

一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂及其应用

相关申请的交叉引用

本申请要求于 2022 年 8 月 5 日、2023 年 3 月 17 日和 2023 年 6 月 5 日先后向中国国家知识产权局提交的申请号依次为 202210936491.5、202310260531.3 和 202310655563.3，发明名称依次为“一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂及其应用”、“APOC3 抑制剂及其应用”和“一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂及其应用”的中国专利申请的优先权，其全部内容通过引用方式并入在本申请中。

技术领域

本发明属于生物医药领域，具体涉及一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂及其应用。

背景技术

RNA 抑制剂

RNA 抑制剂(RNA 干扰)于 1998 年，由安德鲁·法厄(Andrew Z. Fire)等在秀丽隐杆线虫中进行反义 RNA 抑制实验时发现，并将这一过程称为 RNA 抑制剂。这一发现被《Science》杂志评为 2001 年的十大科学进展之一，并名列 2002 年十大科学进展之首。自此以后，以 RNA 抑制剂为作用机理的 siRNA 作为潜在的基因治疗药物得到人们广泛的关注，2006 年，安德鲁·法厄与克雷格·梅洛(Craig C. Mello)由于在 RNA 抑制剂机制研究中的贡献获得诺贝尔生理或医学奖。RNA 抑制剂是在许多生物中，包括动物、植物和真菌，都可由双链 RNA (dsRNA)触发的，在 RNA 抑制剂过程中，一种称为“Dicer”的核酸内切酶将长链 dsRNA 切割或“切丁”成 21~25 个核苷酸长的小片段。这些小片段，被称为小干扰 RNA (siRNA)，其中的反义链(Guide strand)被加载到 Argonaute 蛋白(AGO2)上。AGO2 加载发生在 RISC-loading 复合物中，这是一个三元复合物，由 Argonaute 蛋白、Dicer 和 dsRNA 结合蛋白(简称为 TRBP)组成。在装载过程中，正义链(Passenger strand)链被 AGO2 裂解并排出。然后，AGO2 使用反义链与包含完全互补序列的 mRNA 结合，然后催化这些 mRNA 的切割，致使 mRNA 分裂丧失翻译模板的作用，进而阻止相关蛋白质的合成。切割后，被切割的 mRNA 被释放，加载着反义链的 RISC-loading 复合物被循环用于另一轮的切割。

据统计，在人体内的疾病相关蛋白中，大约超过 80%的蛋白质不能被目前常规的小分子药物以及生物大分子制剂所靶向，属于不可成药蛋白。旨在通过基因的表达、沉默等功能治疗疾病的基因治疗被业界认为是继化学小分子药物、生物大分子药物之后的第三代治疗药物，这种疗法在基因水平上实现对疾病的治疗，不受不可成药蛋白的制约。作为基因治疗中 RNA 抑制剂技术最主流的类型，RNA 抑制剂技术是从 mRNA 的水平对疾病进行治疗，相比化学小分子药物及生物大分子药物在蛋白质水平的治疗具有更高的效率。利用 RNA 抑制剂技术，可以根据特定基因序列，设计出特异性高、抑制效果好的 siRNA 的正义链和反义链序列，通过固相合成这些单链序列，然后正义链与反义链在特定的退火缓冲液中按照碱基配对原则配对成 siRNA，最后通过载体系统输送到体内相应靶点，降解目标 mRNA，破坏目标 mRNA 作为翻译模板的功能，从而阻止相关蛋白的合成。

siRNA 的递送系统

siRNA 在血液和组织中不稳定，容易被核酸酶降解，为了提高 siRNA 的稳定性，可以通过对 siRNA 的正义链和/或反义链修饰，但这些化学修饰只提供有限的免受核酸酶降解的保护作用并且可能最终影响 siRNA 的活性。因此，还需要相应的传递系统来保障 siRNA 安全高效的穿过细胞膜。由于 siRNA 分子质量较大，且带有大量负电荷，而且具有高水溶性，所以自身无法顺利穿越细胞膜到达细胞内。

脂质体基本结构是由亲水核和磷脂双分子层构成，具备类似生物膜的磷脂双分子层，拥有很高的生物相容性，所以脂质体一度成为最受欢迎、应用最广泛的 siRNA 载体。脂质体介导的 siRNA 递送主要将 siRNA 包裹到脂质体内，保护 siRNA 不被核酸酶降解，提高 siRNA 的通过

细胞膜障碍的效率,从而促进细胞的吸收。例如阴离子脂质体、pH 敏感性脂质体、免疫脂质体、膜融合脂质体(fusogenic liposome)和阳离子脂质等等,尽管取得了一定的进展,但脂质体本身容易引发炎症反应,给药前必须使用多种抗组胺和激素类如西利替嗪和地塞米松类药物,以减少可能发生的急性炎症反应,因此在实际临床应用中并不适合所有治疗领域,尤其一些慢性疾病治疗领域,长期使用可能产生的积蓄毒性是潜在的安全隐患,因此需要一种更安全有效的载体系统来递送 siRNA。

肝脏中去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR),是肝细胞特异性表达的受体,是一种高效的内吞型受体。由于体内生理情况下各种糖蛋白在酶或酸水解唾液酸后,暴露出的次末端是半乳糖残基,所以 ASGPR 特异性结合的糖为半乳糖基,故又称半乳糖特异性受体。半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺等单糖和多糖分子都对 ASGPR 有高亲和性。ASGPR 主要生理功能是介导血液中去唾液酸糖蛋白、脂蛋白等物质的清除,且与病毒性肝炎、肝硬化、肝癌等肝脏疾病的发生发展有着密切联系。ASGPR 这一特性的发现,对肝源性疾病的诊断及治疗起着重要作用(Ashwell G、Harford J, Carbohydrate specific Receptors of the Liver, Ann Rev Biochem 1982 51:531-554)。结构中含有半乳糖或半乳糖胺及其衍生物的肝源性疾病治疗药物可以特异性地与 ASGPR 亲和,从而具有主动肝靶向性,不需要其它的载体系统来输送。

