsRNA 试剂以及从递送到细胞中的编码载体表达 AGT dsRNA 试剂，或使得 AGT dsRNA 或 AGT 反义多核苷酸试剂出现在细胞中的任何合适的方式。制剂的制备和使用以及用于递送抑制性 RNA 的手段是本领域公知的和常规使用的。

如本文所用，“药物组合物”包含药理学有效量的本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂和药学上可接受的载体。术语“药学上可接受的载体”是指用于施用

治疗剂的载体。此类载体包括但不限于盐水、缓冲盐水、葡萄糖、水、甘油、乙醇及其组合。该术语明确排除细胞培养基。对于口服给药的药物，药学上可接受的载体包括但不限于药学上可接受的赋形剂，例如惰性稀释剂、崩解剂、黏合剂、润滑剂、甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂。合适的惰性稀释剂包括碳酸钠和碳酸钙、磷酸钠和磷酸钙以及乳糖，而玉米淀粉和藻酸是合适的崩解剂。黏合剂可包括淀粉和明胶，而润滑剂（如果存在）通常是硬脂酸镁、硬脂酸或滑石粉。如果需要，片剂可以用例如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯之类的材料包衣，以延迟在胃肠道中的吸收。包含在药物制剂中的试剂在下文进一步描述。如本文所用的术语，例如“药理学有效量”、“治疗有效量”和“有效量”，是指本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂产生预期的药理学、治疗或预防结果的量。例如，如果与疾病或障碍相关的可测量参数至少降低 10% 时，则认为给定的临床治疗有效，那么用于治疗该疾病或病症的药物的治疗有效量是使该参数降低至少 10% 所需的量。例如，治疗有效量的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以将 AGT 多肽水平降低至少 10%。药物组合物可以包含这样的 dsRNAi 试剂，其包括例如表 1 中所显示的双链体 AD00051 至 AD00122-19-2、AD00163-3、AV01227 至 AVAV01257、AV01711。在一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如双链体 AD00158、AD00163、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122。在另一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如 AD00158-1、AD00158-2、AD00163-1、AD00159-1 或 AD00300-1。在其他一些实施方案中，这样的 dsRNAi 试剂包括双链体变体，例如双链体 AD00158、AD00163、AD00163-3、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122 的变体。

有效量

在一些方面，本发明的方法包括将细胞与有效量的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂接触以减少所接触细胞中的 AGT 基因表达。本发明方法的某些实施方案包括以有效降低 AGT 基因表达和治疗对象的 AGT 相关疾病或病症的量向对象施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂。就减少 AGT 的表达和/或用于治疗 AGT 相关疾病或病症而言，所使用的“有效量”是实现所需生物学效果所必需或足够的量。例如，治疗 AGT 相关疾病或病症的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量可以是：(i) 减缓或停止疾病或病症的进展所需的量；(ii) 逆转、减少或消除疾病或病症的一种或更多种症状。在本发明的一些方面，有效量是当施用于需要治疗 AGT 相关疾病或病症的对象时，导致疾病或病症的预防和/或治疗的治疗响应的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的量。根据本发明的一些方面，有效量是本发明的 AGT dsRNA 试

剂或 AGT 反义多核苷酸试剂当与针对 AGT 相关疾病或病症的另一种治疗性治疗组合或共同施用，导致预防和/或治疗该疾病或病症的治疗响应的量。在本发明的一些实施方案中，用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂治疗对象的生物学效应可以是由 AGT 相关疾病或病症引起的症状的改善和/或完全消除。在本发明的一些实施方案中，生物学效应是 AGT 相关疾病或病症的完全消除，例如通过指示对象没有 AGT 相关疾病或病症的诊断测试来证明。可检测的生理症状的非限制性实例包括在施用本发明的试剂后对象肝脏中脂质积累的减少。其他评估 AGT 相关疾病或病症状态的本领域已知方式可用于确定本发明的试剂和/或方法对 AGT 相关疾病或病症的影响。

通常在临床试验中确定将 AGT 多肽活性降低至治疗 AGT 相关疾病或病症的水平。AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量，这样的临床试验在盲法研究中为测试人群与对照人群建立有效剂量。在一些实施方案中，有效量是导致所需响应的量，例如减少细胞、组织和/或患有疾病或病症的对象中的 AGT 相关疾病或病症的量。因此，用于治疗可通过降低 AGT 多肽活性治疗的 AGT 相关疾病或病症的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量可以是这样的量：当施用，将对象中 AGT 多肽活性的量降低至低于在未施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的情况下将存在于细胞、组织和/或对象中的量。在本发明的某些方面，存在于未接触或施用过本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的细胞、组织和/或对象中的 AGT 多肽活性和/或 AGT 基因表达的水平被称为“对照”量。在本发明方法的一些实施方案中，对象的对照量是对象的治疗前量；换言之，对象在施用 AGT 试剂之前的水平可以是该对象的对照水平，并且用于与其在向对象施用 siRNA 后的 AGT 多肽活性和/或 AGT 基因表达水平相比较。在治疗 AGT 相关疾病或病症的情况下，期望的响应可以是减少或消除细胞、组织和/或对象中疾病或病症的一种或更多种症状。减少或消除可以是暂时的，也可以是永久性的。应当理解，可以使用确定 AGT 多肽活性、AGT 基因表达、症状评估、临床测试等的方法来监测 AGT 相关疾病或病症的状态。在本发明的一些方面，对治疗 AGT 相关疾病或病症的期望响应是延迟疾病或病症的发作或甚至预防疾病或病症的发作。

降低 AGT 多肽活性的化合物的有效量也可以通过以下方式确定：评估施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂对细胞或对象的生理作用，例如施用后 AGT 相关疾病或病症的减少。对象的测定和/或症状监测可用于确定本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的功效（其可以在本发明的药物化合物中给药），并确定对治疗是否有响应。一个非限制性实例是一种或更多种本领域已知的血压测试。另一个非限制性示例是：在用本发明的 AGT dsRNA 试剂治疗对象之前和之后，可以使用一种或更

多种本领域已知的血压测试来确定对象的 AGT 相关病症的状态。在另一个非限制性实例中，使用一种或更多种本领域已知的中降低血压水平测试来确定对象中 AGT 相关疾病的状态。在该实施例，疾病包括高血压，并且该测试用于确定在用本发明的 AGT dsRNA 试剂治疗对象之前和之后对象中的降低血压水平。

本发明的一些实施方案包括确定向对象施用的本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂来治疗 AGT 相关疾病或病症之功效的方法，其通过评估和/或监测对象中 AGT 相关疾病或病症的一种或更多种“生理特征”来进行。AGT 相关疾病或病症的生理特征的非限制性实例是对象的血清 AGT 水平、平均血压、舒张压。确定这种生理特征的标准方法是本领域已知的，包括但不限于血液测试、成像研究、身体检查等。

可以理解的是，可以至少部分地基于这种对对象确定的疾病和/或病症状态和/或生理特征的测定结果来修改向对象施用的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的量。治疗量可以通过例如以下方式改变：通过改变施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的组合物、通过改变给药途径、通过改变给药时间等，来增加或减少 AGT-dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的量。AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量将随着所治疗的特定病症、所治疗对象的年龄和身体状况、病情的严重程度、治疗的持续时间、共同治疗的性质（如果有的话）、具体的给药途径以及健康从业者知识和专业知识范围内的其他因素而变化。例如，有效量可取决于对治疗 AGT 相关疾病或病症有效的 AGT 多肽活性和/或 AGT 基因表达的所需水平。技术人员可以凭经验确定用于本发明方法的特定 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量，而无需过度实验。结合本文提供的教导，通过从本发明的多种 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂中进行选择，并权衡例如效力、相对生物利用度、患者体重、不良副作用的严重程度和优选的给药方式等因素，可以规划有效的预防性或治疗性治疗方案以有效治疗特定对象。如在本发明的实施方案中使用的，本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的有效量可以是当与细胞接触时在细胞中产生所需生物学效应的量。

应当认识到，AGT 基因沉默可以在表达 AGT 的任何细胞中通过组成型或通过基因组工程进行，并通过任何合适的测定来确定。在本发明的一些实施方案中，通过施用本发明的 AGT dsRNA 试剂，AGT 基因表达降低至少 5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或 100%。在本发明的一些实施方案中，通过施用本发明的 AGT dsRNA 试剂，AGT 基因表达减少 5%至 10%、5%至 25%、10%至 50%、10%至 75%、25%至 75%、25%至 100%或 50%至 100%。

给药

AGT dsRNA 试剂和 AGT 反义多核苷酸试剂以足以抑制 AGT 基因表达的剂量在药物组合物中递送。在本发明的某些实施方案中，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的剂量为每千克接受者体重每天 0.01 至 200.0 毫克，一般为每天 1 至 50mg/kg 体重、5 至 40mg/kg 体重、10 至 30mg/kg 体重、1 至 20mg/kg 体重、1 至 10mg/kg 体重、4 至 15mg/kg 体重，包括端值。例如，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的每单次给药可以以从约 0.01 mg/kg、0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.3 mg/kg、0.4 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、1.1 mg/kg、1.2 mg/kg、1.3 mg/kg、1.4 mg/kg、1.5 mg/kg、1.6 mg/kg、1.7 mg/kg、1.8 mg/kg、1.9 mg/kg、2 mg/kg、2.1 mg/kg、2.2 mg/kg、2.3 mg/kg、2.4 mg/kg、2.5 mg/kg、2.6 mg/kg、2.7 mg/kg、2.8 mg/kg、2.9 mg/kg、3.0 mg/kg、3.1 mg/kg、3.2 mg/kg、3.3 mg/kg、3.4 mg/kg、3.5 mg/kg、3.6 mg/kg、3.7 mg/kg、3.8 mg/kg、3.9 mg/kg、4 mg/kg、4.1 mg/kg、4.2 mg/kg、4.3 mg/kg、4.4 mg/kg、4.5 mg/kg、4.6 mg/kg、4.7 mg/kg、4.8 mg/kg、4.9 mg/kg、5 mg/kg、5.1 mg/kg、5.2 mg/kg、5.3 mg/kg、5.4 mg/kg、5.5 mg/kg、5.6 mg/kg、5.7 mg/kg、5.8 mg/kg、5.9 mg/kg、6 mg/kg、6.1 mg/kg、6.2 mg/kg、6.3 mg/kg、6.4 mg/kg、6.5 mg/kg、6.6 mg/kg、6.7 mg/kg、6.8 mg/kg、6.9 mg/kg、7 mg/kg、7.1 mg/kg、7.2 mg/kg、7.3 mg/kg、7.4 mg/kg、7.5 mg/kg、7.6 mg/kg、7.7 mg/kg、7.8 mg/kg、7.9 mg/kg、8 mg/kg、8.1 mg/kg、8.2 mg/kg、8.3 mg/kg、8.4 mg/kg、8.5 mg/kg、8.6 mg/kg、8.7 mg/kg、8.8 mg/kg、8.9 mg/kg、9 mg/kg、9.1 mg/kg、9.2 mg/kg、9.3 mg/kg、9.4 mg/kg、9.5 mg/kg、9.6 mg/kg、9.7 mg/kg、9.8 mg/kg、9.9 mg/kg、10 mg/kg、11 mg/kg、12 mg/kg、13mg/kg、14 mg/kg、15 mg/kg、16 mg/kg、17 mg/kg、18 mg/kg、19 mg/kg、20 mg/kg、21 mg/kg、22 mg/kg、23mg/kg、24 mg/kg、25 mg/kg、26 mg/kg、27 mg/kg、28 mg/kg、29 mg/kg、30 mg/kg、31 mg/kg、32 mg/kg、33mg/kg、34 mg/kg、35 mg/kg、36 mg/kg、37 mg/kg、38 mg/kg、39 mg/kg、40 mg/kg、41 mg/kg、42 mg/kg、43mg/kg、44 mg/kg、45 mg/kg、46 mg/kg、47 mg/kg、48 mg/kg、49 mg/kg 至 50 mg/kg 体重的量来施用。

在确定本发明的 AGT dsRNA 试剂的递送剂量和时间时可以考虑多种因素。递送的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的绝对量将取决于多种因素，包括共同治疗、剂量数和个体对象参数，包括年龄、身体状况、体格大小和体重。这些是本领域普通技术人员众所周知的因素，并且可以通过常规实验解决。在一些实施方案中，可以使用最大剂量，即根据合理的医学判断的最高安全剂量。

在一些实施方案中，本发明的方法可包括向对象施用 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个剂量的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。在一些情况下，可以至少每天、每隔一天、每周、每隔一周、每月等向对象施用药物化合物（例如，包含 AGT dsRNA 试剂或包含 AGT 反义多核苷酸剂）的剂量，可以每天给药一次或每天给药多于一次，例如在一个 24 小时周期内给药 2、3、4、5 或更多次。本发明的药物组合物可以每天给药一次；或者 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂可以在一天中以适当的间隔以两个、三个或更多个亚剂量给药，或者甚至使用连续输注或通过控释制剂递送。在本发明方法的一些实施方案中，将本发明的药物组合物每天一次或更多次、每周一次或更多次、每月一次或更多次或每年一次或更多次施用给对象。

在某些方面，本发明的方法包括单独施用药物化合物；与一种或更多种其他 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂组合；和/或与对患有 AGT 相关疾病或病症的对象施用的其他药物治疗或治疗活动或方案组合。药物化合物可以以药物组合物的形式给药。本发明方法中使用的药物组合物可以是无菌的，并且含有一定量的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂，其会将 AGT 多肽的活性降低到足以在适合施用于对象的重量或体积单位中产生所需响应的水平。可以根据不同参数选择向对象施用的包含 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂药物组合物的剂量以降低 AGT 蛋白活性，特别是根据所使用的给药方式和对象的状态来进行选择。其他因素包括所需的治疗时间。如果对象在初始剂量下的响应不足，则可以在患者耐受性允许的范围内采用更高的剂量（或通过不同的、更局部的递送途径有效地提高剂量）。

治疗

如本文所用的，术语“预防”或“进行预防”，当用于指将受益于 AGT 基因表达降低的疾病、病症或其病况时，是指对象发生与此类疾病、病症或病况相关的症状的可能性降低，所述与此类疾病、病症或病况相关的症状是例如与由肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS）活化引起或与之相关的疾病或病症相关的症状，例如高血压。在这样的情况下发生高血压的可能性被降低：例如，当个体具有一种或更多种高血压风险因素，但未发生高血压或仅发生严重程度较低的高血压的情况下，其相对于具有相同风险因素且未接受本文所述治疗的人群而言，未能发展出相关疾病、病症或病症，或与此类疾病、病症或病症相关的症状的发展程度降低（例如，在临床上患有该疾病或病症的量表上降低至少约 10%），或延迟症状的表现（例如，延迟数天、数周、数月或数年），则被认为是有效的预防。

基于在两次或更多次就诊期间正确测量的坐位血压读数的平均值，血压正常的对象的收缩压为约 90-119 mmHg（约 12-15.9 kPa（kN/m²）），舒张压为约 60-79 mmHg（约 8.0-10.5 kPa（kN/m²））；患有高血压前期的对象的收缩压为约 120-139 mmHg（约 16.1-18.5 kPa（kN/m²）），舒张压为约 60-79 mmHg（约 8.0-10.5 kPa（kN/m²））；患有高血压（例如，I 期高血压）的对象的收缩压为约 140-159 mmHg（约 18.7-21.2 kPa（kN/m²）），舒张压为约 90-99 mmHg（约 12.0-13.2 kPa（kN/m²））；患有高血压（例如，II 期高血压）的对象的收缩压为约 ≥ 160 mmHg（约 ≥ 21.3 kPa（kN/m²）），舒张压为约 ≥ 100 mmHg（约 ≥ 13.3 kPa（kN/m²））。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是原发性高血压。“原发性高血压”是环境或遗传因素的结果（例如，没有明显的潜在医学原因的结果）。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是继发性高血压。“继发性高血压”具有可识别的潜在病状，其可以有多种病因，包括肾脏、血管和内分泌原因，例如，肾实质疾病（例如，多囊肾、肾小球或间质疾病）、肾血管疾病（例如，肾动脉狭窄、纤维肌肉发育不良）、内分泌失调（例如，肾上腺皮质激素或盐皮质激素过多、嗜铬细胞瘤、甲状腺功能亢进或甲状腺功能减退、生长激素过量、甲状旁腺功能亢进）、主动脉缩窄或使用口服避孕药。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是高血压急症，例如恶性高血压和加速性高血压。“加速性高血压”是指血压严重升高（即等于或高于 180 mmHg 的收缩压或 110 mmHg 的舒张压）并伴有一个或更多个终末器官的直接损伤。必须立即降低血压以防止进一步的器官损伤。“恶性高血压”是指血压严重升高（即等于或高于 180 mmHg 的收缩压或 110 mmHg 的舒张压）并伴有一个或更多个终末器官直接损伤和视神经乳头水肿。必须立即降低血压以防止进一步的器官损伤。由于血压不受控制而导致的神经终末器官损伤可包括高血压脑病、脑血管意外/脑梗塞；蛛网膜下腔出血和/或颅内出血。心血管终末器官损伤可包括心肌缺血/梗塞、急性左心室功能障碍、急性肺水肿和/或主动脉夹层。其他器官系统也可能受到不受控制的高血压的影响，这可导致急性肾功能衰竭/功能不全、视网膜病变、子痫或微血管病性溶血性贫血。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是急性高血压。“急性高血压”是指血压严重升高（即等于或高于 180 mmHg 的收缩压或 110 mmHg 的舒张压）且对一个或更多个器官没有直接损伤。血压可在数小时内安全降低。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是妊娠相关高血压，例如妊娠慢性高血压、妊娠高血压、先兆子痫、子痫、叠加在慢性高血压上的先兆子痫、HELLP 综合

征，和妊娠高血压（也称为妊娠期短暂性高血压、妊娠后半期发现的慢性高血压和妊娠诱发的高血压（PIH））。患有“妊娠慢性高血压”的对象是在怀孕前或怀孕 20 周前血压超过 140/90 mm Hg 的对象。“妊娠期高血压”或“妊娠诱导的高血压”是指在妊娠后期（>20 周妊娠）发病的高血压，其没有任何先兆子痫的其他特征，产后血压恢复正常。“轻度子痫前期”定义为在妊娠 20 周前血压正常的女性中，在至少相隔六小时的情况下，出现两次高血压（血压 $\geq$ 140/90 mm Hg），但没有终末器官损伤的证据。在先前患有原发性高血压的对象中，如果收缩压增加 30 毫米汞柱或舒张压增加 15 毫米汞柱，则诊断为先兆子痫。“重度子痫前期”被定义为在子痫前期出现以下症状或体征之一：两次至少间隔 6 小时出现收缩压为 160 毫米汞柱或更高、或舒张压为 110 毫米汞柱或更高；24 小时收集的蛋白尿超过 5 g 或至少间隔 4 小时收集的两次随机尿样超过 3+、肺水肿或紫绀、少尿（24 小时内 $<$ 400 mL）、持续性头痛、上腹痛和/或肝功能受损、血小板减少症、羊水过少、胎儿生长减慢或胎盘早剥。“子痫”被定义为不能归因于先兆子痫女性的其他原因的癫痫发作。“HELLP 综合征”（也称为 B 型水肿-蛋白尿-高血压妊娠中毒症）是指妊娠对象中的溶血、肝酶水平升高和血小板水平降低。

在某些实施方案中，血管紧张素原相关疾病是顽固性高血压。“顽固性高血压”是指尽管同时使用三种不同类别的抗高血压药物，且其中一种是噻嗪类利尿剂，但血压仍高于目标值（例如 140/90 mmHg）。用四种或更多药物控制血压的对象也被认为患有顽固性高血压。

对于 AGT 相关疾病和病症，其中 AGT 多肽的水平和/或活性的降低可有效治疗该疾病或病症，可以使用本发明的方法和 AGT dsRNA 试剂来治疗以抑制 AGT 表达。可以用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂和本发明的治疗方法治疗的疾病和病症的实例包括但不限于：高血压病、高血压、临界性高血压、原发性高血压、继发性高血压、孤立性收缩期或舒张期高血压、妊娠相关高血压、糖尿病性高血压、顽固性高血压、难治性高血压、阵发性高血压、肾血管性高血压、戈德布拉特氏（Goldblatt）高血压、眼高血压、青光眼、肺高血压、门脉高血压、系统性静脉高血压、收缩期高血压、不稳定性高血压；高血压性心脏病、高血压性肾病变、动脉粥样硬化、动脉硬化、血管病变、糖尿病性肾病变、糖尿病性视网膜病变、慢性心力衰竭、心肌病变、糖尿病性心肌病变、肾小球硬化症、主动脉狭窄、主动脉瘤、心室纤维化、心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病、肾衰竭、系统性硬化症、宫内发育迟缓（IUGR）、胎儿生长受限。此类疾病和病症在本文中可称为“AGT 相关疾病和病症”和“由 AGT 引起和/或调节的疾病和病症”。

在本发明的某些方面，可以在诊断 AGT 相关疾病或病症之前或之后的一个或更

多个时间向对象施用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。在本发明的一些方面，对象处于患有或发展 AGT 相关疾病或病症的风险中。与发展 AGT 相关疾病或病症的对照风险相比，有发展 AGT 相关疾病或病症风险的对象是发展 AGT 相关疾病或病症的可能性提高的对象。在本发明的一些实施方案中，与风险的对照水平相比，风险水平在统计上是显著的。有风险的对象可包括，例如：是或将是具有预先存在的疾病和/或遗传异常的对象，其使得该对象比没有预先存在的疾病或遗传异常的对照对象更易患 AGT 相关疾病或病症；具有 AGT 相关疾病或病症的家族和/或个人病史的对象；以及先前已接受 AGT 相关疾病或病症治疗的对象。应当理解，使对象对 AGT 相关疾病或病症更易感的预先存在的疾病和/或遗传异常可以是这样的疾病或遗传异常：当存在时，其先前已被确定为与发展 AGT 相关疾病或病症的更高可能性具有相关关系。

应当理解，可以基于个体对象的医学状况向对象施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。例如，为对象提供的医疗保健可以评估从对象获得的样品中测量的 AGT 水平，并确定通过施用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂来降低对象的 AGT 水平是可期望的。在一个非限制性实例中，可以从对象获得生物样品，例如血液或血清样品，并且在样品中确定对象的 AGT 水平。向对象施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂，并且在给药后从对象获得血液或血清样品，并且使用该样品测定 AGT 水平，并将该结果与对象给药前（先前）样品中确定的结果进行比较。与给药前水平相比，随后样品中对象的 AGT 水平降低则表明所施用的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂在降低对象的 AGT 水平方面的功效。在一个非限制性实例中，血压可以被认为是 AGT 相关病症的生理特征，即使对象没有被诊断为患有 AGT 相关疾病，例如本文公开的疾病。医疗保健提供者可以监测对象的血压的变化，作为施用的本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的功效的量度。

本发明方法的某些实施方案包括调整治疗，所述治疗包括至少部分地基于对对象中由治疗引起的 AGT 相关疾病或病症一种或更多种生理特征的变化评估，来向对象施用本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。例如，在本发明的一些实施方案中，可以确定对对象施用的本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的作用，并用于帮助调节随后向对象施用的本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的量。在一个非限制性实例中，对对象施用本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂，并在施用后测定对象血压；并且至少部分基于所确定的水平，确定是否需要更高量的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂以提高所施用试剂的生理作用，例如降低或进一步降低对象的血压。在另一个非限制性实例中，向对象施用本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂，并在给药后确定对象的血压，并且至少部分地基于所确定的水

平，预期向对象施用更低量的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。

因此，本发明的一些实施方案包括评估由对象先前治疗引起的一种或更多种生理特征的变化，以调整随后施用于对象的本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的量。本发明方法的一些实施方案包括对 AGT 相关疾病或病症的生理特征的 1、2、3、4、5、6 或更多次测定；评估和/或监测施用的本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的功效；并任选地使用所测定的结果来调整以下一项或更多项：本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂治疗对象中 AGT 相关疾病或病症的剂量、给药方案和/或给药频率。在本发明方法的一些实施方案中，向对象施用有效量的本发明的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的期望结果是：与为对象确定的先前血压 相比，对象的血压降低；对象的血压处于正常血压范围内。

如本文所用，术语“治疗”、“治疗性”或“治疗的”当用于 AGT 相关疾病或病症时可指预防性治疗、降低对象发展 AGT 相关疾病或病症的可能性，并且也可以指在对象已经发展出 AGT 相关疾病或病症之后为了消除或降低 AGT 相关疾病或病症的水平而进行的治疗、防止 AGT 相关疾病或病症变得更严重，和/或与在不存在降低对象中 AGT 多肽活性的疗法的情况下的对象相比，减缓对象中 AGT 相关疾病或病症的进展。

本发明的试剂、组合物和方法的某些实施方案可用于抑制 AGT 基因表达。如本文所用，关于 AGT 基因的表达，术语“抑制”、“沉默”、“减少”、“下调”和“敲低”是指例如通过以下一种或更多种情况改变 AGT 基因的表达：分别与由 AGT 基因转录的 RNA 的对照水平、所表达的 AGT 的活性对照水平或由 mRNA 翻译的 AGT 的对照水平相比，当细胞、细胞群、组织、器官或对象与本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂接触（例如，用其处理）时，其中由基因转录的 RNA 的水平、表达的 AGT 的活性水平，以及由细胞、细胞群、组织、器官或对象中的 mRNA 翻译的 AGT 多肽、蛋白质或蛋白质亚基的水平降低。在一些实施方案中，对照水平是未接触 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂（例如用其处理）的细胞、组织、器官或对象中的水平。

施用方法

AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的多种给药途径可用于本发明的方法。特定递送模式的选择将至少部分取决于所治疗的特定病症和治疗功效所需的剂量。一般而言，本发明的方法可以使用医学上可接受的任何给药模式来实施，这意味着产生 AGT 相关疾病或病症的有效治疗水平而不引起临床上不可接受的副作用的任何模式。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以通过口服、

肠内、黏膜、皮下和/或肠胃外途径施用。术语“肠胃外”包括皮下、静脉内、鞘内、肌肉、腹膜内和胸骨内注射或输注技术。其他途径包括但不限于鼻（例如，通过胃鼻管）、经皮、阴道、直肠、舌下和吸入。本发明的递送途径可包括鞘内、心室内或颅内。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以放置在缓释基质中并通过将基质放置在对象中来施用。在本发明的一些方面，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以使用涂覆有靶向特定细胞或细胞器的递送剂的纳米颗粒递送至对象细胞。多种递送方式、方法、试剂是本领域已知的。递送方法和递送剂的非限制性实例在本文别处另外提供。在本发明的一些方面，关于 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的术语“递送”可以是指：向细胞或对象施用一种或更多种“裸”AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂序列。在本发明的某些方面，“递送”是指通过转染方式给予细胞或对象、将包含 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的细胞递送给对象、将编码 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的载体递送到细胞和/或对象等中。使用转染方式递送 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可包括向细胞和/或对象施用载体。

在本发明的一些方法中，一种或更多种 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂可以以制剂形式给药，也可以在药学上可接受的溶液中给药，其通常可以含有药学上可接受浓度的盐、缓冲剂、防腐剂、相容的载体、佐剂和任选的其他治疗成分。在本发明的一些实施方案中，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以与另一种治疗剂一起配制成用于同时给药。根据本发明的方法，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂可以以药物组合物的形式给药。通常，药物组合物包含 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂和任选的药学上可接受的载体。药学上可接受的载体是本领域普通技术人员公知的。如本文所用，药学上可接受的载体是指不干扰活性成分生物活性（例如，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂抑制细胞或对象中 AGT 基因表达的能力）有效性的无毒材料。施用和递送用于治疗用途的 dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的多种方法是本领域已知的并且可用于本发明的方法中。

药学上可接受的载体包括稀释剂、填充剂、盐、缓冲剂、稳定剂、增溶剂和本领域公知的其他材料。示例性的药学上可接受的载体描述于美国专利 No. 5,211,657 中，而其他载体是本领域技术人员已知的。这种制剂通常可以含有盐、缓冲剂、防腐剂、相容的载体和任选的其他治疗剂。用于医药时，该盐应当是药学上可接受的，但非药学上可接受的盐可以方便地用于制备其药学上可接受的盐，不排除在本发明的范围之外。此类药理学和药学上可接受的盐包括但不限于由以下酸制备的盐：盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、马来酸、乙酸、水杨酸、柠檬酸、甲酸、丙二酸、琥珀酸等。此外，药学上

可接受的盐可以制备为碱金属盐或碱土金属盐，例如钠盐、钾盐或钙盐。

本发明方法的一些实施方案包括将一种或更多种 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂直接施用于组织。在一些实施方案中，施用化合物的组织是其中存在或可能出现 AGT 相关疾病或病症的组织，其非限制性实例是肝脏或肾脏。直接组织给药可以通过直接注射或其他方式实现。许多口服递送的化合物自然进入并通过肝脏和肾脏，本发明的治疗方法的一些实施方案包括向对象口服施用一种或更多种 AGT dsRNA 试剂。AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂，单独或与其他治疗剂联合，可以施用一次，或者它们可以多次施用。如果多次给药，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂可以通过不同途径给药。例如，虽然不打算限制，第一次（或前几次）给药可以通过皮下方式进行，并且一次或更多次额外给药可以是口服和/或全身给药。

对于其中希望全身性施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂的本发明实施方案，可以配制 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂用于通过注射例如通过推注或连续输注肠胃外施用。注射制剂可以以单位剂型存在，例如安瓿或多剂量容器，其添加或不添加防腐剂。AGT dsRNA 试剂制剂（也称为药物组合物）可采用油性或水性载体中的混悬液、溶液或乳液等形式，并且可含有配制剂，例如混悬剂、稳定剂和/或分散剂。

肠胃外给药的制剂包括无菌水溶液或非水溶液、混悬液和乳液。非水溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油和可注射的有机酯如油酸乙酯。水性载体包括水、酒精/水溶液、乳液或混悬液，包括盐水和缓冲介质。肠胃外载体包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖溶液、葡萄糖和氯化钠溶液、乳酸林格氏液或固定油。静脉内赋形剂包括流体和营养补充剂、电解质补充剂（例如基于林格氏葡萄糖溶液的那些）等。也可以存在防腐剂和/或其他添加剂，例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。其他形式的给药，例如静脉给药，将导致较低的剂量。如果对象在初始剂量下的反应不足，则可以在患者耐受性允许的范围内采用更高的剂量（或通过不同的、更局部的递送途径有效地提高剂量）。可以根据需要每天使用多次剂量以实现一种或更多种 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的适当全身或局部水平，并实现 AGT 蛋白活性的适当降低。

在其他实施方案中，本发明的方法包括使用递送载体，例如生物相容性微粒、纳米颗粒或适合植入受体例如对象的植入物。PCT 公开 WO 95/24929（通过引用并入本文）中描述了可根据该方法使用的示例性可生物降解植入物，其描述了用于包含生物大分子的可生物降解的、可生物降解的聚合物基质。

不可生物降解的和可生物降解的聚合物基质都可用于本发明的方法中，以将一种

或更多种 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂递送给对象。在一些实施方案中，基质可以是可生物降解的。基质聚合物可以是天然或合成聚合物。可以基于期望释放的时间段来选择聚合物，通常在几小时到一年或更长时间的数量级。通常，可以使用在几小时到三到十二个月之间的一段时间内的释放。聚合物任选地呈水凝胶形式，其可以吸收高达其重量约 90% 的水，并且还任选地与多价离子或其他聚合物交联。

通常，AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂在本发明的一些实施方案中可以使用可生物降解的植入物通过扩散或通过聚合物基质的降解来递送。用于这种用途的示例性合成聚合物是本领域公知的。使用本领域已知的方法，可生物降解的聚合物和不可生物降解的聚合物可用于递送 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。生物黏附聚合物如可生物侵蚀的水凝胶（H. S. Sawhney, C. P. Pathak and J. A. Hubbell in *Macromolecules*, 1993, 26, 581-587）也可用于递送 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂，以治疗 AGT 相关疾病或病症。其他合适的递送系统可以包括定时释放、延迟释放或持续释放递送系统。此类系统可避免重复施用 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸剂，从而提高对象和医疗保健专业人员的便利性。许多类型的释放递送系统是可行的并且是本领域普通技术人员已知的。见例如美国专利 No. 5,075,109、4,452,775、4,675,189、5,736,152、3,854,480、5,133,974 和 5,407,686。此外，可以使用基于泵的硬件输送系统，其中一些也适用于植入。

长期持续释放植入物的使用可以适用于对象的预防性治疗和具有发生复发性 AGT 相关疾病或病症的风险的对象。如本文所用，长期释放是指将植入物构建和布置成以至少长达 10 天、20 天、30 天、60 天、90 天、六个月、一年或更长时间递送治疗水平的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂。长期持续释放植入物是本领域普通技术人员众所周知的并且包括上述的一些释放系统。

AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂的治疗制剂可以通过将具有所需纯度的分子或化合物与任选的药学上可接受的载体、赋形剂或稳定剂 [Remington's *Pharmaceutical Sciences* 21st edition, (2006)] 以冻干制剂或水溶液的形式混合来制备用于储存。可接受的载体、赋形剂或稳定剂在所采用的剂量和浓度下对接受者是无毒的，并且包括缓冲剂，例如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸；抗氧化剂，包括抗坏血酸和蛋氨酸；防腐剂（例如十八烷基二甲基苄基氯化铵；六甲铵氯化物；苯扎氯铵、苄索氯铵；苯酚、丁醇或苯甲醇；对羟基苯甲酸酯类，例如对羟基苯甲酸甲酯或丙酯；邻苯二酚；间苯二酚；环己醇；3-戊醇；和间甲酚）；低分子量（少于约 10 个残基）多肽；蛋白质，例如血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白；亲水性聚合物，如聚乙烯吡咯烷酮；氨基酸，例如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、组氨酸、精氨酸或赖氨酸；单糖、二糖和其他碳水化合物

物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合剂如 EDTA；蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇等糖类；形成盐的反离子，如钠；金属配合物（例如，锌-蛋白质配合物）；和/或非离子表面活性剂，例如 TWEEN®、PLURONICS®或聚乙二醇（PEG）。

细胞、对象和对照

本发明的方法可以与细胞、组织、器官和/或对象结合使用。在本发明的一些方面，对象是人或脊椎动物哺乳动物，包括但不限于狗、猫、马、牛、山羊、小鼠、大鼠和灵长类动物，例如猴。因此，本发明可用于治疗人和非人对象的 AGT 相关疾病或病症。在本发明的一些方面，对象可以是农场动物、动物园动物、驯养动物或非驯养动物，并且本发明的方法可用于兽医预防和治疗方案。在本发明的一些实施方案中，对象是人并且本发明的方法可用于人预防和治疗方案。

可应用本发明的对象的非限制性实例是被诊断患有、怀疑患有或有风险患有与以下疾病或病症相关的疾病或病症的对象：高于期望的 AGT 表达和/或活性，也称为“升高的 AGT 表达水平”。与高于期望水平的 AGT 表达和/或活性相关的疾病和病症的非限制性实例在本文别处描述。本发明的方法可应用于在治疗时已被诊断为患有该疾病或病症的对象、与高于期望的 AGT 表达和/或活性相关的对象，或被认为处于患有或发展与高于期望的 AGT 表达和/或活性相关的疾病或病症的风险中的对象。在本发明的一些方面，与高于期望的 AGT 表达和/或活性水平相关的疾病或病症是急性疾病或病症；在本发明的某些方面，与高于期望的 AGT 表达和/或活性水平相关的疾病或病症是慢性疾病或病症。

在一个非限制性实例中，将本发明的 AGT dsRNA 试剂施用于被诊断患有高血压，其包括原发性高血压、继发性高血压、高血压急症（如恶性高血压和加速性高血压）、急性高血压、妊娠相关高血压、顽固性高血压。本发明的方法可应用于在治疗时已被诊断为患有该疾病或病症的对象，或被认为有患或发展该疾病或病症的风险的对象。

在另一个非限制性实例中，将本发明的 AGT dsRNA 试剂施用以治疗指因肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激活导致或与其相关的疾病或障碍，或其症状或进展响应于 RAAS 失活的疾病或障碍。术语“血管紧张素原相关疾病”包括因 AGT 表达降低而受益的疾病、障碍或病症。这类疾病通常与高的血压相关。血管紧张素原相关疾病的非限制实例包括高血压，例如，临界性高血压(也称为高血压前期)、原发性高血压(也称为本态性高血压或特发性高血压)、继发性高血压(也称为非本态性高血压)、孤立性收缩期或舒张期高血压、妊娠相关高血压(例如，先兆子痫、子痫和产后先兆子痫)、糖尿病性高

血压、顽固性高血压、难治性高血压、阵发性高血压、肾血管性高血压(也称为肾高血压)、戈德布拉特氏高血压、眼高压、青光眼、肺动脉高血压、门静脉高血压、系统性静脉高血压、收缩期高血压、不稳定性高血压；高血压性心脏病、高血压性肾病、动脉粥样硬化、动脉硬化、血管病变(包括外周血管疾病)、糖尿病性肾病、糖尿病性视网膜病、慢性心力衰竭、心肌病、糖尿病性心肌病、肾小球硬化症、主动脉缩窄、主动脉瘤、心室纤维化、睡眠呼吸暂停、心力衰竭(例如，左心室收缩功能障碍)、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病(例如，慢性肾脏病或糖尿病性肾病，任选地在妊娠的情况中)、肾衰竭(例如，慢性肾衰竭)、认知障碍(例如，阿尔茨海默病)和全身性硬化(例如，硬皮病肾危象)。在某些实施方式中，AGT 相关疾病包括宫内发育迟缓(IUGR)或胎儿生长受限。