APOC3 与心脑血管疾病

APOC3(apolipoprotein C-III)为载脂蛋白 C3 的编码基因,全长约 3.1kb,是由 79 个氨基酸残基构成的 8.8kD 的糖蛋白,主要在肝脏合成。APOC3 具有抑制脂蛋白脂酶和肝脂酶活性的功能,干扰 ApoE 介导的富含甘油三酯(TG)的脂蛋白与肝脂酶的结合,影响脂质代谢的平衡,容易导致高甘油三酯血症。大量关联研究显示 APOC3 基因 SstI 酶切位点多态性与高甘油三酯血症有关,因此也可能与高甘油三酯血症引起的其他心血管疾病有一定关联。

APOC3 在富含甘油三酯的脂蛋白代谢中起关键作用。在正常人空腹血浆中主要与高密度脂蛋白胆固醇(HDL-c)(约 70%)结合,而高甘油三酯血症患者血浆 APOC3 水平显著升高,其主要(约 86%)与极低密度脂蛋白(VLDL)结合。

国内外研究表明血浆 APOC3 水平升高可引起高甘油三酯血症,血浆 APOC3 水平与血浆甘油三酯及极低密度脂蛋白中甘油三酯水平呈正相关。目前,已有大量文献报道 APOC3 基因功能与动脉冠状粥样硬化、II型糖尿病、脑梗死等心脑血管疾病都有一定的相关性。

家族性高乳糜微粒血症(FCS),又称脂蛋白脂肪酶缺乏症,是一种罕见的常染色体隐性遗传病,亦称原发性高脂蛋白血症I型,需长期限制饮食中脂肪的含量。2012 年 11 月之前,FCS 并无特效药物可以针对其进行治疗。FCS 的临床特征除了增高的甘油三酯外,还会导致反复发作的胰腺炎。2012 年 11 月,欧盟委员会(EC)已批准了西方世界首个基因治疗药物 Glybera,但是 Glybera 的价格非常昂贵。预计每名患者的花费将高达 125 万欧元(约合 160 万美元)。市场急需一种能够治疗 FCS 的特效药,APOC3 是脂类代谢调节重要的调节剂,APOC3 的功能丢失突变会抑制肝细胞清除富含甘油三酯的脂蛋白颗粒,导致血液中的 TG 水平和 VLDL 水平升高,以及 HDL-c 的水平降低。通过沉默 APOC3 的表达,来降低有害脂蛋白指标(即 TG 和 VLDL 水平),提升“好”胆固醇 HDL-c 的水平。APOC3 小干扰抑制剂正在被开发用于治疗高甘油三酯血症(HTG)、严重高甘油三酯血症(sHTG)和家族性乳糜微粒血症综合征(FCS)。给予治疗乳糜微粒血症新的希望。

现有技术已能采用 RNA 干扰技术抑制 APOC3 基因表达,但是抑制效率和持续性仍然有待提高,市场需要一种具有更高抑制效率、持续作用更久的 RNA 抑制剂。

发明内容

为了解决上述问题,本发明提供了一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐,其通过特异性地干扰 APOC3 基因的 mRNA,破坏其作为翻译模板的功能,阻止 APOC3 蛋白的表达,从而可以预防和/或治疗与 APOC3 基因介导的相关疾病。本发明的 RNA 抑制剂具有优秀的 APOC3 蛋白抑制表达效果,且作用时间持续久,具有很高的医药应用价值。

一方面, 本发明提供了一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其中, RNA 抑制剂由链长各自独立地为 15-30 个核苷酸的正义链和反义链通过碱基配对形成, 其中所述链长各自独立地优选为 19-23 个核苷酸, 并且所述正义链和反义链之间至少有 80% 的碱基互补。

在一些实施方案中, 优选地, 反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列: 5' uugguggcgugcuucauguaatt 3' (SEQ ID NO. 212), 5' uaaccugcugaagcugagatt 3' (SEQ ID NO. 216), 5' uuaacggugcuccaguagucutt 3' (SEQ ID NO. 224), 5' cagagaacuuguccuuaacggtt 3' (SEQ ID NO. 225), 5' uauugaggucucaggcagccatt 3' (SEQ ID NO. 241), 5' ugaaguaggucugaccucaggtt 3' (SEQ ID NO. 255), 5' gcacugagaauacuguccuuu 3' (SEQ ID NO. 256), 5' gcacugagaauacuguccuu3' (SEQ ID NO. 459), 5' acacugagaauacuguccua 3' (SEQ ID NO. 461), 5' ugaauacuguccuuuaagc 3' (SEQ ID NO. 465), 5' cugagaauacuguccuuua 3' (SEQ ID NO. 471), 5' acugagaauacuguccuuua 3' (SEQ ID NO. 472), 5' uaaucuguccuuuaagcaa 3' (SEQ ID NO. 438), 5' ugaggucucaggcagccacgg3' (SEQ ID NO. 600), 5' uggauaggcagguggacuugg3' (SEQ ID NO. 620), 5' caggauaggauaggcaggugga3' (SEQ ID NO. 624), 5' gagcacugagaauacuguccc3' (SEQ ID NO. 668), 5' acacugagaauacugucguc3' (SEQ ID NO. 687), 5' acacugagaauacugcgcuu3' (SEQ ID NO. 700), 5' ucacugagaauacuguccuu 3' (SEQ ID NO. 519);

其中, g=鸟苷酸, a=腺苷酸, u=尿苷酸, c=胞苷酸, t=胸苷酸。

需要说明的是: 至少 15 个连续核苷酸各自独立地表示: 连续 15、16、17、18、19、20、21... 等个核苷酸。相差不多于 3 个核苷酸各自独立地表示: 1 个、2 个或 3 个不同核苷酸。需要说明的是: 以下举例的正义链、反义链并非只能如本发明举例所示的组合方式组成 RNA 抑制剂。只要是互补配对形成双链, 正义链、反义链均可以随意组合, 不受实施例的限制。

在一些实施方案中, 更优选地, 正义链和反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列; 正义链和反义链的序列组合如下所示:

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链 5'→3'
161	S58	uuacaugaagcagccaccaatt	212	AS58	uugguggcgugcuucauguaatt
165	S62	ucucagcuucaugcaggguuatt	216	AS62	uaaccugcugaagcugagatt
173	S70	agacuacuggagcaccguuaatt	224	AS70	uuaacggugcuccaguagucutt
174	S71	ccguuaaggacaaguucucugtt	225	AS71	cagagaacuuguccuuaacggtt
190	S87	uggcugccugagaccuauatt	241	AS87	uauugaggucucaggcagccatt
204	S101	ccugaggucagaccaacucatt	255	AS101	ugaaguaggucugaccucaggtt
205	S102	aaggacaguuucucagugctt	256	AS102	gcacugagaauacuguccuuu
440	S268	gggacaguuucucagugcua	459	AS270	gcacugagaauacuguccuu
442	S270	uaggacaguuuctcagugu	461	AS272	acacugagaauacuguccua
446	S274	gcuuaaaaggacaguuuca	465	AS276	ugaauacuguccuuuaagc
452	S280	aaaggacaguuucucagug	471	AS282	cugagaauacuguccuuua
453	S281	aaggacaguuucucagugc	472	AS283	acugagaauacuguccuuua
702	S194	gcuuaaaaggacaguuuca	438	AS194	uaauacuguccuuuaagcaa
864	S356	guggcugccugagaccucaau	600	AS356	ugaggucucaggcagccacgg
884	S376	aaguccaccugccuauccauc	620	AS376	uggauaggcagguggacuugg
888	S380	caccugccuauccaucugaa	624	AS380	caggauaggauaggcaggugga
931	S423	gggacaguuucucagugcuu	667	AS423	gcacugagaauacuguccuu
932	S424	gacaguuucucagugcucu	668	AS424	gagcacugagaauacuguccc
951	S443	gagcagaguuucucagugu	687	AS443	acacugagaauacugucguc
964	S456	aagcagaguuucucagugu	700	AS456	acacugagaauacugcgcuu
781	S273	aaggacaguuucucaguga	519	AS275	ucacugagaauacuguccuu

其中, g=鸟苷酸, a=腺苷酸, u=尿苷酸, c=胞苷酸, t=胸苷酸。

在本发明所述的 RNA 抑制剂中, 正义链和/或反义链上的一个或多个核苷酸可以被修饰形成带修饰的核苷酸。

优选地, 在本发明所述的 RNA 抑制剂中, 正义链和/或反义链包含至少一个 2'-修饰核苷酸, 2'-修饰核苷酸包括: 2'-O-甲基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟核苷酸、2'-脱氧核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、2'-氨基核苷酸或 2'-烷基核苷酸。

更优选地, 在本发明所述的 RNA 抑制剂中, 正义链和/或反义链包含至少一个 2'-O-甲基核苷酸或 2'-脱氧-2'-氟核苷酸。

优选地, 在本发明所述的 RNA 抑制剂中, 正义链和/或反义链的末端中至少有一个末端的 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。

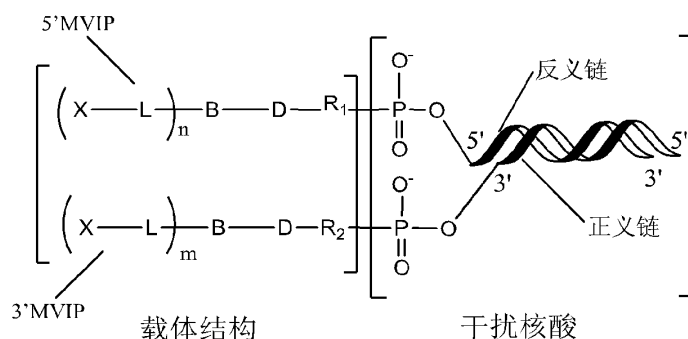
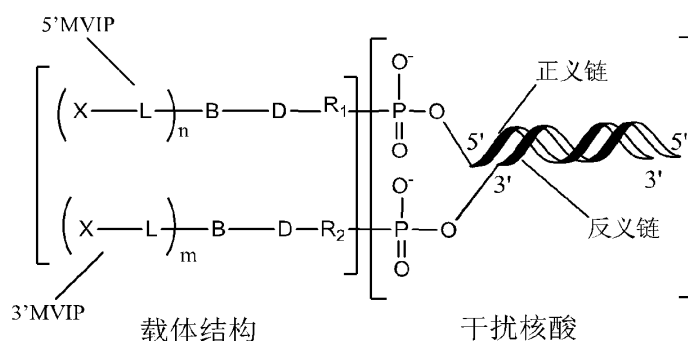
在上述技术方案中, 优选地, 正义链和反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列:

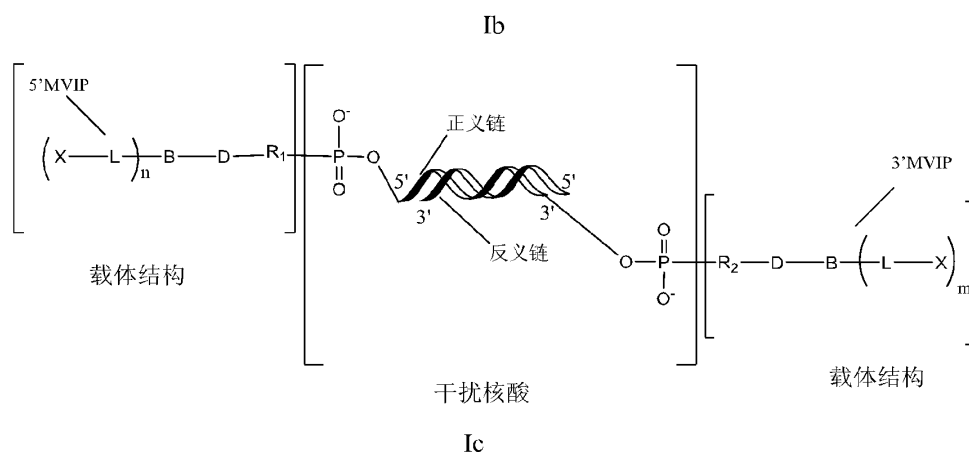
SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
411	S167	UsUsACAUGAfAfGfCACGCCACC sAsA	381	AS167	UsfUsGfGUfGGfCGUGCUfUCfAUGUs AsA
412	S168	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGU sUsA	382	AS168	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAs GsA
417	S173	AsGsACUACUfGfGfAGCACCGUU sAsA	387	AS173	UsfUsAfACfGGfUGCUCCfAGfUAGUs CsU
418	S174	CsCsGUUAAGfGfAfCAAGUUCUC sUsG	388	AS174	CsfAsGfAGfAAfCUUGUCfCUfUAACs GsG
428	S184	UsGsGCUGCCfUfGfAGACCUCAA sUsA	398	AS184	UsfAsUfUGfAGfGUCUCAfGGfCAGCs CsA
435	S191	CsCsUGAGGUfCfAfGACCAACUU sCsA	405	AS191	UsfGsAfAGfUUfGGUCUGfACfCUCAs GsG
436	S192	AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsC	406	AS192	GsfCsAfCUfGfGfAAUACfUGfUCCCU UsUsU
478	S287	GsGsGAfCAfGfUfAUUCUCAGUG CsUsA	507	AS289	GsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs U
481	S290	UsAsGGfGAfCfAfGUAAUUCTCAG UsGsU	510	AS292	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs A
486	S295	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAU UsCsA	515	AS297	UsfGsAfAUfACfUGfUCfCCfUUfUUfA AsGsC
497	S306	AsAsAGfGGfAfCfAGUAUUCUCA GsUsG	526	AS308	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUs UsA
499	S308	AsAsGGfGAfCfAfGUAAUUCUCAG UsGsC	527	AS309	AsCsUGAGfAAUACfUGfUCCCUUsUs A
486	S295	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAU UsCsA	532	AS314	UsAsfAUfACfUGfUCfCCfUUfUUfAAG CsAsA
1028	S457	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCA sAsU	965	AS457	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfA CsfGsG
1029	S458	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCA sUsC	966	AS458	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfU UsfGsG
1030	S459	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCUG	967	AS459	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUG

SEQ ID NO.	单链 代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链 代码	反义链序列 5'→3'
		sAsA			sfGsA
1031	S460	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGC sUsU	968	AS460	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfC CsUsU
1032	S461	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUC sUsU	969	AS461	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfU CsCfCsC
1033	S462	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	970	AS462	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCs fUsC
1039	S468	GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	976	AS468	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGC sUsC
1110	S539	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	1024	AS516	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCs fUsU
1121	S550	AsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAG UsGsA	1151	AS529	UsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs U

其中, G=2'-O-甲基鸟苷酸, A=2'-O-甲基腺苷酸, U=2'-O-甲基尿苷酸, C=2'-O-甲基胞苷酸; fG=2'-氟鸟苷酸, fA=2'-氟腺苷酸, fU=2'-氟尿苷酸, fC=2'-氟胞苷酸, Gs=2'-O-甲基-3'-硫代鸟苷酸, As=2'-O-甲基-3'-硫代腺苷酸, Us=2'-O-甲基-3'-硫代尿苷酸, Cs=2'-O-甲基-3'-硫代胞苷酸, fGs=2'-氟-3'-硫代鸟苷酸, fAs=2'-氟-3'-硫代腺苷酸, fUs=2'-氟-3'-硫代尿苷酸, fCs=2'-氟-3'-硫代胞苷酸, T=胸苷酸。

在技术方案中, 优选地, RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐还含有载体结构, RNA 抑制剂如式 Ia、Ib 或 Ic 所示:

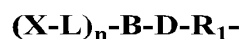




其中,

载体结构包括 5'MVIP 和 3'MVIP;

5'MVIP 由转接点 R_1 、连接链 D、接头 B、支链 L 和肝靶向特异性配体 X 组成, 其通过转接点 R_1 与正义链 5'端或反义链 5'端连接, 其结构如通式 I 所示:



I

3'MVIP 由转接点 R_2 、连接链 D、接头 B、支链 L 和肝靶向特异性配体 X 组成, 其通过转接点 R_2 与正义链 3'端或反义链 3'端连接, 其结构如通式 II 所示:

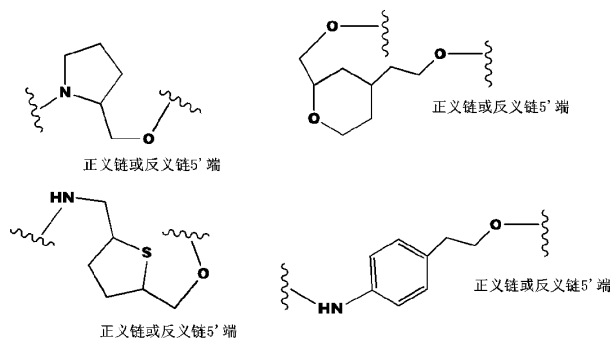


II

其中,

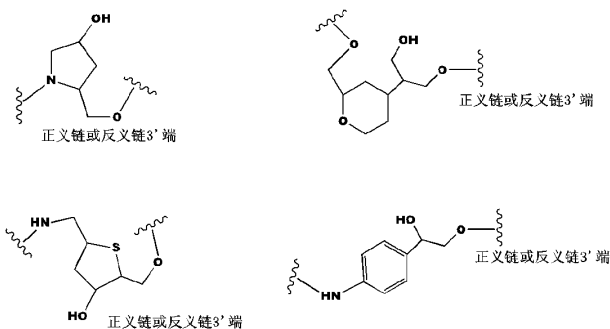
n 和 m 各自独立地为 0-4 的任意整数, 各自独立地优选为 1-3 的整数, 且 $n+m=2-6$ 的整数, 优选 $n+m=2, 3$ 或 4, 更优选为 4;

作为一种实施例, 转接点 R_1 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构:



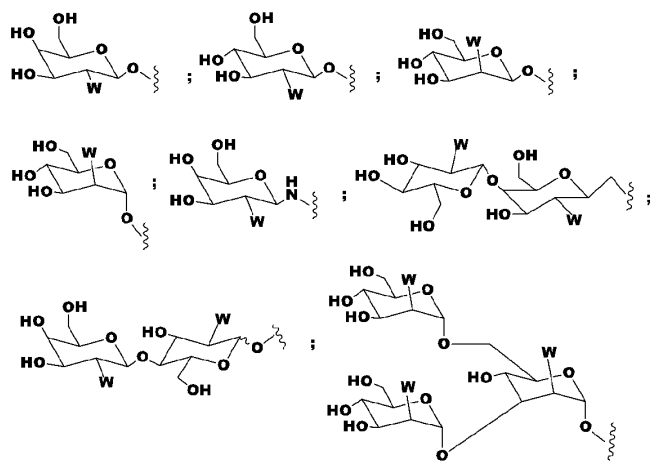
或者, R_1 为 $-NH(CH_2)_xCH_2O-$, 其中 x 为 3-12 的任意整数, 优选为 4-6 的任意整数;

作为一种实施例, 转接点 R_2 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构:



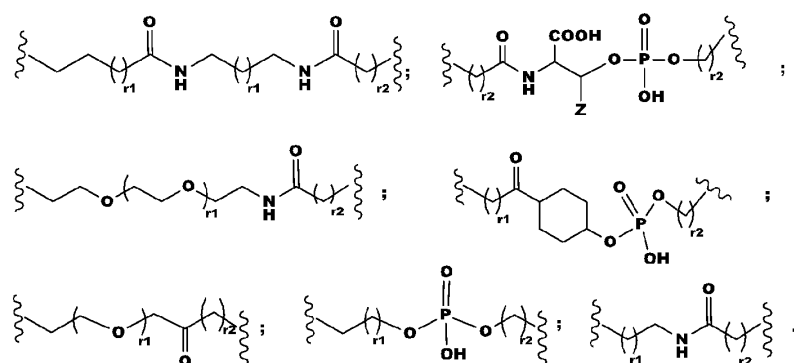
或者, 转接点 R₂ 为 -NH(CH₂)_{x1}CH(OH)(CH₂)_{x2}CH₂O-, 其中 x₁ 为 1-4 的任意整数, x₂ 为 0-4 的任意整数;

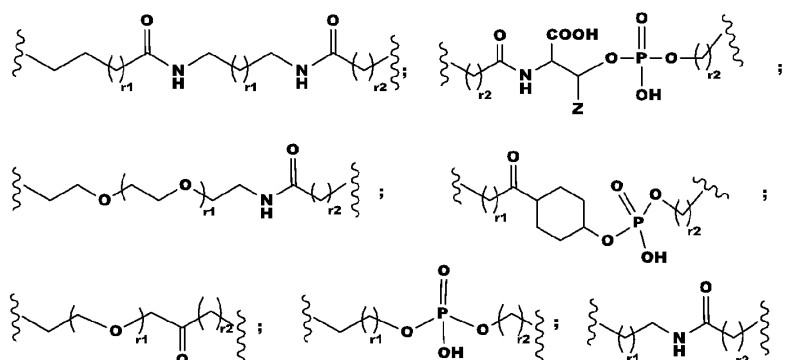
肝靶向特异性配体 X 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同,其选自单糖及其衍生物,优选选自 N-乙酰半乳糖胺及其衍生物,更优选地选自以下结构:



其中, 作为一种实施例, W 选自 -OH、-NHCOOH 和 -NHCO(CH₂)_qCH₃ 中的一种或两种, 其中 q 为 0-4 的整数;

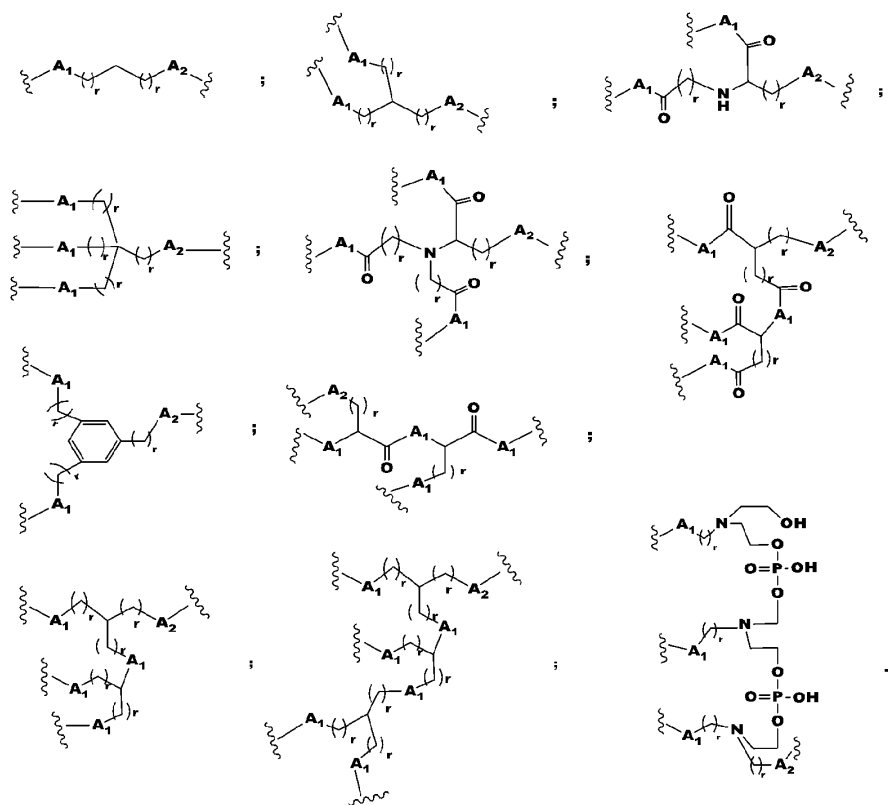
作为一种实施例,支链L在5'MVIP与3'MVIP各自的内部或5'MVIP与3'MVIP之间相同或不同,其选自如下结构中的一种或多种:





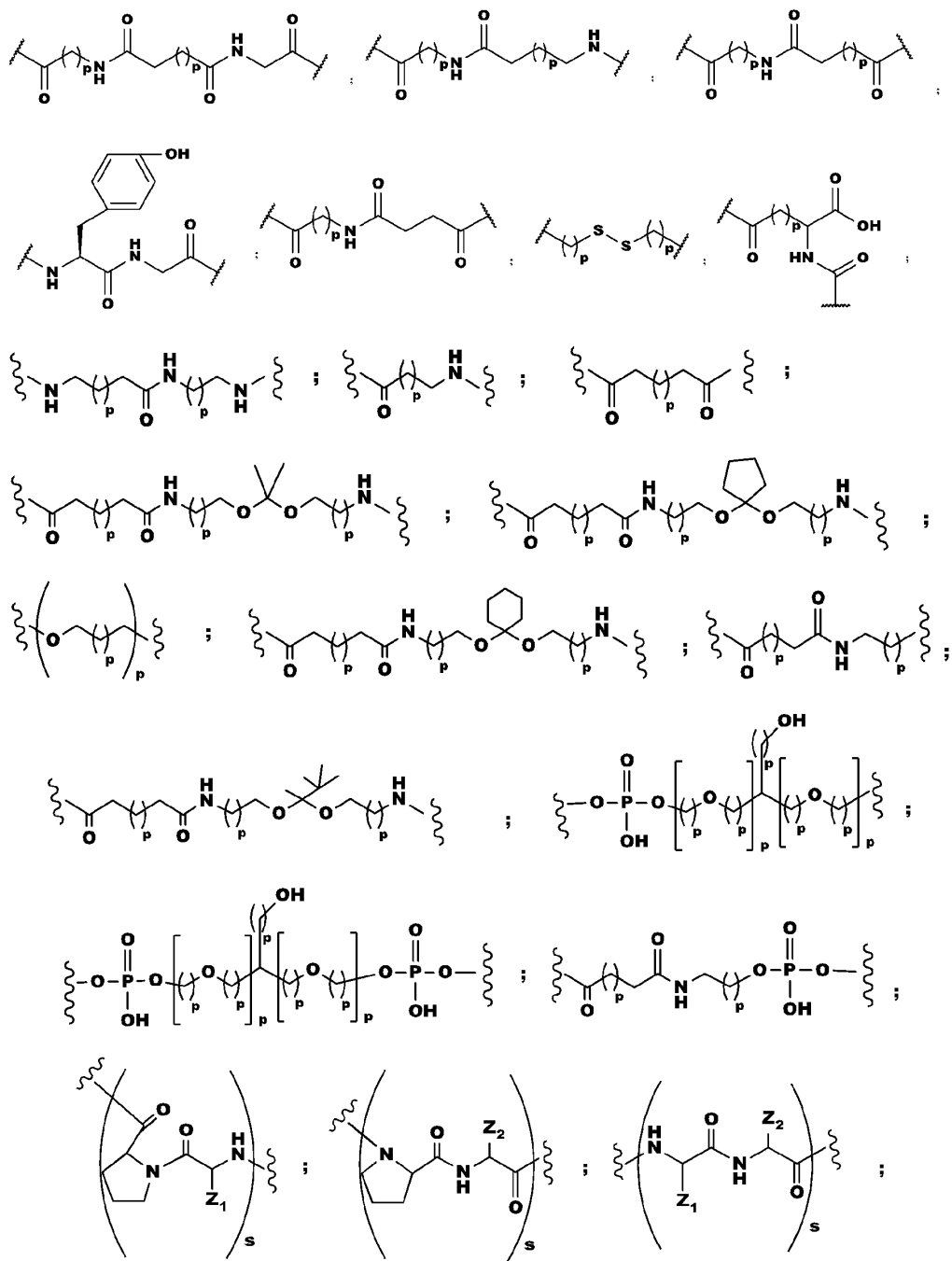
其中, r_1 是 1-12 的任意整数, r_2 为 0-20 的任意整数, Z 为 H、烷基或酰胺基, 烷基如 C_1 - C_5 烷基;

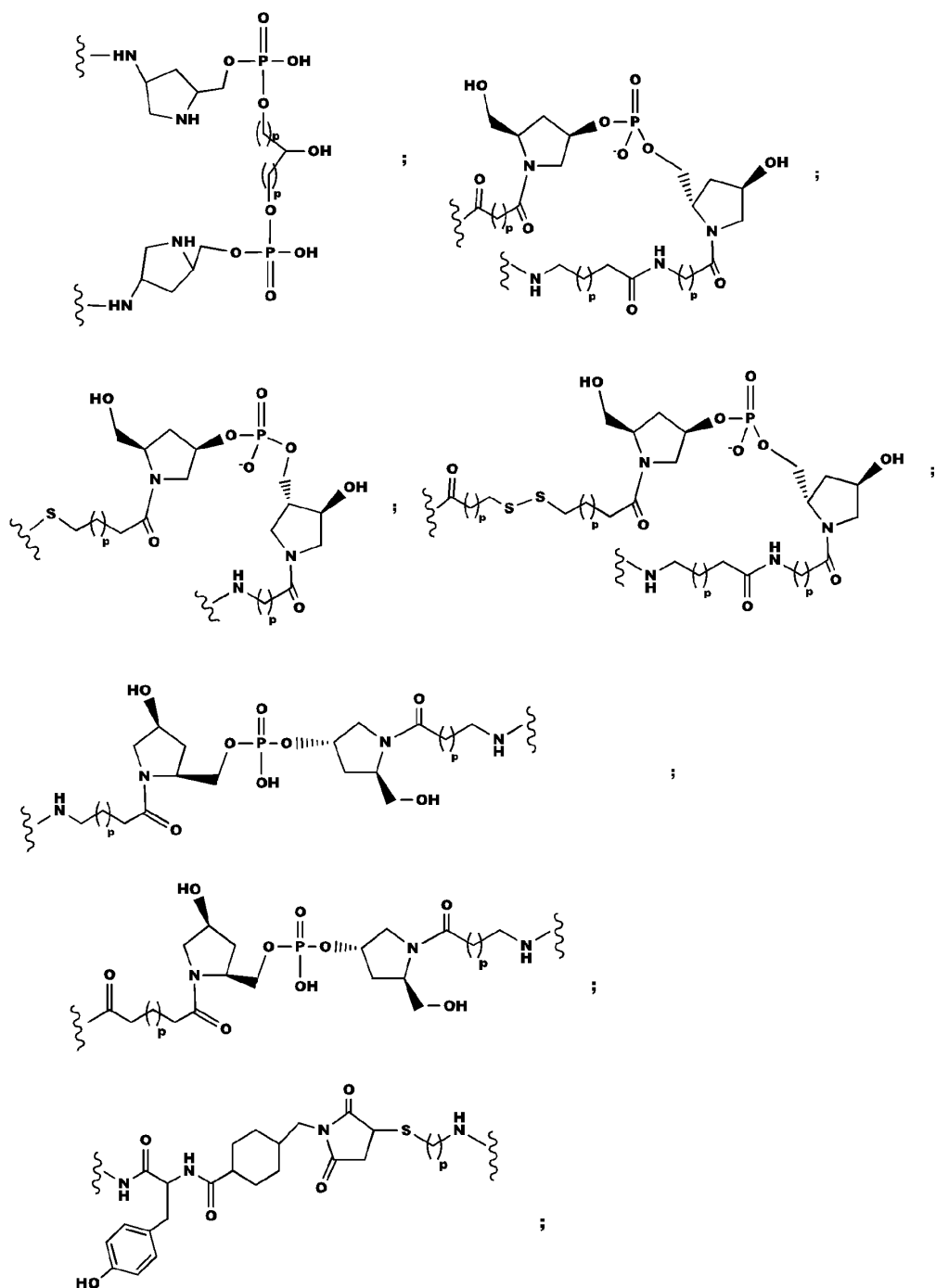
作为一种实施例, 接头 B 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同, 其选自以下结构:



其中, A_1 和 A_2 各自独立地是 C、O、S、-NH-、羰基、酰胺基、磷酰基或硫代磷酰基, r 为 0-4 的任意整数;

作为一种实施例, 连接链 D 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同, 其选自以下结构:





其中，每个 p 各自独立地为 1-20 的任意整数； s 为 2-13 的任意整数； Z_1 和 Z_2 为相同或者不同的取代基团；

需要说明的是：以上结构均非穷举，只要是与本发明的序列连接的载体，无论公开或未公开的递送方式，靶向任何受体或是任何结构均在本发明的保护范围内。

已公开的运载方式包括：偶联载体递送方式，脂质包裹递送方式。偶联载体递送方式包括：胆固醇偶联、抗体偶联、叶酸偶联、GalNac 偶联等；脂质包裹递送方式包括：脂质纳米粒 (LNP)、

多聚体纳米粒、细胞外囊泡等。

进一步优选地,在本发明所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐中,正义链 5'端的载体结构为 5'MVIP17,正义链 3'端的载体结构为 3'MVIP17,正义链 5'MVIP 和反义链 3'MVIP 的组合为 5'MVIP01/3'MVIP01、5'MVIP01/3'MVIP17、5'MVIP17/3'MVIP01 或 5'MVIP09/3'MVIP09,或者所述正义链 5'MVIP 和正义链 3'MVIP 的组合 5'MVIP01/3'MVIP09、5'MVIP09/3'MVIP01 或 5'MVIP01/3'MVIP01。

更进一步优选地,在本发明所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐中,所述 RNA 抑制剂选自 Ky-12-DS23001、Ky-12-DS25001、Ky-12-DS25401、Ky-12-DS29701、Ky-12-DS29801、Ky-12-DS31701、Ky-12-DS31702、Ky-12-DS31703、Ky-12-DS31704、Ky-12-DS31705、Ky-12-DS31706、Ky-12-DS31707、Ky-12-DS31708、Ky-12-DS31709、Ky-12-DS31711、Ky-12-DS31712、Ky-12-DS31713、Ky-12-DS33001、Ky-12-DS33006、Kylo-12-DS1071、Kylo-12-DS1081、Kylo-12-DS1131、Kylo-12-DS1141、Kylo-12-DS1241、Kylo-12-DS1311、Kylo-12-DS1321、Kylo-12-DS5911、Kylo-12-DS2911、Kylo-12-DS2611、Kylo-12-DS2311、Kylo-12-DS3111 和 Kylo-12-DS5411 中。

另一方面,本发明还提供了上述 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗 and/或预防与 APOC3 水平升高相关的疾病的药物中的应用,与 APOC3 的水平升高相关的疾病包括肝源性疾病,其包括炎性、心脑血管和代谢疾病,其中,所述心脑血管疾病包括高脂血症、中风、动脉粥样硬化、血栓、冠心病、主动脉瓣狭窄、高甘油三酯血症(HTG)、严重高甘油三酯血症(sHTG)或家族性乳糜微粒血症综合征(FCS)。

再一方面,本发明提供了一种药物组合物,该药物组合物包括上述抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐和任选的药学上可接受的辅料,其中,所述药学上可接受的辅料可以为药学上可接受的赋形剂、载体和/或稀释剂,该药物组合物的剂型为口服剂、静脉注射剂或者皮下或肌肉注射剂,优选为皮下注射剂。

又一方面,本发明还提供了一种治疗和/或预防与 APOC3 的水平升高相关的疾病、病症或综合征的方法,所述方法包括向有此需要的受试者施用治疗有效量的包含抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐或者包括该 RNA 抑制剂其药学上可接受的盐和任选的药学上可接受的辅料的药物组合物。其中,向受试者施用方式(给药方式)包括口服、静脉注射、皮下或肌肉注射、经直肠或腹膜内施加、雾化吸入。本领域技术人员能够从下文的详细描述中容易地洞察到本申请的其它方面和优势。下文的详细描述中仅显示和描述了本申请的示例性实施方式。如本领域技术人员将认识到的,本申请的内容使得本领域技术人员能够对所公开的具体实施方式进行改动而不脱离本申请所涉及发明的精神和范围。相应地,本申请的附图和说明书中的描述仅仅是示例性的,而非为限制性的。

附图说明

本申请所涉及的发明的具体特征如所附权利要求书所显示。通过参考下文中详细描述示例性实施方式和附图能够更好地理解本申请所涉及发明的特点和优势。对附图简要说明如下:

图 1 是本申请实施例 9 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清中 hAPOC3 平均水平示意图;

图 2 是本申请实施例 10 中 RNA 抑制剂干预后对 APOC3 mRNA 水平抑制效果示意图;