可应用本发明方法的细胞包括体外、体内、离体细胞。细胞可以在对象中、在培养物中和/或混悬液中，或处于任何其他合适的状态或条件中。可以应用本发明的方法的细胞可以是：肝脏细胞(liver cell)、肝细胞(hepatocyte)、心脏细胞、胰腺细胞、心血管细胞、肾细胞或其他类型的脊椎动物细胞，包括人和非人哺乳动物细胞。在本发明的某些方面，可应用本发明方法的细胞是健康的正常细胞，其未知为疾病细胞。在本发明的某些实施方案中，将本发明的方法和组合物应用于肝脏细胞、肝细胞、心脏细胞、胰腺细胞、心血管细胞和/或肾细胞的细胞。在本发明的某些方面，对照细胞是正常细胞，但应当理解，具有疾病或病症的细胞也可以在特定情况下用作对照细胞，例如在比较具有疾病或病症的经处理细胞与具有疾病或病症的未处理细胞的结果等的情况下。

根据本发明的方法，可以确定 AGT 多肽活性的水平并将其与 AGT 多肽活性的对照水平进行比较。对照可以是预定值，其可以采取多种形式。它可以是单个截止值，例如中位数或平均值。它可以基于比较组来建立，例如在具有正常水平的 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性的组和具有增加的 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性水平的组中。比较组的另一个非限制性实例可以是具有 AGT 相关疾病或病症的一种或更多种症状或诊断的群体与没有疾病或病症的一种或更多种症状或诊断的群体；已对其施用本发明的 siRNA 治疗的对象组与未对其施用本发明的 siRNA 治疗的对象组。通常，对照可以基于适当年龄组中的明显健康的正常个体或明显健康的细胞。应当理解，除了预定值之外，根据本发明的对照可以是与实验材料平行测试的材料样品。示例包括来自对照群体的样品或通过制造产生的对照样品，以用于与实验样品进行平行测试。在本发明的一些实施方案中，对照可包括未用本发明的 AGT dsRNA 试剂接触或处理的细胞或对象，在这种情况下，可以比较 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性的对照水平以及与本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂接触的细胞或对象中 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性的水平。

在本发明的一些实施方案中，对照水平可以是对象确定的 AGT 多肽水平，其中将在不同时间为同一对象确定的 AGT 多肽水平与该对照水平进行比较。在一个非限制性实例中，在从未接受过本发明的 AGT 治疗的对象获得的生物样品中确定 AGT 的水平。在一些实施方案中，生物样品是血清样品。从对象获得的样品中测定的 AGT 多肽水平可作为对象的基线或对照值。在本发明的治疗方法中向对象施用一次或更多次 AGT dsRNA 试剂之后，可以从对象获得一个或更多个另外的血清样品，并且可以将随后的一个或更多个样品中的 AGT 多肽水平与对象的对照/基线水平进行比较。此类比较可用于评估对象中 AGT 相关疾病或病症的发作、进展或消退。例如，从对象获得的基线样品中 AGT 多肽的水平高于在给予对象本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂后从同一对象获得的水平，则表示 AGT 相关疾病或病症的消退并且表示施用的本发明的 AGT dsRNA 试剂治疗 AGT 相关疾病或病症产生的功效。

在本发明的某些方面，为对象确定的 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性水平中的一个或更多个值可以作为对照值，并用于稍后在同一对象中比较 AGT 多肽和/或 AGT 活性水平，从而允许评估对象中“基线”AGT 多肽活性的变化。因此，将初始水平用作该对象的对照水平的情况下，初始 AGT 多肽水平和/或初始 AGT 多肽活性水平可以用于显示和/或确定本发明的方法和化合物在对象中所能够降低对象中 AGT 多肽和/或 AGT 多肽活性的水平。

使用本发明的方法，可以将本发明的 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 反义多核苷酸试剂施用于对象。这样的 dsRNAi 试剂包括例如表 1 中所显示的双链体 AD00051 至 AD00122-19-2、AD00163-3、AV01227至AVAV01257、AV01711。在一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如双链体 AD00158、AD00163、AD00163-3、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122。在另一些实施方案中，优选的 dsRNAi 试剂包括例如 AD00158-1、AD00158-2、AD00163-1、AD00159-1 或 AD00300-1。在其他一些实施方案中，这样的 dsRNAi 试剂包括双链体变体，例如双链体 AD00158、AD00163、AD00163-3、AD00159、AD00290、AD00300 或 AD00122 的变体。可以如下评估本发明的施用和治疗的功效：与先前时间点从对象获得的血清样品中 AGT 多肽的给药前水平相比，或与非接触对照水平（例如对照血清样品中的 AGT 多肽水平）相比，当施用和治疗后，从对象获得的血清样品中 AGT 多肽的水平降低至少 0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80 %、90%、95%或更多。应当理解，AGT 多肽的水平和 AGT 多肽活性的水平都与 AGT 基因表达的水平相关。本发明方法的某些实施方案包括以有效抑制 AGT 基因表达的量向对象施用本发明的 AGT dsRNA 和/或 AGT 反义试剂，从而降低对象中 AGT 多肽的水平并降低 AGT 多肽活性的水平。

本发明的一些实施方案包括从一个或多个对象获得的一个或多个生物样品中确定 AGT 多肽的存在、不存在和/或量（本文也称为水平）。该测定可用于评估本发明的治疗方法的功效。例如，本发明的方法和组合物可用于确定生物样品中 AGT 多肽的水平，该生物样品获自先前用施用本发明的 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 反义剂治疗的对象。与先前时间点从对象获得的血清样品中 AGT 多肽的给药前水平相比，或与非接触对照水平（例如对照血清样品中的 AGT 多肽水平）相比，当施用和治疗后，从对象获得的血清样品中 AGT 多肽的水平降低至少 0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95% 或更多，则表明给予对象的治疗的功效水平。

在本发明的一些实施方案中，针对对象确定的 AGT 相关疾病或病症的生理特征可以作为对照结果，并将同一对象在不同时间的生理特征的确定结果与对照结果进行比较。在一个非限制性实例中，血压（和/或 AGT 疾病或病症的其他生理特征）测量自从未给予本发明的 AGT 治疗的对象，其可用作对象的基线或对照值。在本发明的治疗方法中向对象施用一次或更多次 AGT dsRNA 试剂之后，测量血压并分别与对象的对照/基线水平进行比较。此类比较可用于评估对象中 AGT 相关疾病或病症的发作、进展或消退。例如，从对象获得的基线血压高于在对对象施用本发明的 AGT dsRNA 试剂或 AGT 反义多核苷酸试剂后从同一对象测定的血压，则表示 AGT 相关疾病或病症的消退并且表示施用的本发明的 AGT dsRNA 试剂治疗 AGT 相关疾病或病症的功效。

在本发明的一些方面，为对象确定的 AGT 相关疾病或病症的一种或更多种生理特征的值可以作为对照值，用于稍后对同一对象的生理特征进行比较，从而允许评估对象“基线”生理特征的变化。因此，可以获得个体中的初始生理特征，用初始生理特征测定作为该对象的对照，并且显示和/或确定本发明的方法和化合物可用于降低个体中 AGT 多肽的水平和/或 AGT 多肽活性的效果。使用本发明的方法，本发明的 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 反义多核苷酸试剂可以以治疗 AGT 疾病或病症的有效量施用于对象。可以通过确定 AGT 疾病或病症的一种或更多种生理特征的变化来评估本发明的施用和治疗的功效。在一个非限制性实例中，与先前时间点从对象获得血压相比，或与非接触对照血压进行比较，对象血压降低至少 0.5 mmHg, 1 mmHg, 2 mmHg, 3 mmHg, 4 mmHg, 5 mmHg, 6 mmHg, 7 mmHg, 8 mmHg, 9 mmHg, 10 mmHg, 11 mmHg, 12 mmHg, 13 mmHg, 14 mmHg, 15 mmHg, 16 mmHg, 17 mmHg, 18 mmHg, 19 mmHg, 20 mmHg 或更多，直到对象的血压处于正常范围内。

本发明的一些实施方案包括使用例如但不限于以下方法确定 AGT 相关疾病或病症的生理特征的存在、不存在和/或变化：(1) 测量对象的血压；(2) 评估从一名或更多名对象获得的一份或更多份生物样品的生理特征；(3) 或对对象进行身体检查。该测定可

用于评估本发明的治疗方法的功效。

药盒

包含一种或更多种 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 反义多核苷酸试剂及其在本发明方法中的使用说明的药盒也在本发明的范围内。本发明的药盒可包含可用于治疗 AGT 相关疾病或病症的 AGT dsRNA 试剂、AGT 正义多核苷酸和 AGT 反义多核苷酸试剂中的一种或更多种。可以制备包含一种或更多种 AGT dsRNA 试剂、AGT 正义多核苷酸和 AGT 反义多核苷酸试剂的药盒以用于本发明的治疗方法。本发明药盒的组分可以以水性介质或冻干形式包装。本发明的药盒可以包含被分隔开以在其中封闭地收纳一个或更多个容器装置或一系列容器装置（例如试管、小瓶、烧瓶、瓶子、注射器等）的载体。第一容器装置或一系列容器装置可包含一种或更多种化合物，例如 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 正义或反义多核苷酸试剂。第二容器装置或一系列容器装置可包含靶向剂、标记剂、递送剂等，其可作为在本发明的治疗方法的实施方案中施用的 AGT dsRNA 试剂和/或 AGT 反义多核苷酸的一部分包括在内。

本发明的药盒还可包含说明书。说明通常采用书面形式，并且将为执行由药盒体现的治疗和基于该治疗做出决定提供指导。

提供以下实施例以说明本发明实践的具体实例，其并不旨在限制本发明的范围。对本领域普通技术人员来说明显的是，本发明可应用于多种组合物和方法。

实施例

实施例 1.RNAi 试剂的合成

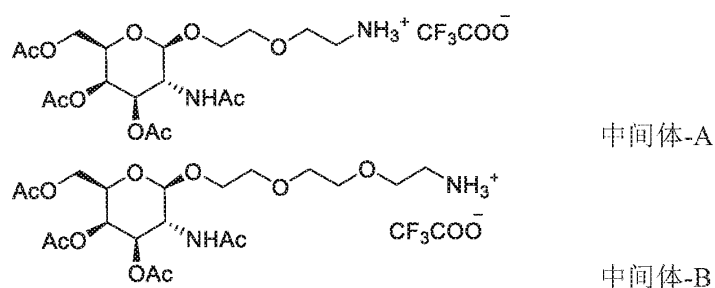
上表 2-4 中所示的 AGT RNAi 试剂双链体是根据以下通用程序合成的：

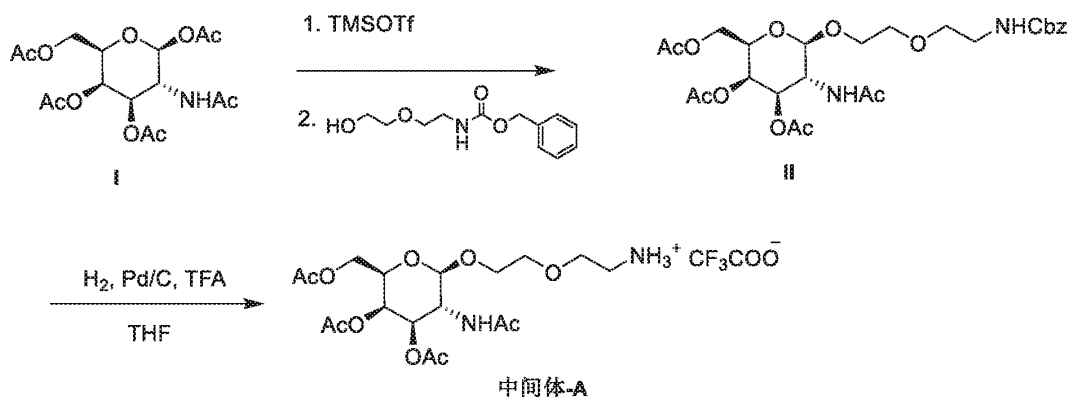
使用基于亚磷酰胺化学的成熟固相合成方法，在寡核苷酸合成仪上合成 siRNA 的正义和反义链序列。寡核苷酸链的增长是通过 4 步循环实现的：去保护、缩合、加帽和用于添加每个核苷酸的氧化或硫化步骤。合成是在由可控多孔玻璃（CPG, 1000 Å）制成的固体支持物上进行的。单体亚磷酰胺购自商业来源。根据本文实施例 2-3 的程序合成具有 GalNAc 配体簇的亚磷酰胺（GLPA1 和 GLPA2 作为非限制性实例）。对于用于体外筛选的 siRNA（表 2），合成是在 2 μmol 规模下进行的；对于用于体内测试的 siRNA（表 3、4），合成规模为 5 μmol 或更大。在 GalNAc 配体（作为非限制性实例的 GLO-0）连接在正义链的 3'-末端的情况下，使用连接有 GalNAc 配体的 CPG 固体支持物。在 GalNAc 配体（GLS-1 或 GLS-2 作为非限制性实例）连接在正义链的 5'-末端

的情况下, 将 GalNAc 亚磷酰胺 (GLPA1 或 GLPA2 作为非限制性实例) 用于最后的偶联反应。将 3%二氯甲烷中的三氯乙酸 (TCA) 用于 4,4'-二甲氧基三苯甲基保护基 (DMT) 的脱保护。5-乙硫基-1H-四唑用作活化剂。THF/Py/H₂O 中的 I₂ 和吡啶/MeCN 中的苯乙酰二硫化物 (PADS) 分别用于氧化和硫化反应。在最后的固相合成步骤之后, 通过用 1:1 体积的 40wt%甲胺水溶液和 28%氢氧化铵溶液处理来切割固体载体结合的低聚物并去除保护基团。为了合成用于体外筛选的 siRNA, 将粗混合物浓缩。将剩余的固体溶解在 1.0 M NaOAc 中, 加入冰冷的 EtOH 以沉淀出作为钠盐的单链产物, 其无需进一步纯化即可用于退火。为了合成用于体内测试的 siRNA, 粗单链产物通过离子对反相 HPLC (IP-RP-HPLC) 进一步纯化。通过将来自 IP-RP-HPLC 的纯化单链寡核苷酸产物溶解在 1.0 M NaOAc 中并通过添加冰冷的 EtOH 进行沉淀, 将其转化为钠盐。在水中通过等摩尔互补进行正义链和反义链寡核苷酸的退火, 以形成双链 siRNA 产物, 将其冻干以提供蓬松的白色固体。

实施例 2. 中间体-A 和中间体-B 的制备

如以下方案 1 所示, 通过在二氯甲烷 (DCM) 中用三甲基甲硅烷基三氟甲磺酸酯 (TMSOTf) 处理市售的半乳糖胺五乙酸酯来合成中间体-A。然后用 Cbz 保护的 2-(2-氨基乙氧基)乙-1-醇进行糖基化, 得到化合物 II。通过氢化除去 Cbz 保护基团以提供作为三氟乙酸盐 (TFA) 盐的中间体-A。除了使用 Cbz 保护的 2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙-1-醇作为原料之外, 中间体 B 基于相同的方案合成。





方案 1

向化合物 I (20.0 g, 51.4 mmol) 在 100 mL 1,2-二氯乙烷 (DCE) 中的溶液中加入 TMSOTf (17.1 g, 77.2 mmol)。将所得反应溶液在 60°C 下搅拌 2 小时, 然后在 25°C 下搅拌 1 小时; Cbz 保护的 2-(2-氨基乙氧基)乙-1-醇 (13.5 g, 56.5 mmol) 在 DCE (100 mL) 中用 4 Å 粉末分子筛 (10 g) 干燥, 在 N₂ 气氛下在 0°C 滴加到上述反应溶液中。在 N₂ 气氛下, 将所得反应混合物在 25°C 下搅拌 16 小时。过滤反应混合物并用饱和 NaHCO₃ (200mL)、水 (200mL) 和饱和盐水 (200mL) 洗涤。有机层经无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并减压浓缩, 得到粗产物, 将其与 2-甲基四氢呋喃/庚烷 (5/3, v/v, 1.80L) 一起研磨 2 小时。将所得混合物过滤并干燥以得到呈白色固体状的化合物 II (15.0g, 产率 50.3%)。

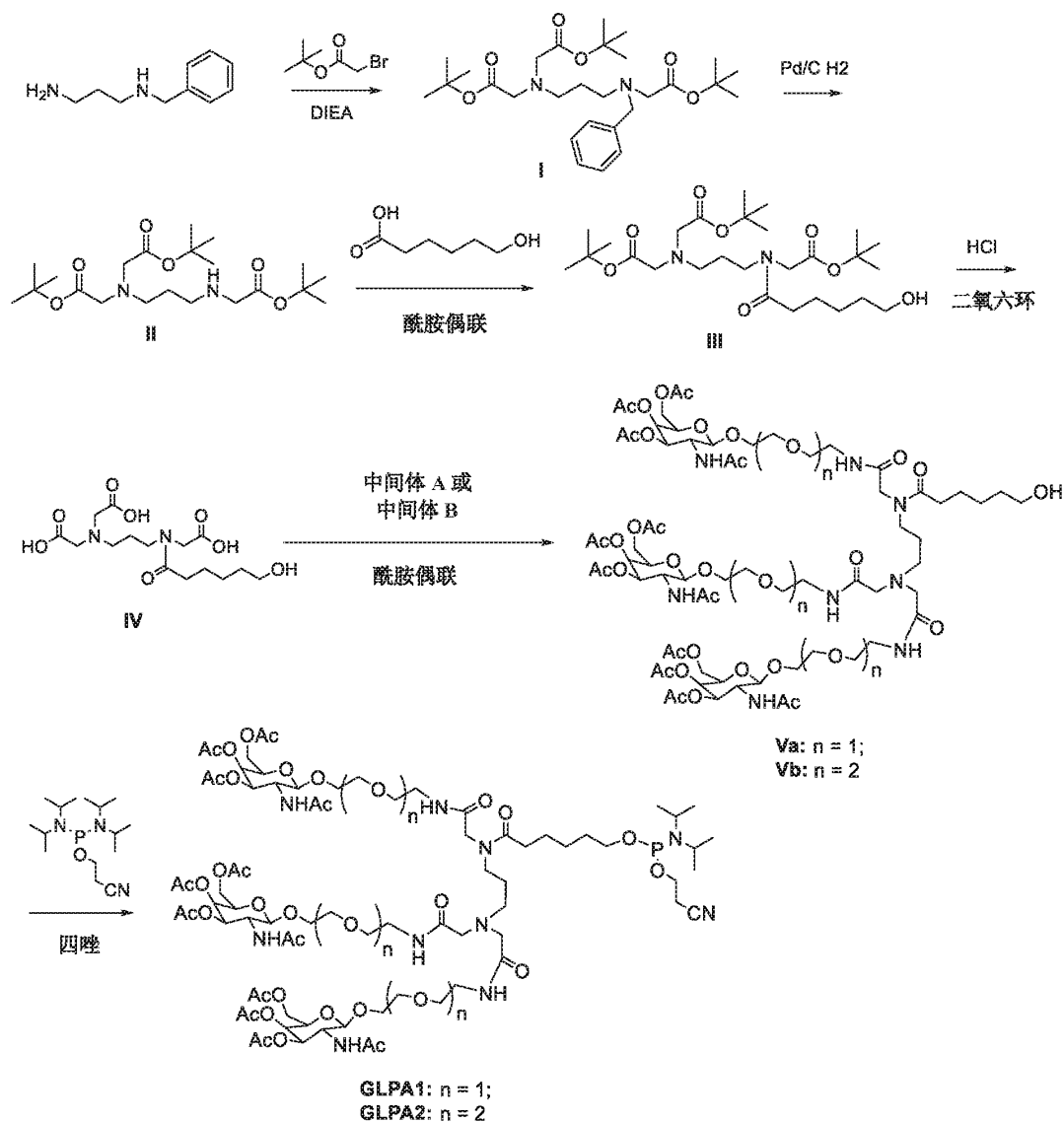
将 10% Pd/C (1.50 g) 小心地加入到干燥和氩气吹扫的氢化瓶中, 然后加入 10 毫升四氢呋喃 (THF), 然后是化合物 II (15.0 克, 26.4 毫摩尔) 在 THF (300 毫升) 和 TFA (三氟乙酸, 3.00 克, 26.4 毫摩尔) 中的溶液。将所得混合物脱气并用 H₂ 吹扫 3 次并在 H₂ (45 psi) 气氛下在 25°C 下搅拌 3 小时。薄层色谱法 (TLC, 溶剂: DCM:MeOH = 10:1) 表明化合物 II 已完全消耗。过滤反应混合物并减压浓缩。将残余物溶解在无水 DCM (500mL) 中并浓缩。该过程重复 3 次以得到呈泡沫状白色固体的中间体-A (14.0g, 产率 96.5%)。¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆): δ ppm 7.90 (d, *J* = 9.29 Hz, 1 H), 7.78 (br s, 3 H), 5.23 (d, *J* = 3.26 Hz, 1 H), 4.98 (dd, *J* = 11.29, 3.26 Hz, 1 H), 4.56 (d, *J* = 8.53 Hz, 1 H), 3.98 - 4.07 (m, 3 H), 3.79 - 3.93 (m, 2 H), 3.55 - 3.66 (m, 5 H), 2.98 (br d, *J* = 4.77 Hz, 2 H), 2.11 (s, 3 H), 2.00 (s, 3 H), 1.90 (s, 3 H), 1.76 (s, 3 H)。

使用与合成中间体-A 类似的程序合成中间体-B。¹H NMR (400 MHz DMSO-*d*₆): δ ppm 7.90 (br d, *J* = 9.03 Hz, 4 H), 5.21 (d, *J* = 3.51 Hz, 1 H), 4.97 (dd, *J* = 11.1 Hz, 1 H), 4.54 (d, *J* = 8.53 Hz, 1 H), 3.98 - 4.06 (m, 3 H), 3.88 (dt, *J* = 10.9 Hz, 1 H), 3.76 - 3.83 (m, 1 H), 3.49 - 3.61 (m, 9 H), 2.97 (br s, 2 H), 2.10 (s, 3 H), 1.99 (s, 3 H), 1.88 (s, 3 H), 1.78 (s, 3 H)。计

算质谱 $C_{26}H_{34}N_2O_{11}$: 478.22; 实测: 479.3 ($M+H^+$)。

实施例 3. GalNAc 配体簇亚磷酰胺 GLPA1、GLPA2 和 GLPA15 的合成。

按照以下方案 2 制备 GLPA1 和 GLPA2。从苄基保护的丙烷-1,3-二胺开始，用 2-溴乙酸叔丁酯对其进行烷基化，得到三酯化合物 I。通过氢化除去苄基保护基，得到仲胺化合物 II。将酰胺与 6-羟基己酸偶联得到化合物 III。然后在用二氧六环中的 HCl 处理时除去叔丁基保护基以生成三酸化合物 IV。进行三酸化合物 IV 和中间体-A 或中间体-B 之间的酰胺偶联以提供化合物 Va 或 Vb。亚磷酰胺 GLPA1 或 GLPA2 是通过化合物 Va 或 Vb 与 2-氰乙基 N,N-二异丙基氯亚磷酰胺和催化量的 1H-四唑的亚磷酸化合成的。



方案 2

向 N-苄基-1,3-丙二胺 (5.00 g, 30.4 mmol) 在二甲基甲酰胺 (DMF, 100 mL) 中的溶液中加入 2-溴乙酸叔丁酯 (23.7 g, 121 mmol); 然后滴加二异丙基乙胺 (DIEA, 23.61g, 182mmol)。将所得反应混合物在 25-30°C 搅拌 16 小时。LCMS 显示 N-苄基-1,3-丙二胺被完全消耗。反应混合物用 H₂O (500mL) 稀释并用 EtOAc (500mL×2) 萃取。合并的有机物用饱和盐水 (1L) 洗涤, 用无水 Na₂SO₄ 干燥, 过滤, 减压浓缩, 得到粗产物; 经硅胶柱层析纯化 (梯度: 石油醚:乙酸乙酯 20:1 至 5:1)。获得无色油状化合物 I (12.1g, 产率 78.4%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 7.26 - 7.40 (m, 5 H), 3.79 (s, 2 H), 3.43 (s, 4 H), 3.21 (s, 2 H), 2.72 (dt, $J = 16.9, 7.34$ Hz, 4 H), 1.70 (quin, $J = 7.2$

Hz, 2 H), 1.44 - 1.50 (m, 27 H)。

干燥的氢化瓶用氩气吹扫 3 次。加入 Pd/C (200mg, 10%)，然后加入 MeOH (5mL)，然后加入化合物 I (1.00g, 1.97mmol) 在 MeOH (5mL) 中的溶液。反应混合物在真空下脱气并重新填充 H₂。这个过程重复 3 次。将混合物在 H₂ (15 psi) 气氛下在 25°C 搅拌 12 小时。LCMS 显示化合物 I 被完全消耗。在 N₂ 气氛下减压过滤反应混合物。减压浓缩滤液，得到黄色油状化合物 II (655mg, 产率 79.7%)，其无需进一步纯化即可用于下一步。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 3.44 (s, 4 H), 3.31 (s, 2 H), 2.78 (t, *J* = 7.1 Hz, 2 H), 2.68 (t, *J* = 6.9 Hz, 2 H), 1.88 (br s, 1 H), 1.69 (quin, *J* = 7.03 Hz, 2 H), 1.44 - 1.50 (s, 27 H)。

化合物 II (655mg, 1.57mmol)、6-羟基己酸 (249mg, 1.89mmol)、DIEA (1.02g, 7.86mmol)、1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐 (EDCI, 904mg, 4.72mmol) 和 1-羟基苯并三唑 (HOBt, 637mg, 4.72mmol) 的 DMF (6mL) 溶液的混合物脱气并用 N₂ 吹扫 3 次；然后在 N₂ 气氛下在 25°C 搅拌 3 小时。LCMS 指示所需产物。反应混合物用 H₂O (10mL) 稀释并用 EtOAc 20mL (10mL×2) 萃取。合并有机物并用饱和盐水 (20mL) 洗涤，经无水 Na₂SO₄ 干燥，过滤并浓缩以得到粗产物；将其通过硅胶柱色谱法 (梯度: 石油醚: 乙酸乙酯从 5:1 至 1:1) 纯化，得到呈黄色油状的化合物 III (650mg, 产率 77.8%)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ ppm 3.90 - 3.95 (s, 2 H), 3.63 (t, *J* = 6.40 Hz, 2 H), 3.38 - 3.45 (m, 6 H), 2.72 (t, *J* = 6.65 Hz, 2 H), 2.40 (t, *J* = 7.28 Hz, 2 H), 1.55 - 1.75 (m, 8 H), 1.44 (s, 27 H)。计算质谱 C₂₇H₅₀N₂O₈: 530.36; 实测: 531.3 (M+H⁺)。

将化合物 III (5.5g, 10.3mmol) 在 HCl/二氧六环 (2M, 55mL) 中的混合物在 25°C 下搅拌 3 小时。LCMS 显示完全消耗化合物 III。过滤反应混合物，用 EtOAc (50mL) 洗涤，减压干燥，得到粗产物。将其溶解在 CH₃CN (50mL) 中，真空除去挥发物。重复该过程 3 次以得到呈白色固体状的化合物 IV (2.05g, 产率 54.5%)。¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ ppm 4.21 (s, 1 H), 4.07 (d, *J* = 4.5 Hz, 4 H), 3.99 (s, 1 H), 3.45 - 3.52 (m, 3 H), 3.42 (t, *J* = 6.5 Hz, 1 H), 3.32 - 3.38 (m, 1 H), 3.24 - 3.31 (m, 1 H), 2.37 (t, *J* = 7.4 Hz, 1 H), 2.24 (t, *J* = 7.4 Hz, 1 H), 1.99 (dt, *J* = 15.5, 7.53 Hz, 1 H), 1.85 - 1.94 (m, 1 H), 1.85 - 1.94 (m, 1 H), 1.39 - 1.56 (m, 4 H), 1.19 - 1.31 (m, 2 H)。

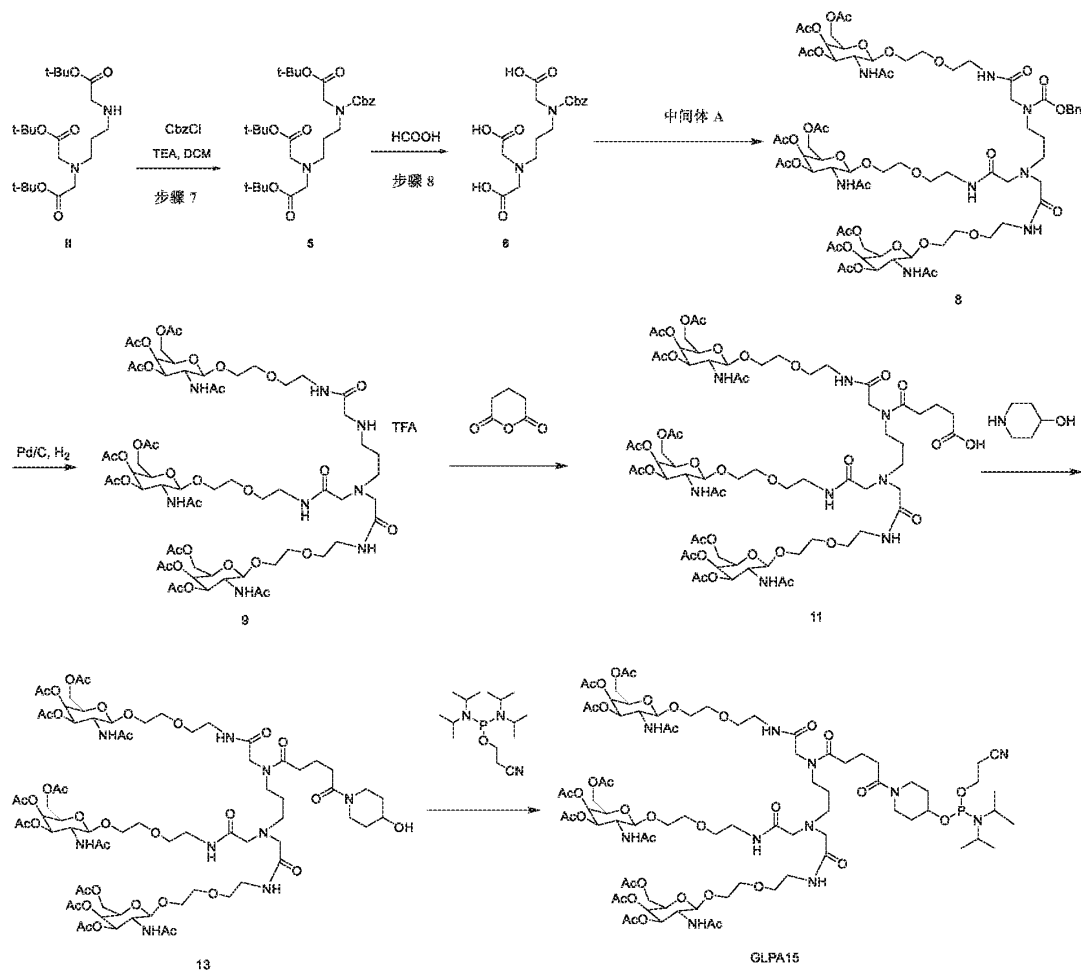
将化合物 IV (500 mg, 1.05 mmol)、中间体-A (2.02 g, 3.67 mmol)、DIEA (813 mg, 6.30 mmol)、EDCI (704 mg, 3.67 mmol) 和在 DMF (10 毫升) 中的 HOBt (496 mg, 3.67 mmol) 的混合物脱气并用 N₂ 吹扫 3 次，然后将混合物在 N₂ 气氛下在

25°C 搅拌 3 小时。LCMS 指示所需产物。通过加入 H₂O (10mL) 淬灭反应混合物, 用 DCM (10mL×2) 萃取。合并的有机物用 10% 柠檬酸 (20mL) 萃取。水相用饱和 NaHCO₃ 溶液中和并用 DCM (10 mL x 2) 再萃取。有机物经硫酸钠干燥, 过滤并在减压下浓缩以产生呈白色固体状的化合物 Va (570mg, 0.281mmol, 产率 26.8%)。¹H NMR: (400 MHz, CDCl₃) ppm δ 7.84 - 8.12 (m, 3 H), 6.85 - 7.15 (m, 2 H), 6.66 - 6.81 (m, 1 H), 5.36 (br d, *J* = 2.7 Hz, 3 H), 5.11 - 5.27 (m, 3 H), 4.63 - 4.85 (m, 3 H), 3.90 - 4.25 (m, 18 H), 3.37 - 3.75 (m, 28 H), 3.15 - 3.28 (m, 4 H), 2.64 (br d, *J* = 6.53 Hz, 2 H), 2.30 - 2.46 (m, 2 H), 2.13 - 2.18 (m, 9 H), 2.05 (s, 9 H), 1.94 - 2.03 (m, 18 H), 1.68 (br s, 2 H), 1.45 (br s, 2 H), 1.12 (br t, *J* = 7.0 Hz, 2 H)。

向化合物 Va (260 mg, 0.161 mmol) 的无水 DCM (5 mL) 溶液中加入四唑二异丙基铵 (30.3 mg, 0.177 mmol); 然后在环境温度和 N₂ 下滴加 3-双(二异丙基氨基)膦酰氧基丙腈 (194 mg, 0.645 mmol)。将反应混合物在 20 至 25°C 搅拌 2 小时。LCMS 表明化合物 Va 被完全消耗。冷却至 -20°C 后, 将反应混合物在 0°C 加入搅拌的盐水/饱和 NaHCO₃ (1:1, 5mL) 溶液。搅拌 1 分钟后, 加入 DCM (5mL)。出现分层。有机层用盐水/饱和 NaHCO₃ 水溶液 (1:1, 5 mL) 洗涤, 用 Na₂SO₄ 干燥, 过滤并浓缩至体积约 1 mL。在搅拌下将残余溶液滴加到 20mL 甲基叔丁基醚 (MTBE) 中。这导致白色固体沉淀。将混合物离心, 收集固体。将固体重新溶解在 1mL DCM 中并通过加入 MTBE (20mL) 沉淀。再次通过离心分离固体。将收集的固体溶解在无水 CH₃CN 中。除去挥发物。该过程再重复两次, 得到呈白色固体状的 GalNAc 配体亚磷酰胺化合物 GLPA1 (153 mg, 84.4 μmol)。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): ppm δ 7.71 - 8.06 (m, 2 H), 6.60 - 7.06 (m, 3 H), 5.37 (br d, *J* = 3.0 Hz, 3 H), 5.18 - 5.32 (m, 3 H), 4.70 - 4.86 (m, 3 H), 3.92 - 4.25 (m, 18 H), 3.42 - 3.85 (m, 30 H), 3.25 (m, 4 H), 2.59 - 2.75 (m, 4 H), 2.27 - 2.44 (m, 2 H), 2.15 - 2.20 (s, 9 H) 2.07 (s, 9 H), 1.96 - 2.03 (m, 18 H), 1.65 (br s, 4 H), 1.44 (br d, *J* = 7.28 Hz, 2 H), 1.14 - 1.24 (m, 12 H)。³¹P NMR (CDCl₃): ppm δ 147.15。

除了使用中间体-B 之外, 使用相同的程序合成 GalNAc 配体亚磷酰胺化合物 GLPA2。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): ppm δ 7.94 - 8.18 (m, 1 H), 7.69 (br s, 1 H), 6.66 - 7.10 (m, 3 H), 5.35 (d, *J* = 3.5 Hz, 3 H), 5.07 - 5.25 (m, 3 H), 4.76 - 4.86 (m, 3 H), 4.01 - 4.31 (m, 10 H), 3.91 - 4.01 (m, 8 H), 3.74 - 3.86 (m, 4 H), 3.52 - 3.71 (m, 30 H), 3.42 - 3.50 (m, 6 H), 3.15 - 3.25 (m, 4 H), 2.52 - 2.70 (m, 4 H), 2.22 - 2.45 (m, 2 H), 2.15 - 2.22 (s, 9 H), 2.06 (s, 9 H), 1.95 - 2.03 (m, 18 H), 1.77 (br s, 2 H), 1.58 - 1.66 (m, 4 H), 1.40 (m, 2 H), 1.08 - 1.24 (m, 12 H)。³¹P NMR (CDCl₃): ppm δ 147.12。

按照以下方案 3 制备 GLPA15。



向中间体化合物II (275 g, 660 mmol, 1.00 eq.) 的二氯甲烷(2.75 L)溶液中加入三乙胺 (133 g, 1.32 mol, 2.00 eq.), 随后滴加入Cbz-Cl (169 g, 990 mmol, 1.50 eq.)。反应液在 25 °C 搅拌2小时, LCMS显示化合物II完全转化。反应液依次用 NaHCO₃ (800 mL)饱和溶液、饱和食盐水 (500 mL) 洗涤, 有机相用无水Na₂SO₄干燥。过滤除去干燥剂后, 滤液浓缩至干。该粗品经柱层析后(SiO₂, PE/EA=100/1 to 5/1)得到无色油状化合物5 (290 g, 527 mmol, 产率75.7%)。¹H NMR (400 MHz in DMSO-d₆): δ ppm 7.23 - 7.40 (m, 5 H), 5.00 - 5.12 (m, 2 H), 3.86 - 3.95 (m, 2 H), 3.23 - 3.39 (m, 6 H), 2.55 - 2.67 (m, 2 H), 1.56 - 1.64 (m, 2 H), 1.31 - 1.46 (m, 27 H). MS (ESI) [M+H]⁺ m/z: 551.6。

向化合物5 (145 g, 263 mmol, 1.00 eq) 中加入 HCOOH (2.9 L), 该溶液在 60 °C 下搅拌12小时, LCMS显示化合物5转化完全。向反应液中加入1.5 L甲苯 和1.5L乙腈, 减压浓缩至约500 mL, 随后加入甲苯/乙腈 (1:1, ~750 mL) 并浓缩至约500 mL, 然后加入乙腈(~1000 mL)并浓缩至干, 粗品用700 mL乙腈在60 °C 粉碎2小时, 过滤。收集固体, 干

燥得白色固体化合物**6** (105 g, 定量)。¹H NMR (400 MHz in DMSO-d₆): δ ppm 7.26 - 7.40 (m, 5 H), 5.02 - 5.10 (m, 2 H), 3.89 - 4.00 (m, 2 H), 3.36 - 3.45 (m, 4 H), 3.24 - 3.34 (m, 2 H), 2.59 - 2.72 (m, 2 H), 1.40 (s, 2 H). MS (ESI) [M+H]⁺ m/z: **383.0**。

向化合物**6**(100 g, 261 mmol)和中间体-A (502 g, 915. mmol, 3.50 eq.) 的DMF (1.0 L) 溶液中加入TBTU(327 g, 1.02 mol, 3.90 eq.), 三乙胺 (212 g, 2.09 mol, 8.00 eq.), 反应在 25 °C进行1小时, LCMS显示化合物**6**转化完成。将反应液加入到 4000 mL水中, 并用甲基叔丁基醚 (2000 mL 分两次) 萃取除去杂质, 剩余水相用二氯甲烷(3000 mL 分两次) 萃取。二氯甲烷相依次用10%柠檬酸水溶液 (2000 mL 分两次)、饱和 NaHCO₃ (2.0 L 分两次), 饱和盐水 (2.0 L) 洗涤, 无水Na₂SO₄干燥。过滤得滤液, 减压浓缩得到白色固体化合物**8** (260 g, 159 mmol, 产率60.9%)。 ¹H NMR (400 MHz in DMSO-d₆): δ ppm 7.99 - 8.08 (m, 2 H), 7.93 (br d, *J*=5.50 Hz, 1 H), 7.79 - 7.86 (m, 3 H), 7.26 - 7.39 (m, 5 H), 5.22 (d, *J*=3.13 Hz, 3 H), 4.95 - 5.08 (m, 5 H), 4.54 (br d, *J*=8.38 Hz, 3 H), 4.03 (s, 9 H), 3.81 - 3.93 (m, 5 H), 3.76 (br d, *J*=4.88 Hz, 3 H), 3.44 - 3.62 (m, 10 H), 3.34 - 3.43 (m, 6 H), 3.24 (br d, *J*=6.13 Hz, 7 H), 3.02 - 3.09 (m, 4 H), 2.40 - 2.47 (m, 2 H), 2.10 (s, 9 H), 1.99 (s, 9 H), 1.89 (s, 9 H), 1.77 (s, 9 H), 1.57 - 1.68 (m, 2 H)。 MS (ESI) [M+H]⁺ m/z: **816.4**。

用氩气惰化2 L氢化釜并小心加入干Pd/C (9 g), 加入 MeOH (50 mL) 润湿Pd/C , 然后在氩气气氛下缓慢加入化合物**8** (90 g, 55.1 mmol, 1.00 eq.) 和三氟乙酸 (6.29 g, 55.1 mmol, 1.00 eq.) 的MeOH (850 mL)溶液。混合物经脱气/加H₂三次置换为氢气气氛, 在 25 °C搅拌10小时。LCMS显示化合物**8**转化完全, 过滤除去Pd/C, 滤液经减压浓缩得到化合物**9** (80 g, 产率90.2%)。 ¹H NMR (400 MHz in DMSO-d₆): δ ppm 9.12 (br s, 2 H), 8.50 (br t, *J*=5.19 Hz, 1 H), 8.10 (br t, *J*=5.50 Hz, 2 H), 7.85 - 7.91 (m, 3 H), 5.22 (d, *J*=3.25 Hz, 3 H), 4.95 - 5.01 (m, 3 H), 4.52 - 4.58 (m, 3 H), 4.03 (s, 9 H), 3.84 - 3.93 (m, 3 H), 3.75 - 3.83 (m, 3 H), 3.39 - 3.61 (m, 16 H), 3.23 - 3.32 (m, 6 H), 3.15 - 3.18 (m, 3 H), 2.97 - 3.05 (m, 2 H), 2.54 - 2.61 (m, 2 H), 2.10 (s, 9 H), 2.00 (s, 9 H), 1.89 (s, 9 H), 1.77 - 1.80 (m, 9 H), 1.70 - 1.76 (m, 2 H). MS (ESI) [M+H]⁺ m/z: **749.3**。

向化合物**9** (270 g, 168 mmol, 1.00 eq.)和戊二酸酐 (28.6 g, 252 mmol, 1.50 eq.) 的二氯甲烷(2.7 L) 溶液中加入三乙胺(67.8 g, 672 mmol, 4.00 eq), 该溶液在25 °C 搅拌1小时, LCMS显示化合物**9**完全转化为化合物**11**。向反应液中加入4-羟基哌啶(42.4 g, 420 mmol, 2.50 eq.)和 TBTU(107 g, 335 mmol, 2.00 eq.), 并在25 °C继续搅拌1小时。LCMS显示化合物**11**转化完全。 缓慢加入饱和NH₄Cl (3.0 L)淬灭反应, 分层, 水相用二氯甲烷(2 x

1000 mL) 萃取并与先前的有机相合并。合并的有机相用饱和 NaHCO_3 (aq)和饱和盐水的1:1混合液(3.0 L)洗涤, 用无水 Na_2SO_4 干燥, 过滤减压浓缩。粗品溶于1.5 L二氯甲烷, 滴加到甲基叔丁基醚 (7.5 L)中, 半透明的白色沉淀在滴加过程中逐渐形成。真空过滤沉淀, 收集固体真空干燥得到白色固体化合物**13** (207 g, 产率72.8%)。 ^1H NMR (400 MHz in DMSO-d_6): δ ppm 8.05 (br d, $J=2.00$ Hz, 2 H), 7.82 (br d, $J=7.38$ Hz, 3 H), 5.21 (br s, 3 H), 4.98 (br d, $J=10.26$ Hz, 3 H), 4.72 (br s, 1 H), 4.54 (br d, $J=7.88$ Hz, 3 H), 4.03 (br s, 9 H), 3.74 - 3.94 (m, 9 H), 3.45 - 3.71 (m, 12 H), 3.40 (br s, 6 H), 3.24 (br s, 7 H), 3.07 (br d, $J=14.13$ Hz, 5 H), 2.91 - 3.01 (m, 1 H), 2.24 - 2.44 (m, 5 H), 2.20 (br s, 1 H), 2.10 (s, 9 H), 1.96 - 2.04 (m, 9 H), 1.89 (br s, 9 H), 1.74 - 1.81 (m, 9 H), 1.51 - 1.73 (m, 6 H), 1.07 - 1.36 (m, 3 H). MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z : 848.0。

向化合物 **13** (200 g, 118 mmol, 1.00 eq.)、四唑二异丙基铵 (8.08 g, 47.2 mmol, 0.40 eq) 的二氯甲烷 (2.0 L) 溶液中加入3-双(二异丙基氨基)磷酸氧基丙腈, (53.3 g, 177 mmol, 1.50 eq.), 反应液在40 °C 搅拌2小时, LCMS显示化合物**13**转化完成。反应液用饱和 NaHCO_3 和饱和食盐水的1:1混合液(2.0 L)洗涤, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 滤液浓缩后所得粗品溶于二氯甲烷(1.2 L), 滴加到搅拌的甲基叔丁基醚 (6.0 L)中, 过滤悬浊液, 滤饼用基叔丁基醚淋洗, 收集固体进行真空干燥, 将产品溶于二氯甲烷(1.0 L)并浓缩至干, 重复操作4次以除去残留叔丁基醚得到GLPA15 (164 g, 产率73.3%)。 ^1H NMR (400 MHz in DMSO-d_6): δ ppm 8.05 (br d, $J=6.50$ Hz, 2 H), 7.81 (br d, $J=9.01$ Hz, 3 H), 5.22 (d, $J=3.25$ Hz, 3 H), 4.98 (dd, $J=11.26, 3.25$ Hz, 3 H), 4.55 (br d, $J=8.50$ Hz, 3 H), 4.03 (s, 9 H), 3.64 - 3.97 (m, 12 H), 3.55 - 3.63 (m, 6 H), 3.50 (br s, 5 H), 3.40 (br d, $J=6.13$ Hz, 6 H), 3.17 - 3.30 (m, 9 H), 3.07 (br d, $J=14.26$ Hz, 4 H), 2.76 (t, $J=5.82$ Hz, 2 H), 2.18 - 2.47 (m, 6 H), 2.10 (s, 9 H), 1.99 (s, 9 H), 1.89 (s, 9 H), 1.78 (s, 9 H), 1.52 - 1.74 (m, 6 H), 1.12 - 1.19 (m, 12 H). ^{31}P NMR (DMSO-d_6): ppm δ 145.25. MS (ESI) $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z : 1895.7。

在某些研究中, 提供了用于将包含GalNAc (本文也称为GalNAc递送化合物) 的靶向基团连接到正义链的5'-末端的方法, 其包括在固相合成的最后一个偶联步骤中使用GalNAc亚磷酸酰胺 (GLPA1), 使用这样的合成工艺, 例如在寡核苷酸链延长时使用的 (即在正义链的5'末端添加核苷酸) 工艺, 以将其连接到正义链的5'-末端。

在一些研究中, 将包含 GalNAc 的靶向基团连接到正义链的 3'-末端的方法包括使用包含 GLO-n 的固体支持物 (CPG)。在一些研究中, 将包含 GalNAc 的靶向基团连接到正义链的 3'-末端的方法包括: 将 GalNAc 靶向基团通过酯键连接到 CPG 固体支持物

上，并在合成正义链时使用带有连接的 GalNAc 靶向基团的所得 CPG，这导致 GalNAc 靶向基团连接在正义链的 3'-末端。其他 GalNAc 亚磷酰胺化合物 (GLPAn) 也同样可以在使用合理对应的中间体后，采用本文类似或者本领域中熟知的方法获得，并作为靶向基团连接到 siRNA 双链体合适的位置。

实施例 4. AGT siRNA 双链体的体外筛选

Hep3B 细胞用胰蛋白酶消化并调整到合适的密度，然后接种到 96 孔板中。根据制造商的建议，在接种的同时，使用 Lipofectamine RNAiMax (Invitrogen -13778-150) 用测试 siRNA 或对照 siRNA 转染细胞。siRNA 以两个浓度 (0.2 nM 至 1.0 nM) 一式三份进行测试，而对照 siRNA 以从 4.6 pM 到 10 nM 依次 3 倍稀释的 8 种浓度进行测试，一式三份。

转染后 24 小时，去除培养基并收获细胞用于 RNA 提取。根据手册使用 TRIzol™ Reagent (Invitrogen - 15596018) 提取总 RNA。

根据手册，使用 PrimeScript™ RT 试剂盒和 gDNA Eraser (Perfect Real Time) (TaKaRa-RR047A) 合成 cDNA。通过 qPCR 检测 AGT cDNA。平行检测 GAPDH cDNA 作为内部对照。PCR 如下进行：在 95 °C 下进行 30 秒，然后以在 95 °C 下 10 秒、在 60 °C 下 30 秒的循环进行 40 个循环。

数据分析

使用比较性 Ct ($\Delta\Delta Ct$) 方法，通过相对定量 (RQ) 确定每个样品中 AGT 基因的表达；该方法测量靶基因和看家基因 (GAPDH) 之间的 Ct 差异 (ΔCt)。

方程式列出如下：

$$\Delta Ct = \text{靶基因平均 } Ct - \text{GAPDH 平均 } Ct$$

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct (\text{样品}) - \Delta Ct (\text{随机对照或 Lipofectamine RNAiMax 对照});$$

$$\text{靶基因 mRNA 的相对定量} = 2^{-(\Delta\Delta Ct)}$$

$$\text{抑制}\% = (\text{对照的相对定量} - \text{样品的相对定量}) / \text{对照的相对定量} \times 100\%。$$

表 5 提供了使用多种 AGT RNAi 试剂抑制 AGT 表达的体外研究的实验结果；使用的双链序列对应于表 2 中所示的化合物。

双链体 AD#	平均抑制%			
	1 nM		0.2 nM	
	平均	SD	平均	SD
AD00051	63.49	5.27	57.80	4.84
AD00053	82.93	1.46	60.04	3.22
AD00054	81.76	0.05	27.18	12.85
AD00055	63.11	2.61	27.67	13.05
AD00056	44.67	3.42	-10.57	8.88
AD00057	38.36	1.00	6.39	2.89
AD00058	-6.34	7.17	-10.93	13.00
AD00059	40.95	2.41	-15.25	11.41
AD00060	41.58	1.21	1.71	1.62
AD00061	34.74	7.07	-52.46	7.61
AD00062	11.16	3.26	-27.82	22.96
AD00063	25.99	1.34	-28.28	34.49
AD00064	48.56	10.83	-22.86	4.06
AD00065	17.68	12.71	-19.42	11.46
AD00066	74.76	0.61	32.99	9.82
AD00067	-15.01	11.39	-70.58	12.60
AD00068	48.42	7.31	10.85	3.85
AD00070	14.21	6.91	-41.65	19.32
AD00071	71.20	0.94	40.90	9.35
AD00072	58.69	3.25	-30.13	4.78
AD00073	23.87	7.61	-10.98	10.03
AD00074	78.21	3.00	-13.57	4.32

AD00075	38.92	2.08	20.51	2.14
AD00076	73.89	1.40	52.43	1.99
AD00077	73.85	1.28	56.13	1.41
AD00078	51.59	4.46	-24.43	20.40
AD00079	90.61	0.61	76.62	5.02
AD00080	88.44	1.14	16.00	15.09
AD00081	88.79	1.96	29.91	20.77
AD00082	77.98	0.45	60.15	10.15
AD00083	-25.46	6.04	-24.08	6.71
AD00084	29.29	3.07	-19.97	13.61
AD00085	54.82	2.64	6.94	4.85
AD00086	61.17	2.03	26.87	16.50
AD00087	52.12	5.08	-42.78	64.89
AD00088	17.16	13.36	-25.66	4.89
AD00090	72.23	5.81	14.30	6.12
AD00091	27.41	2.11	-53.58	26.95
AD00092	78.93	0.53	29.92	2.95
AD00093	80.84	0.97	30.70	14.04
AD00094	57.64	7.56	35.89	9.00
AD00095	63.51	1.25	28.95	12.77
AD00097	81.91	2.26	37.49	7.94
AD00098	74.20	0.29	57.41	2.59
AD00099	53.49	2.05	1.42	22.51
AD00100	88.90	0.91	62.84	5.16
AD00101	66.98	2.39	11.83	13.72

实施例 5. AGT siRNA 双链体的体内测试

为了评估 AGT siRNA 的体内活性，使用了感染了编码人 AGT 基因的 AAV 的小鼠（每组 4 只小鼠）。在 siRNA 给药前 14 天，对雌性 C57BL/6J 小鼠通过静脉注射 1×10^{11} viral particle of 编码人 AGT 基因的腺相关病毒 8（AAV8）载体的原液来进行感染。在第 0 天，小鼠皮下注射单剂量 2.5mg/kg or 3 mg/kg 的 AGT siRNA 试剂或 PBS。在第 0 天、siRNA 给药前和第 7 天终止时收集血样。根据制造商推荐的方案（IBL America，人血管紧张素原 ELISA 药盒），通过 ELISA 测定法测量人 AGT 蛋白浓度。通过比较 siRNA 处理组和 PBS 处理组的第 7 天小鼠肝脏中人 AGT mRNA 水平（qPCR 确定）或血浆样品中的人 AGT 蛋白水平来计算敲低百分比。结果如表 6-9 所示。

表 6. AAV-人 AGT 转导小鼠中的 AGT 单次 3 mpk 剂量筛选；使用对应于表 3 中所示的序列、化学修饰和递送的 GalNAc，其中 GLO-0 为 Jayaprakash, et al., (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961 中的 GalNAc₃ 所示的递送配体。

ID#	通过 qPCR 测量的小鼠肝脏 中人 AGT mRNA 的敲低百分比	通过 ELISA 测量的小鼠血 浆中人 AGT 的敲低百分比
AD00052	86%	67%
AD00113	39%	20%
AD00114	78%	NA
AD00115	81%	NA
AD00116	88%	NA
AD00122	95%	83%
AD00123	89%	76%
AD00124	68%	NA
AD00125	86%	NA
AD00126	92%	62%

NA 表示未检测。

表 7. AAV-人 AGT 转导小鼠中的 AGT 单次 3 mpk 剂量筛选；使用对应于表 3 中所示

的序列、化学修饰和递送的化合物，其中 GLO-0 为 Jayaprakash , et al., (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961 中的 GalNAc3 所示的递送配体。

ID#	通过 qPCR 测量的 小鼠肝脏中人 AGT mRNA 的敲 低百分比	通过 ELISA 测量的 小鼠血浆中人 AGT 的敲低百分比
AD00052	72%	65%
AD00154	37%	NA
AD00155	51%	NA
AD00156	48%	NA
AD00157	71%	NA
AD00158	96%	87%
AD00159	94%	80%
AD00160	68%	NA
AD00161	77%	NA
AD00162	85%	NA
AD00163	94%	81%

NA 表示未检测。

表 8. AAV-人 AGT 转导小鼠中的 AGT 单次 2.5 mpk 剂量筛选：使用对应于表 3 中所示的序列、化学修饰和递送的化合物，其中 GLO-0 为 Jayaprakash , et al., (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961 中的 GalNAc3 所示的递送配体。

AD#	通过 qPCR 测量的小鼠肝脏中 人 AGT mRNA 的敲低百分比
AD00052	73.2%
AD00252	25.9%
AD00257	39.1%
AD00260	42.2%
AD00123	74.2%
AD00284	79.6%
AD00158	92.7%

AD00288	86.9%
AD00163	88.9%
AD00289	66.3%
AD00159	85.7%
AD00290	85.2%
AD00285	26.4%
AD00286	54.1%
AD00287	0.5%
AD00256	72.3%
AD00282	81.5%
AD00283	59.8%
AD00291	-29.9%
AD00292	78.1%
AD00293	17.9%
AD00294	60.8%
AD00298	-14.0%
AD00299	53.2%
AD00300	89.4%
AD00301	-47.3%
AD00302	62.1%

表 9. AAV-人 AGT 转导小鼠中的 AGT 单次 2.5 mpk 剂量筛选；使用对应于表 3 或者表 4 中所示的序列、化学修饰和递送的化合物，其中 GLO-0 为 Jayaprakash , et al., (2014) J. Am. Chem. Soc., 136, 16958–16961 中的 GalNAc3 所示的递送配体。

ID#	通过 ELISA 测量的小鼠血浆中人 AGT 的敲低百分比	通过 qPCR 测量的小鼠肝脏中人 AGT mRNA 的敲低百分比
		NA

AD00158	86%	NA
AD00158-1	85%	NA
AD00158-2	68%	NA
AD00122	83%	84%
AD00159	77%	NA
AD00159-1	77%	90%
AD00163	81%	76%
AD00163-1	89%	90%
AD00300	66%	NA
AD00300-1	69%	69%

NA 表示未检测。

实施例 6. AGT siRNA 双链体的体内测试

为了评估 AGT siRNA 的体内活性，本研究共招募 15 只（13-22 岁，体重 7~9 公斤）雄性食蟹猴，动物将被随机分成 5 组，每组 3 只，每只动物皮下注射给予 2 mg/kg 供试品，使用的供试品对应于表 4 中所示的化合物（AD00158-1、AD00158-2、AD00163-1、AD00159-1、AD00300-1）。

禁食过夜后，在第 -14 天（给药前）、-7（给药前）、1（给药前）和给药后第 8、15、22、29、43、57、64、71、78、85 和 92 天进行采血。附图将采集的血样在室温下放置至少 30 分钟凝固，然后在 4°C 下以 350 rpm 的转速离心 10 分钟。将收集的血清（约 1.0 mL）转移到两个预先标记的聚丙烯螺旋盖小瓶中（0.5 mL/小瓶，一个用于 ELISA 测定，另一个备用），储存在 -80°C 的冰箱中直至测试。

血清中的 AGT 蛋白水平通过 Elisa 方法测定。与猴子第一天的血浆中 AGT 水平相比所剩百分比的结果如图 1 所示。

实施例 7. AGT siRNA 双链体的体外筛选

按照实施例 4 的方法进行体外研究，实验结果如表 10 所示。

表 10 提供了使用多种 AGT RNAi 试剂抑制 AGT 表达的体外研究的实验结果；使用的双链序列对应于表 2 中所示的化合物。

双链体 AD#	平均抑制%			
	1 nM		0.2 nM	
	平均	SD	平均	SD
AV01227	93.57	0.03	85.93	0.60
AV01228	91.34	3.40	82.13	0.53

AV01229	80.82	3.46	56.60	1.35
AV01230	78.49	1.26	39.11	0.04
AV01231	49.54	6.13	0.54	6.09
AV01232	80.88	1.05	53.41	1.59
AV01233	89.59	1.75	75.97	2.40
AV01234	89.20	1.86	73.90	1.12
AV01235	86.81	0.00	70.59	3.93
AV01236	90.40	0.66	79.11	2.11
AV01237	82.94	0.71	67.31	2.28
AV01238	84.52	0.63	71.77	1.19
AV01239	81.62	2.26	65.69	2.63
AV01240	87.57	1.05	73.71	1.72
AV01241	88.57	0.37	75.29	1.65
AV01242	88.03	1.08	76.62	1.46
AV01243	90.29	0.30	82.39	1.85
AV01244	86.57	0.96	75.39	2.98
AV01245	81.30	3.09	68.25	4.27
AV01246	74.37	3.11	55.34	6.77
AV01247	63.44	8.48	39.83	6.91
AV01248	73.97	1.99	48.68	2.50
AV01249	64.97	6.78	12.91	15.95
AV01250	88.45	0.15	70.96	0.83
AV01251	89.94	0.35	72.82	2.77
AV01252	87.26	1.72	65.79	2.21
AV01253	86.71	2.13	66.42	0.25
AV01254	90.45	0.53	81.11	1.59
AV01255	89.78	0.42	83.48	2.51
AV01256	89.36	0.69	78.84	0.72
AV01257	92.88	0.13	85.27	0.49

实施例 8. AD00163-3 在 AAV 小鼠模型中体内测试:

12 只雌性 C57BL/6J 小鼠在适应期过后, 根据体重随机分为 2 组: 模型 (溶媒) 组、AD00163-3 (1 mg/kg) 组。每只小鼠均在第 1 天通过尾静脉注射 1×10^{11} vg 的 AAV-AGT 病毒来建立动物模型, 注射体积为 100 μ L/只。在第 15 天, 各组小鼠分别通过皮下注射给予 PBS 或 表 4 中的 AD00163-3, 给药体积为 5 mL/kg。在第 15 天给药前, 每只小鼠通过颌下静脉采血, 离心后收集血清样本。在第 22 天, 所有小鼠通过 CO₂ 处死, 通过心脏穿刺采集全血, 离心后收集血清样本。根据制造商推荐的方案 (IBL America, 人血管紧张素原 ELISA 试剂盒), 通过 ELISA 测定法测量人 AGT 蛋白浓度。通过比较 siRNA 处理组和 PBS 处理组的第 7 天 (给药后) 小鼠血浆样品中的人源 AGT 蛋白水平来计算敲低百分比。数据显示 AD00163-3 (1 mg/kg) 处理能显著降低小鼠血清中人 AGT 蛋白的表达 91%。

实施例 9 AD00163-3 在食蟹猴自发性高血压模型中的测试

将血压升高的 10 只食蟹猴随机分成两组（每组 5 只猴子），以 10mg/kg 接受盐水或表 4 中的 AD00163-3。在第-6 天和第-2 天（给药前）和第 2,7,14,21,28 和 35 天（给药后）收集血液样品。根据制造商推荐的方案通过 ELISA 测量血清 AGT 浓度，使用尾套装置测量血压。分别如图所示 2 和 3，在血清 AGT 降低的同时（给药后第 35 天减少 98%），单次皮下 10mg/kg 剂量的 AD00163-3，给药后第 35 天导致 SBP 显著降低 28mmHg（SBP 从 147mmHg 基线至 119mmHg），同时对照组 SBP 在同一时期没有显著变化（SBP 从 144mmHg 基线至 145mmHg）。还观察到平均压和舒张压（MBP 和 DBP）压力显著降低分别如图 4 和 5 所示。

等同物尽管本文已经描述和说明了本发明的几个实施例，但本领域普通技术人员很容易理解，用于执行此处描述的功能和/或获得结果和/或一个或更多个优点的多种其他手段和/或结构，以及这些变化和/或修改中的每一个都被认为在本发明的范围内。更一般地，本领域技术人员将容易理解，此处描述的所有参数、尺寸、材料和配置都是示例性的，并且实际参数、尺寸、材料和/或配置将取决于使用本发明教导的具体应用。本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验来确定本文描述的本发明的特定实施例的许多等价物。因此，应当理解，前述实施例仅通过示例的方式呈现并且属于所附权利要求及其等效物的范围内，本发明可以以不同于具体描述和要求保护的方式实施。本发明针对在此描述的每个单独的特征、系统、物品、材料和/或方法。此外，两个或更多个此类特征、系统、物品、材料和/或方法的任何组合，如果此类特征、系统、物品、材料和/或方法相互不矛盾，则也包括在本发明的范围内。

如本文所定义和使用的所有定义应理解为对照字典定义、通过引用并入的文件中的定义和/或所定义术语的普通含义。

在说明书和权利要求中并未使用数量限定的情况，除非明确指出相反，否则应理解为“至少一个”。

说明书和权利要求书中使用的短语“和/或”应理解为表示如此结合的要素中的“一个或两个”，即这样的要素在某些情况下组合出现而在其他情况下分离出现。除了由“和/或”具体标识的要素之外，除非明确指出相反，否则可以可选地存在其他要素，无论与那些具体标识的要素相关或不相关。

本申请中引用或参考的所有参考文献、专利和专利申请和出版物均通过引用整体并入本文。

权利要求

1. 抑制血管紧张素原（AGT）表达的双链核糖核酸（dsRNA）试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含正义链和反义链，所述反义链中的核苷酸第 2 至 18 位包含与 AGT RNA 转录物互补的区域，其中互补区域包含与表 1-4 之一中所列出的反义序列之一相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的至少 15 个连续核苷酸，并且任选地包含靶向配体。
2. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述与 AGT RNA 转录物互补的区域包含至少 15、16、17、18 或 19 个连续核苷酸，其与表 1-4 之一中所列出的反义序列之一相差不超过 3 个核苷酸。
3. 权利要求 1 或 2 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 的反义链与 SEQ ID NO: 519 中的任一个靶区域至少基本上互补，并且在表 1-4 的任一个中提供。
4. 权利要求 3 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 的反义链与 SEQ ID NO: 519 中的任一靶区完全互补，并在表 1-4 的任一个中提供。
5. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含表 1-4 中任一项所述的正义链序列，其中所述正义链序列与所述 dsRNA 试剂中的反义链序列至少基本上互补。
6. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含表 1-4 中任一项所述的正义链序列，其中所述正义链序列与所述 dsRNA 试剂中的反义链序列完全互补。
7. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含表 1-4 中任一项所列出的反义链序列。
8. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含表 1-4 中任一项中作为双链体序列所列出的序列。
9. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含至少一种修饰的核苷酸。
10. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述反义链中的所有或基本上所有核苷酸是修饰的核苷酸。
11. 权利要求 5 或 6 所述的 dsRNA 试剂，其中所述至少一种修饰的核苷酸包括：2'-O-甲基核苷酸、2'-氟核苷酸、2'-脱氧核苷酸、2'3'-seco 核苷酸模拟物、锁定核苷酸、开环核酸核苷酸（UNA）、乙二醇核酸核苷酸（GNA）、2'-F-阿拉伯糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、无碱基核苷酸、核糖醇、反向核苷酸、反向无碱基核苷酸、反向 2'-

OMe 核苷酸、反向 2'-脱氧核苷酸、2'-氨基修饰核苷酸、2'-烷基修饰核苷酸、吗啉代核苷酸和 3'-OMe 核苷酸、包含 5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸，或与胆固醇衍生物或十二烷酸双癸酰胺基团连接的末端核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、氨基磷酸酯，或包含核苷酸的非天然碱基。

12. 权利要求 9 或 10 所述的 dsRNA 试剂，其中在引导链的 5'末端包含 E-乙烯基磷酸酯核苷酸。

13. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。

14. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述正义链包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。

15. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述反义链包含至少一个硫代磷酸酯核苷间键联。

16. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述正义链包含 1、2、3、4、5 或 6 个硫代磷酸酯核苷间键联。

17. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述反义链包含 1、2、3、4、5 或 6 个硫代磷酸酯核苷间键联。

18. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述正义链和反义链的全部或基本上全部核苷酸是修饰的核苷酸。

19. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中修饰的正义链是表 2-4 之一中所列出的修饰的正义链序列。

20. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中修饰的反义链是表 2-4 之一中所列出的修饰的反义链序列。

21. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述正义链与反义链互补或基本上互补，并且互补区域的长度为 16 至 23 个核苷酸。

22. 权利要求 21 所述的 dsRNA 试剂，其中所述互补区域的长度为 19 至 21 个核苷酸。

23. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中每条链的长度为不超过 30 个核苷酸。

24. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中每条链的长度为不超过 25 个核苷酸。

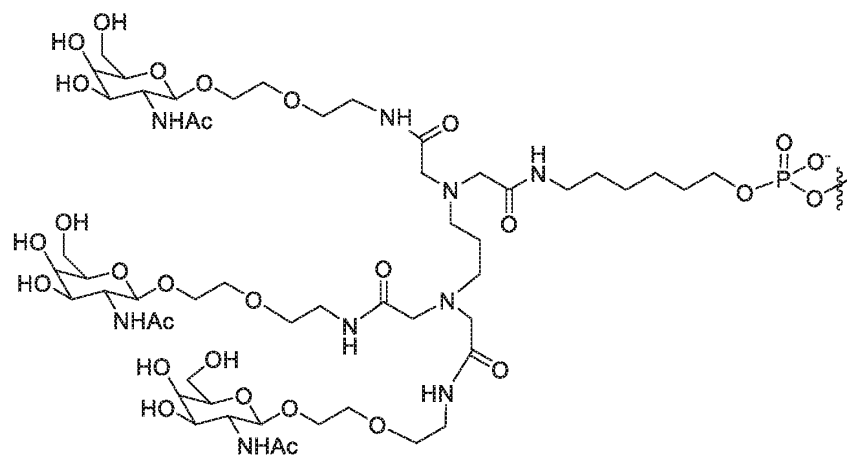
25. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中每条链的长度为不超过 23 个核苷酸。

26. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述 dsRNA 试剂包含至少一种修饰的核苷酸, 并且还包含一种或更多种靶向基团或连接基团。

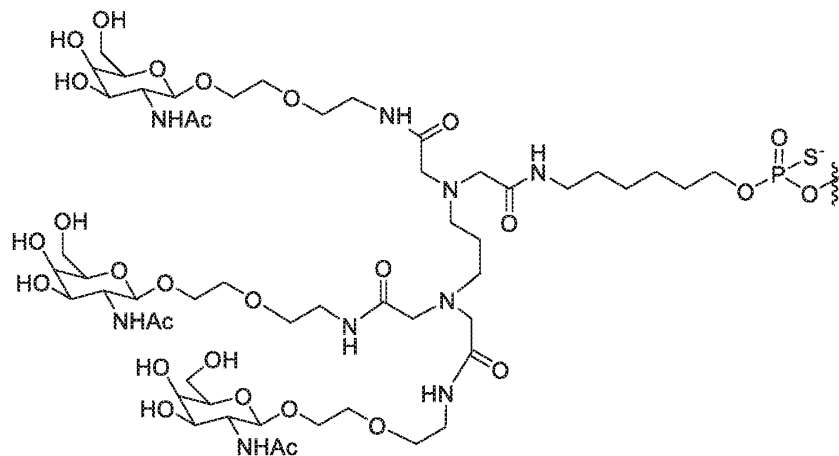
27. 权利要求 26 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述一种或更多种靶向基团或连接基团与所述正义链缀合。

28. 权利要求 26 或 27 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述靶向基团或连接基团包括 N-乙酰基-半乳糖胺 (GalNAc)。

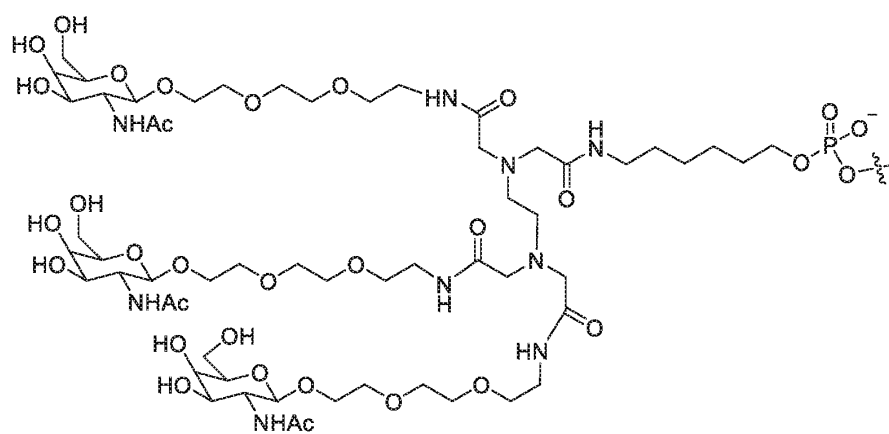
29. 权利要求 26 或 27 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述靶向基团具有以下结构:



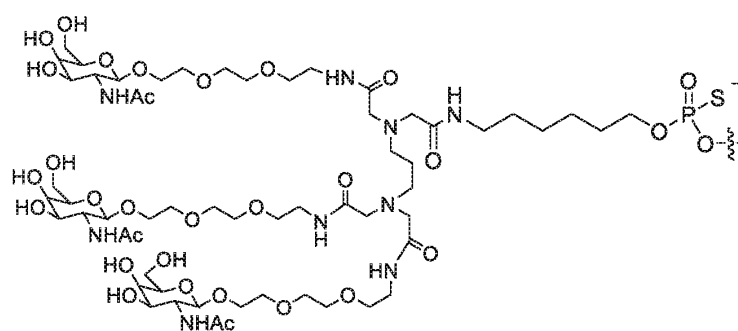
GLO-1,



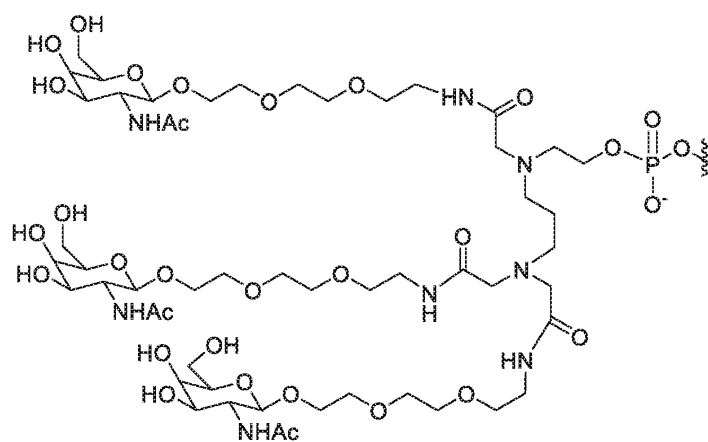
GLS-1,



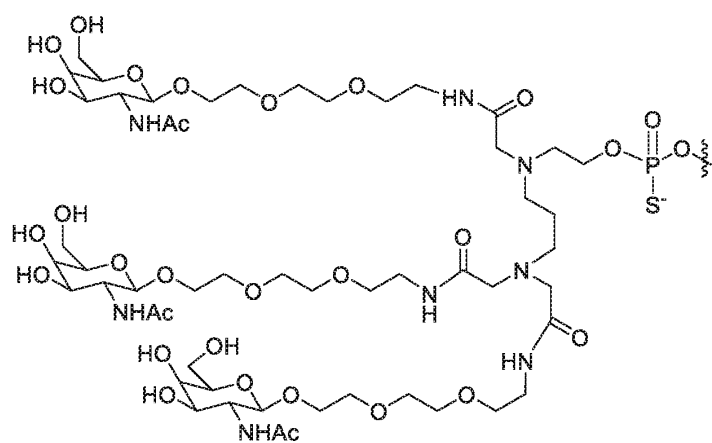
GLO-2,



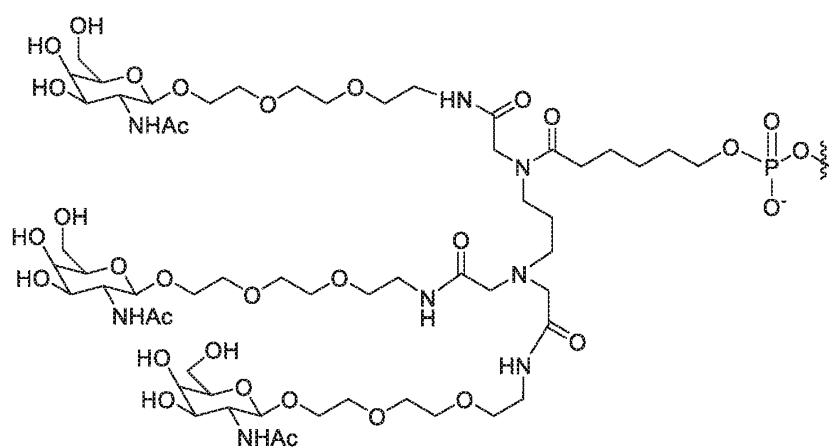
GLS-2,



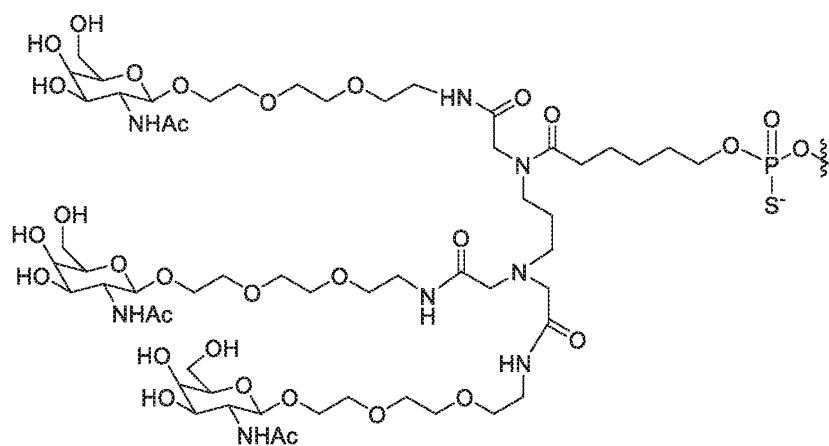
GLO-3



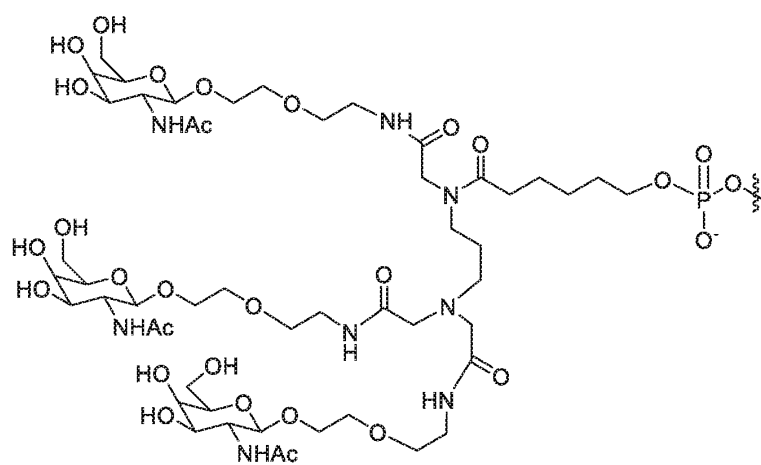
GLS-3,



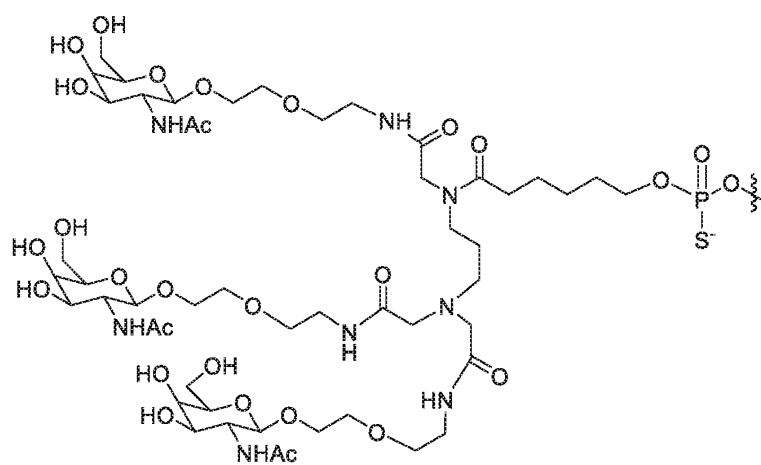
GLO-4,



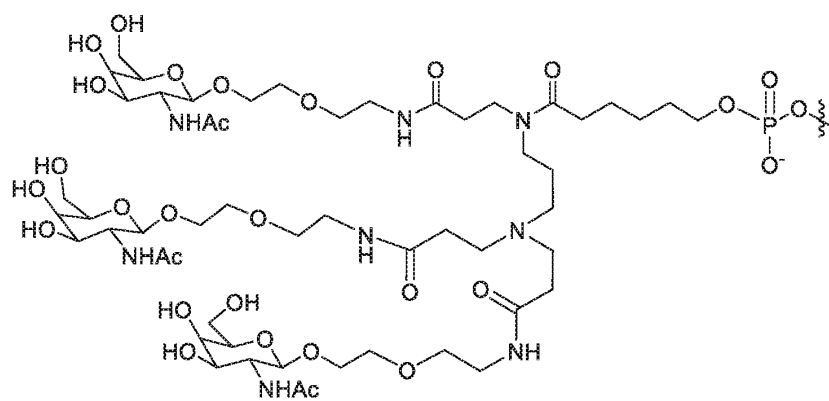
GLS-4,



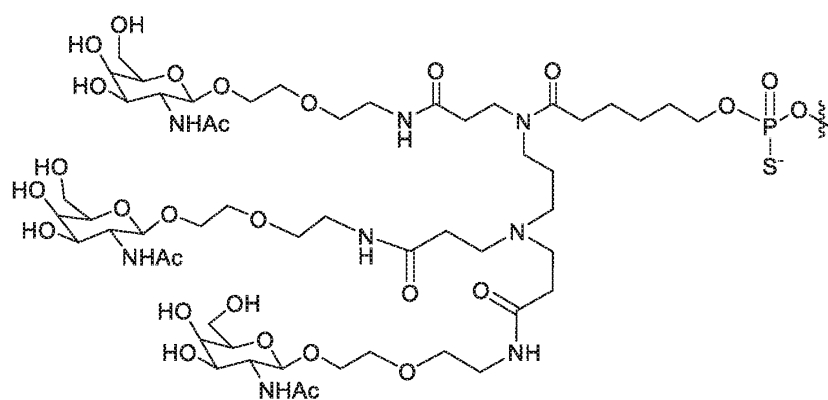
GLO-5,



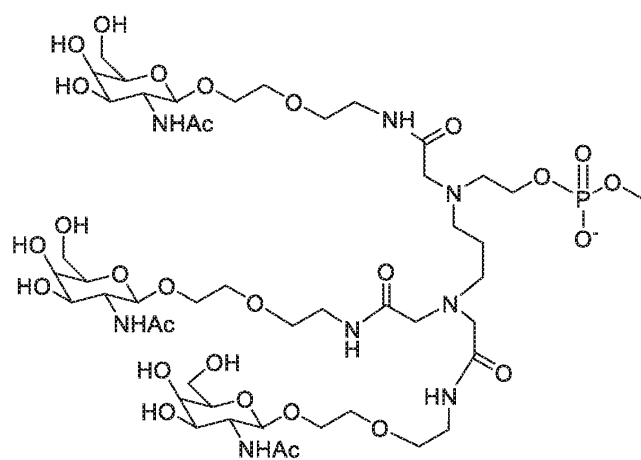
GLS-5,



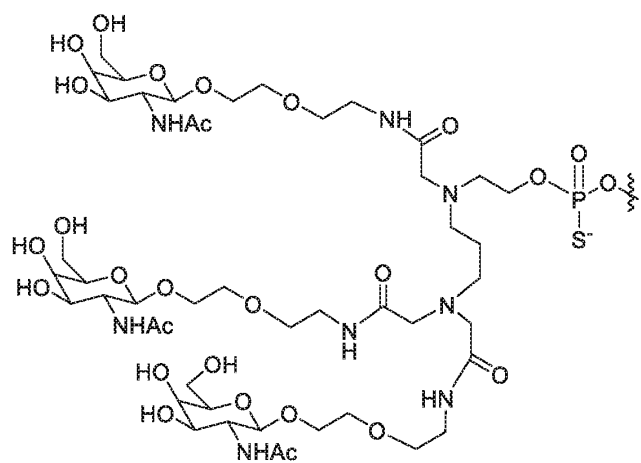
GLO-6,



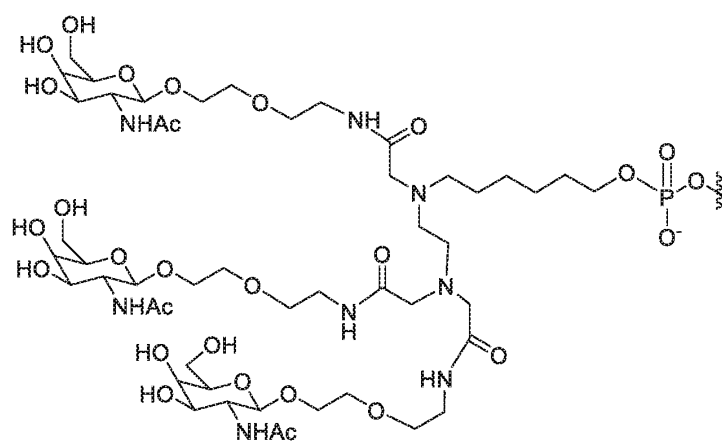
GLS-6,



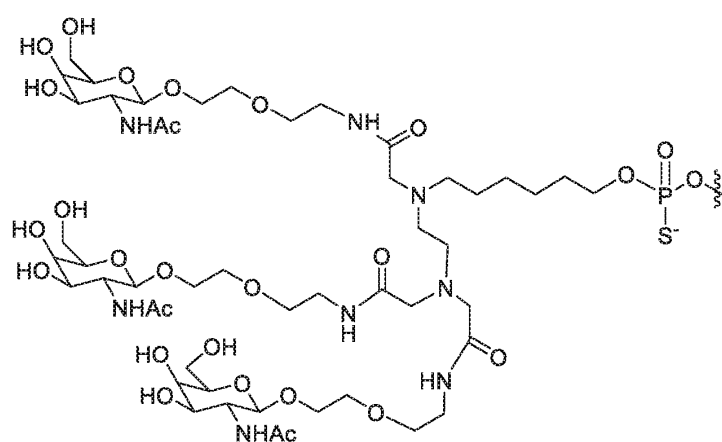
GLO-7,



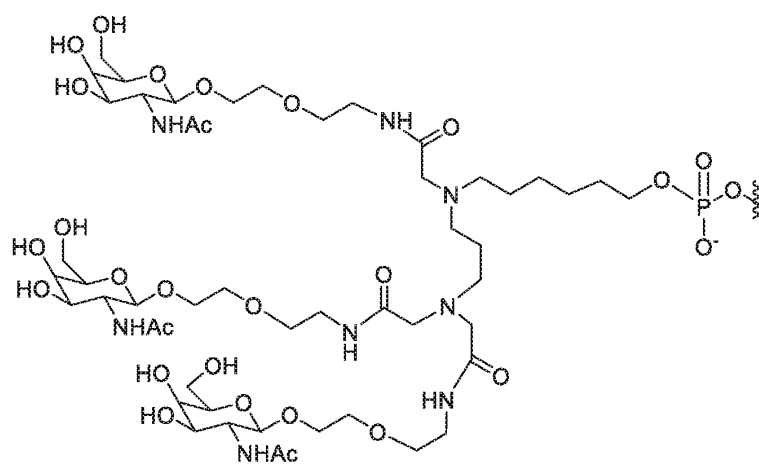
GLS-7,



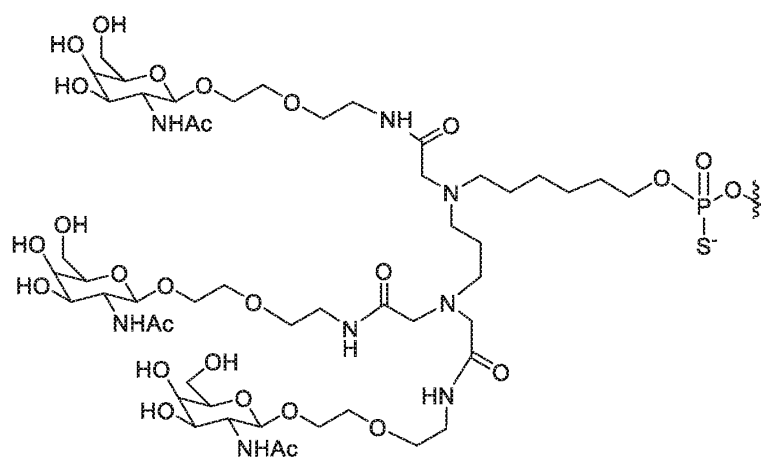
GLO-8,



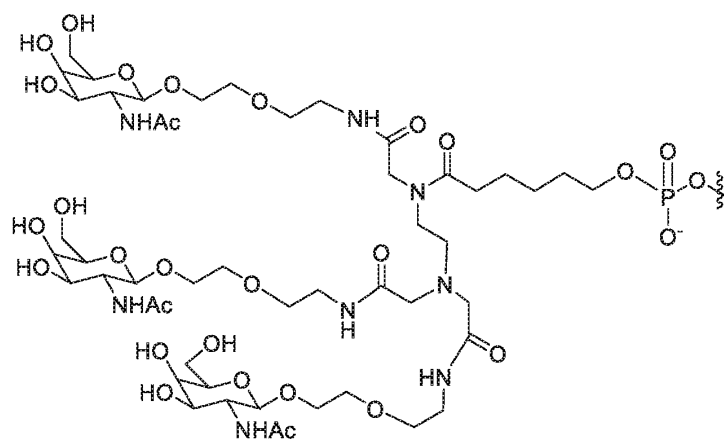
GLS-8,



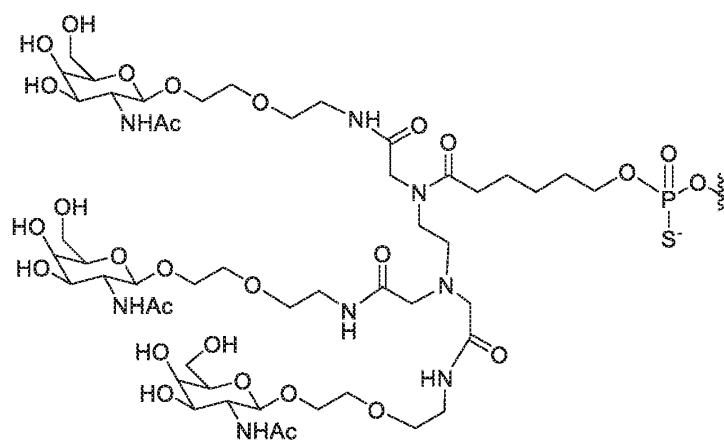
GLO-9,



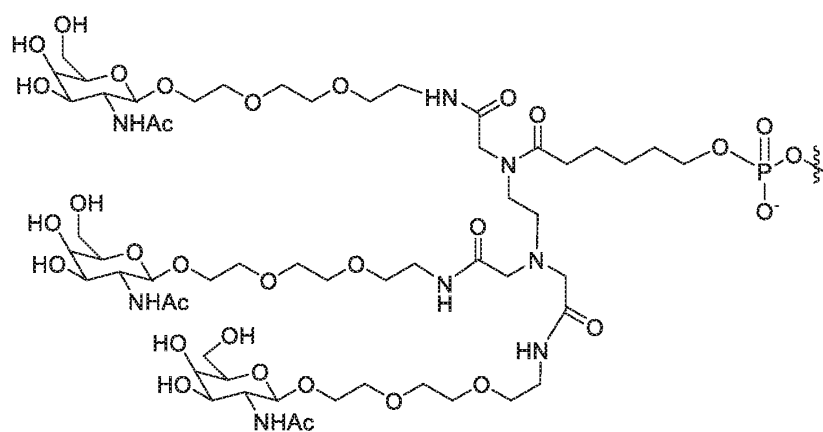
GLS-9,



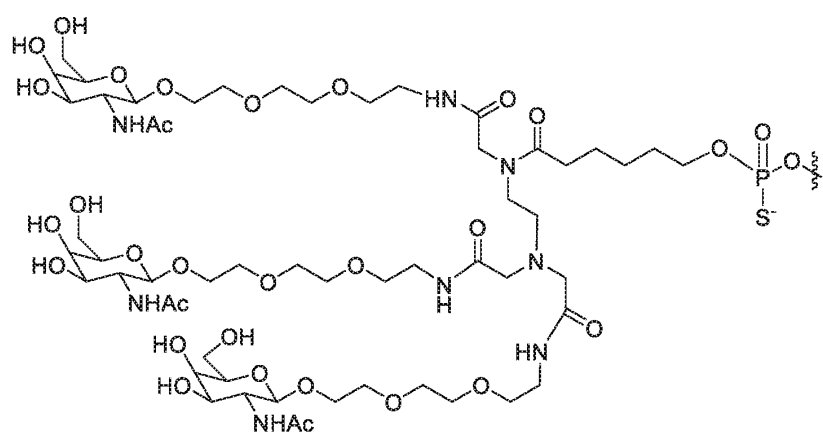
GLO-10,



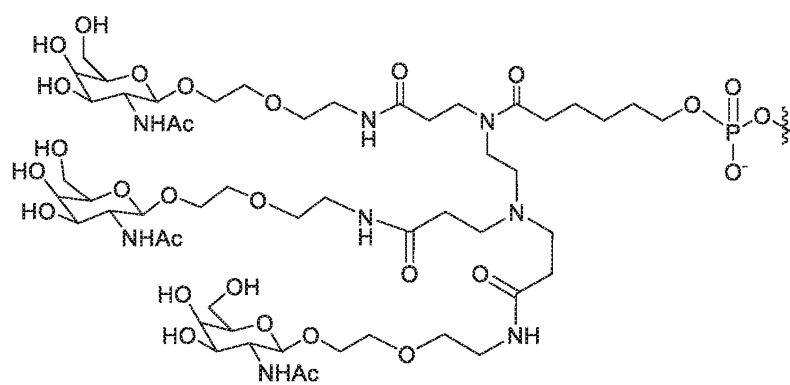
GLS-10,



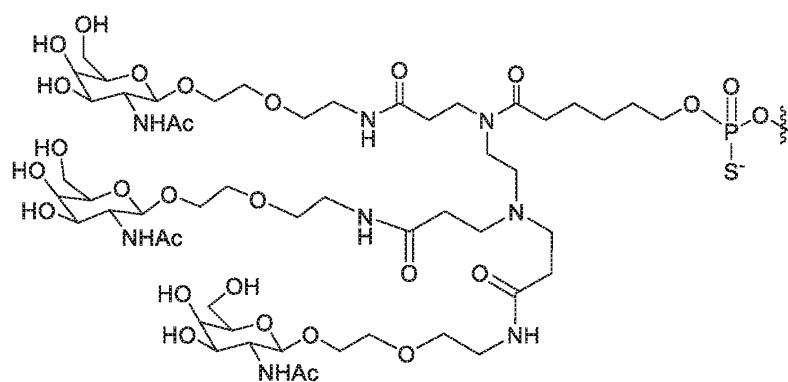
GLO-11,



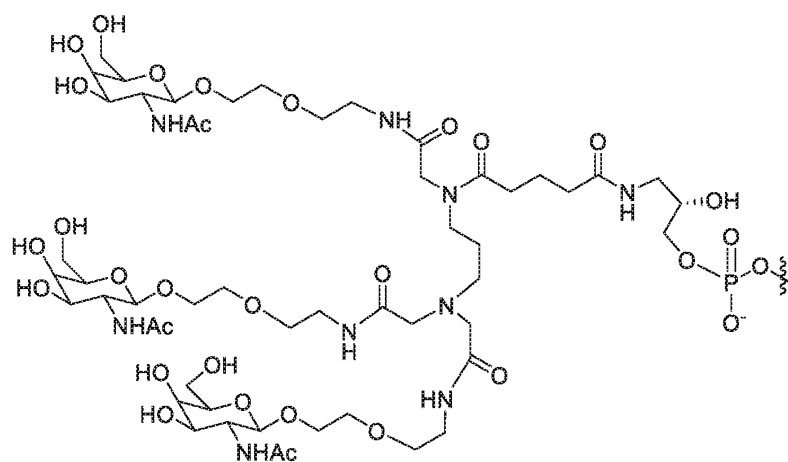
GLS-11,



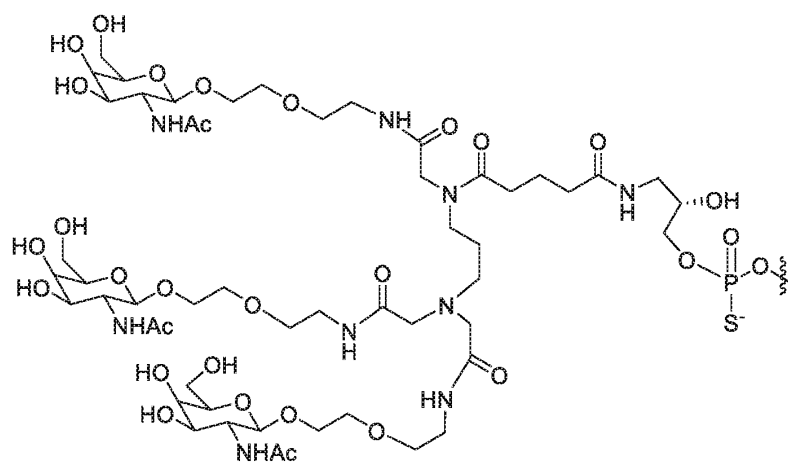
GLO-12,



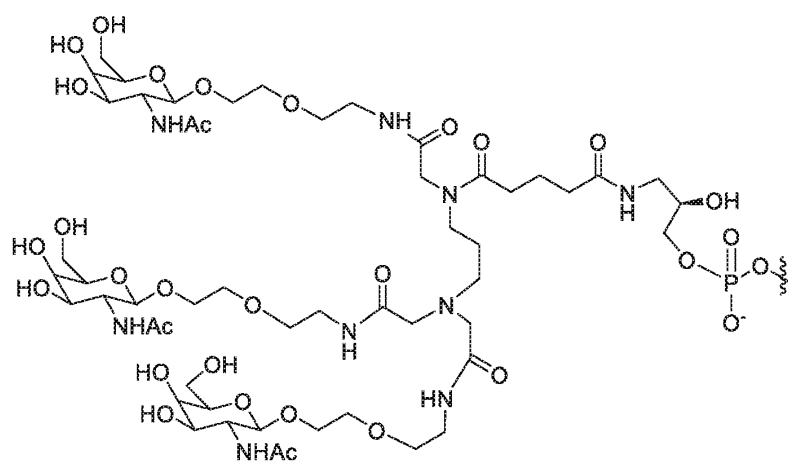
GLS-12,



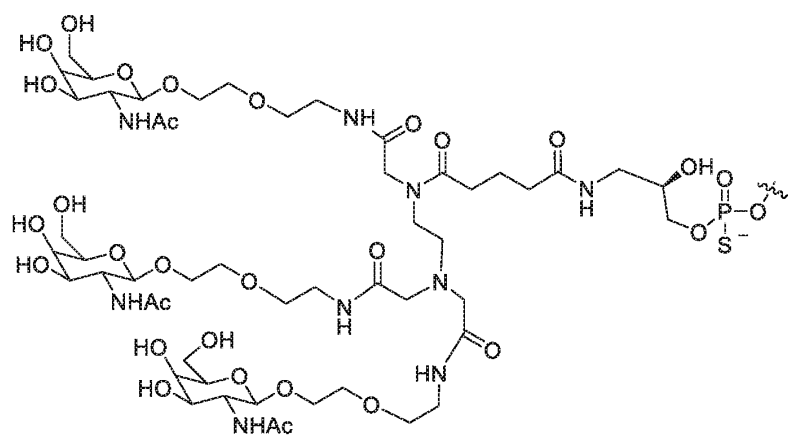
GLO-13,



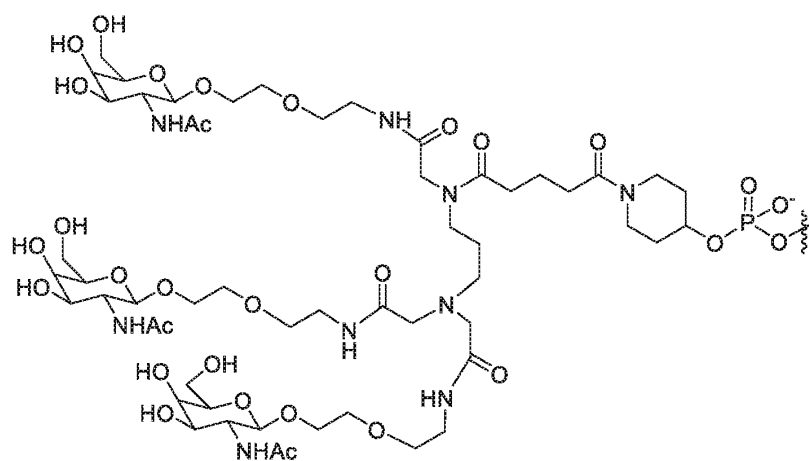
GLS-13,



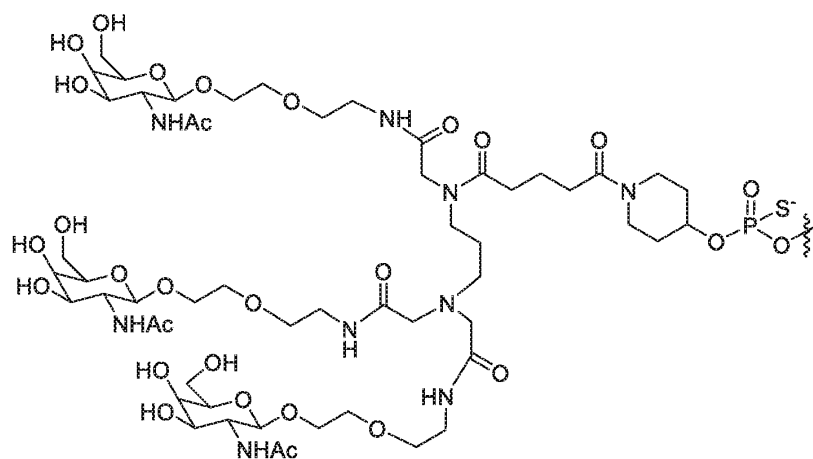
GLO-14,



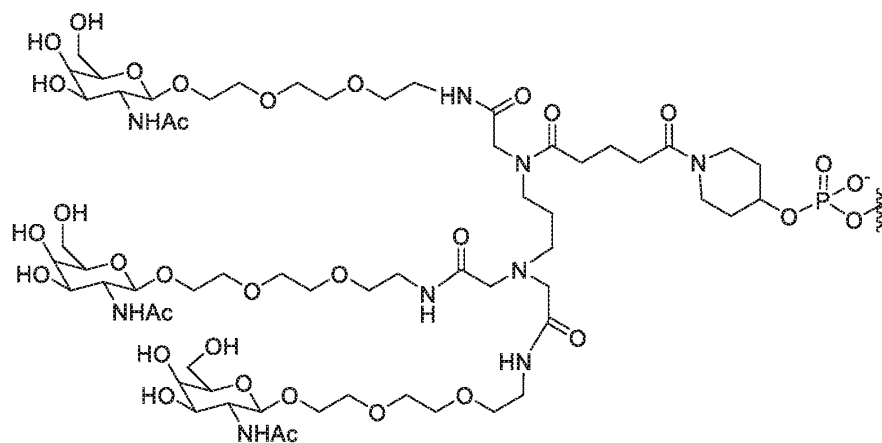
GLS-14,



GLO-15,

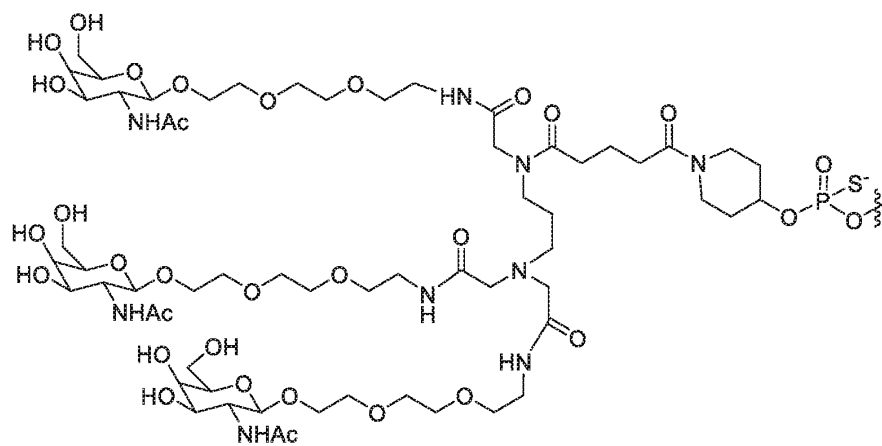


GLS-15,



GLO-16,

或者



GLS-16.

30. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述 dsRNA 试剂包含与所述正义链的 5'-末端缀合的靶向基团。

31. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂, 其中所述 dsRNA 试剂包含与所述正义链的 3'-

末端缀合的靶向基团。

32. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述反义链在 3'-末端包含一个反向无碱基残基。

33. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述正义链在 3'或/和 5'末端包含一个或两个反向无碱基残基。

34. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中所述 dsRNA 试剂具有两个平末端。

35. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中至少一条链包含至少 1 个核苷酸的 3'突出端。

36. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，其中至少一条链包含至少 2 个核苷酸的 3'突出端。

37. 包含权利要求 1 至 36 中任一项所述的 dsRNA 试剂的组合物。

38. 权利要求 37 所述的组合物，其还包含药学上可接受的载体。

39. 权利要求 38 所述的组合物，还包含一种或更多种另外的治疗剂。

40. 权利要求 39 所述的组合物，其中所述组合物被包装在药盒、容器、包装物、分配器、预填充注射器或小瓶中。

41. 权利要求 37 所述的组合物，其中所述组合物被配制成为用于皮下给药或被配制成为用于静脉内（IV）给药。

42. 包含权利要求 1 至 36 中任一项所述的 dsRNA 试剂的细胞。

43. 权利要求 42 所述的细胞，其特征在于，所述细胞是哺乳动物细胞，任选地是人细胞。

44. 抑制细胞中 AGT 基因表达的方法，其包括：

(i) 制备包含有效量的权利要求 1 至 36 中任一项所述的双链核糖核酸（dsRNA）试剂或权利要求 37 至 41 中任一项所述的组合物的细胞。

45. 权利要求 44 所述的方法，其还包括：

(ii) 将权利要求 44 的(i)中制备的细胞维持足够的时间，以获得 AGT 基因的 mRNA 转录物的降解，从而抑制细胞中 AGT 基因的表达。

46. 权利要求 44 所述的方法，其特征在于，所述细胞在对象体内并且将所述 dsRNA 试剂皮下施用至所述对象。

47. 权利要求 44 所述的方法，其中所述细胞在对象体内并且通过 IV 施用将所述 dsRNA 试剂施用至所述对象。

48. 权利要求 46 或 47 所述的方法，其还包括在向所述对象施用所述 dsRNA 试剂之后评估对 AGT 基因的抑制，其中用于评估的手段包括：

(i) 确定对象中 AGT 相关疾病或病症的一种或多种生理特征，以及

(ii) 将所确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征和/或 AGT 相关疾病或病症的对照生理特征进行比较，

其中经过比较表明对象中 AGT 基因表达抑制存在或不存在中的一种或更多种。

49. 权利要求 48 所述的方法，其中所确定的生理特征是高血压，其包括原发性高血压、继发性高血压、高血压急症（如恶性高血压和加速性高血压）、急性高血压、妊娠相关高血压、顽固性高血压。

50. 权利要求 49 所述的方法，其中所述对象的血压的降低表明对象中 AGT 基因表达的降低。

51. 抑制对象中 AGT 基因表达的方法，所述方法包括向对象施用有效量的权利要求 1 至 36 中任一项所述的双链核糖核酸（dsRNA）试剂或权利要求 37 至 41 中任一项所述的组合物。

52. 权利要求 51 所述的方法，其中将所述 dsRNA 试剂皮下施用于所述对象。

53. 权利要求 51 所述的方法，其中所述 dsRNA 试剂通过 IV 给药施用于所述对象。

54. 权利要求 51 至 53 中任一项所述的方法，其还包括在向所述对象施用所述 dsRNA 试剂之后评估对 AGT 基因的抑制，其中用于评估的手段包括：

(i) 确定对象中 AGT 相关疾病或病症的一种或多种生理特征，以及

(ii) 将所确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征和/或 AGT 相关疾病或病症的对照生理特征进行比较，

其中经过比较表明对象中 AGT 基因表达抑制存在或不存在中的一种或更多种。

55. 权利要求 54 所述的方法，其中所确定的生理特征是高血压，其包括原发性高血压、继发性高血压、高血压急症（如恶性高血压和加速性高血压）、急性高血压、妊娠相关高血压、顽固性高血压。

56. 权利要求 55 所述的方法，其中所述对象的血压的降低表明对象中 AGT 基因表

达的降低。

57. 治疗与 AGT 蛋白相关的疾病或病症的方法，所述方法包括向对象施用有效量的权利要求 1 至 36 中任一项所述的双链核糖核酸（dsRNA）试剂或权利要求 37 至 41 中任一项所述的组合物，以抑制 AGT 基因表达。

58. 权利要求 57 所述的方法，其中所述疾病或病症是由以下导致或与其相关：肾素-血管紧张素-醛固酮系统（RAAS）活化或其响应于 RAAS 活化的症状或进展，所述疾病或病症通常与高血压相关，所述高血压包括但不限于以下的一种或多种：高血压病、高血压、临界性高血压、原发性高血压、继发性高血压、孤立性收缩期或舒张期高血压、妊娠相关高血压、糖尿病性高血压、顽固性高血压、难治性高血压、阵发性高血压、肾血管性高血压、戈德布拉特氏（Goldblatt）高血压、眼高血压、青光眼、肺高血压、门脉高血压、系统性静脉高血压、收缩期高血压、不稳定性高血压；高血压性心脏病、高血压性肾病变、动脉粥样硬化、动脉硬化、血管病变、糖尿病性肾病变、糖尿病性视网膜病变、慢性心力衰竭、心肌病变、糖尿病性心肌病变、肾小球硬化症、主动脉狭窄、主动脉瘤、心室纤维化、心力衰竭、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病、肾衰竭、系统性硬化症、宫内发育迟缓（IUGR）、胎儿生长受限。

59. 权利要求 57 所述的方法，其还包括对所述对象施用另外的治疗方案。

60. 权利要求 59 所述的方法，其中所述另外的治疗方案包括：向所述对象施用一种或更多种本发明的 AGT 反义多核苷酸，向所述对象施用非 AGT dsRNA 治疗剂，以及所述对象的行为改变。

61. 权利要求 60 所述的方法，其中所述非 AGT dsRNA 治疗剂是以下中的一种或更多种：另外的治疗剂，如利尿剂、血管紧张素转化酶（ACE）抑制剂、血管紧张素 II 受体拮抗剂、 β -阻滞剂、血管扩张剂、钙通道阻滞剂、醛固酮拮抗剂、 α 2-激动剂、肾素抑制剂、 α -阻滞剂、外周作用肾上腺素能剂、选择性 D1 受体部分激动剂、非选择性 α -肾上腺素能拮抗剂、合成的、甾体抗盐皮质激素剂，或上述任何的组合，及配制成药剂组合的高血压治疗剂。

62. 权利要求 57 所述的方法，其中所述 dsRNA 试剂皮下施用于所述对象。

63. 权利要求 57 所述的方法，其中所述 dsRNA 试剂通过 IV 给药施用于所述对象。

64. 权利要求 57 至 63 中任一项所述的方法，其还包括确定所施用的双链核糖核酸（dsRNA）试剂在所述对象中的功效。

65. 权利要求 64 所述的方法，其中确定治疗在所述对象中的功效的手段包括：

(i) 确定对象中 AGT 相关疾病或病症的一种或多种生理特征，并且

(ii) 将所确定的生理特征与 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征进行比较，

其中通过比较表明对对象施用双链核糖核酸（dsRNA）试剂的功効的存在、不存在和功効水平中的一种或更多种。

66. 权利要求 65 所述的方法，其中所确定的生理特征是：高血压，其包括原发性高血压、继发性高血压、高血压急症（如恶性高血压和加速性高血压）、急性高血压、妊娠相关高血压、顽固性高血压。

67. 权利要求 65 所述的方法，其中所述对象的血压降低表示对对象施用双链核糖核酸（dsRNA）试剂存在功効。

68. 与对象中 AGT 蛋白的基线治疗前水平相比降低对象中 AGT 蛋白水平的方法，所述方法包括向对象施用有效量的权利要求 1 至 36 中任一项所述的双链核糖核酸（dsRNA）试剂或权利要求 37 至 41 中任一项的组合物，以降低 AGT 基因表达水平。

69. 权利要求 68 所述的方法，其中将所述 dsRNA 试剂皮下施用于所述对象或通过 IV 施用于所述对象。

70. 与对象中 AGT 相关疾病或病症的基线治疗前生理特征相比改变对象中 AGT 相关疾病或病症的生理特征的方法，所述方法包括向对象施用有效量的权利要求 1 至 36 中任一项所述的双链核糖核酸（dsRNA）试剂或权利要求 37 至 41 中任一项所述的组合物，以改变对象中 AGT 相关疾病或病症的生理特征。

71. 权利要求 70 所述的方法，其中将所述 dsRNA 试剂皮下施用于所述对象或通过 IV 施用于所述对象。

72. 权利要求 70 所述的方法，其中所述生理特征是高血压，其包括原发性高血压、继发性高血压、高血压急症（如恶性高血压和加速性高血压）、急性高血压、妊娠相关高血压、顽固性高血压。

73. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，包含与式（A）相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的正义链：5'-Z₁AGCUUGUUUGUGAAACZ₂-3' 式（A），其中 Z₁ 为包含 0-15 个核苷酸基序的核苷酸序列，Z₂ 选自 A、U、C、G 中的一种或者不存在。

74. 权利要求 1 所述的 dsRNA 试剂，包含与式（B）相差 0、1、2 或 3 个核苷酸的反义链：5'-Z₃GUUUCACAAACAAGCUZ₄-3' 式（B），其中 Z₃ 选自 A、U、C、G 中的一种或者不存在，Z₄ 为包含 0-15 个核苷酸基序的核苷酸序列。