图 3 是本申请实施例 11 中 RNA 抑制剂干预后对 HepG 2 细胞中 APOC3 mRNA 水平抑制效果示意图;

图 4 是本申请实施例 12 中 RNA 抑制剂干预后对 PHH 细胞中 APOC3 mRNA 水平抑制效果示意图;

图 5 是本申请实施例 13 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清的平均 hAPOC3 水平示意图;

图 6 是本申请实施例 13 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清的平均 TG 水平示意图;

图 7 是本申请实施例 14 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清中 hAPOC3 抑制效果示意图;

图 8 是本申请实施例 14 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清中 TC 降低效果示意图;

图 9 是本申请实施例 14 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清中 TG 降低效果示意图;

图 10 是本申请实施例 14 中 RNA 抑制剂干预后 hAPOC3 Tg 小鼠血清中 LDL-c 降低效果示意图;

图 11 是本申请实施例 15 中 RNA 抑制剂干预后高脂食蟹猴血清中 APOC3 抑制效果示意图;

图 12 是本申请实施例 15 中 RNA 抑制剂干预后高脂食蟹猴血清中 TG 降低效果示意图;

图 13 是本申请实施例 15 中 RNA 抑制剂干预后高脂食蟹猴血清中 HDL-c 水平变化示意图;

图 14 是本申请实施例 15 中 RNA 抑制剂干预后高脂食蟹猴血清中 LDL-c 降低效果示意图;

图 15 是本申请实施例 15 中 RNA 抑制剂干预后高脂食蟹猴血清中 TC 降低效果示意图。

具体实施方式

以下由特定的具体实施例说明本发明的实施方式,熟悉此技术的人士可由本说明书所公开的内容容易地了解本申请发明的其他优点及效果。

术语定义

在本申请中, APOC3 mRNA 序列的实例容易利用例如, GenBank、UniProt 和 OMIM 这些公开的数据库取得。术语“APOC3”包括人类 APOC3、食蟹猴 APOC3、猕猴 APOC3、小鼠 APOC3、大鼠(褐家鼠)APOC3、兔(穴兔)APOC3 等;只要是事实存在的具有 APOC3 基因的生物体,均在本发明限定的范围内。人类 APOC3 的 mRNA 序列可见于例如, GenBank NM_000040.3。食蟹猴 APOC3, 其氨基酸及其完全编码序列可以在例如 GenBank 登录号 GI:544489959(XM_05579730.1)中找到;猕猴 APOC3, 其氨基酸及其完全编码序列可以在例如 GenBank 登录号 GI:297269260(XM_001090312.2)中找到;小鼠 APOC3, 其氨基酸及其完全编码序列可以在例如 GenBank 登录号 GI:577019555(NM_023114.4)中找到;大鼠(褐家鼠)APOC3 的氨基酸及其完全编码序列可以在例如 GenBank 登录号 GI:402534545 (NM_012501.2)中找到;和兔(穴兔)APOC3, GenBank 登录号 GI:655601498(XM_002708371.2)。

在本申请中,术语“iRNA”、“RNA 抑制剂”、“iRNA 剂”、“RNA 干扰剂”可交换使用,通常指包含如本发明术语所定义的 RNA 的药剂,且其可通过 RNA 诱导沉默复合物(RISC)途径介导 RNA 转录物的靶向切割。iRNA 经由称为 RNA 干扰(RNA 抑制剂)的过程指导 mRNA 的序列特异性降解。iRNA 调控(例如,抑制)APOC3 基因在细胞(例如,受试者如哺乳动物受试者中的细胞)中的表达。

在某些实施方式中, RNA 抑制剂可为引入细胞或生物体中来抑制靶 mRNA 的单链 siRNA(ssRNA 抑制剂)。单链 RNA 抑制剂结合 RISC 内切核酸酶 Argonaute 2, 其然后切割靶 mRNA。单链 siRNA 一般为 15 至 30 个核苷酸且经化学修饰。

在某些实施方式中,本申请所使用的“iRNA”是双链 RNA,且本发明中称为“双链 RNA 抑制剂”、“双链 RNA(dsRNA)分子”、“dsRNA 剂”或“dsRNA”。术语“dsRNA”指核糖核酸分子的复合物,其具有包含两个反向平行且基本上互补的核酸链的双链体结构,称为具有相对于靶 RNA(即 APOC3 基因)的“正义”和“反义”取向。在本申请的一些实施方式中,双链 RNA(dsRNA)通过转录后基因沉默机制(本发明中称为 RNA 干扰或 RNA 抑制剂)触发靶 RNA(例如, mRNA)的降解。

双链体结构可为容许所需的靶 RNA 通过 RISC 途径的特异性降解的任何长度,且可在约 19 至 36 碱基对的长度范围内,例如,约 19-30 碱基对的长度,例如,约 19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35 或 36 碱基对的长度。上述范围与长度中间的范围与长度也包括为本申请的部分。在某些实施方式中,本申请的 iRNA 剂为各链包含 15-23 个核苷酸的 dsRNA,其与靶 RNA 序列(例如, APOC3 基因)相互作用以指导靶 RNA 的切割。在某些实施方式中,本申请的 iRNA 为 24-30 个核苷酸的 dsRNA,其与靶 RNA 序列(例如,

APOC3 靶 mRNA 序列)相互作用以指导靶 RNA 的切割。

通常, dsRNA 分子的各链的大多数核苷酸为核糖核苷酸, 但如本发明详细说明书的, 各链或两条链也可包括一个或多个非核糖核苷酸, 例如, 脱氧核糖核苷酸或修饰的核苷酸。此外, 本说明书所用“iRNA”可包括具有化学修饰的核糖核苷酸; iRNA 可在多个核苷酸处包括实质修饰。本发明所用术语“修饰的核苷酸”意指独立地具有修饰的糖部分、修饰的核苷酸间连接或修饰的核碱基, 或其任何组合的核苷酸。因此, 术语“修饰的核苷酸”涵盖对核苷酸间连接、糖部分或核碱基的例如官能团或原子的置换、添加或移除。适用于本申请药剂的修饰包括本发明所公开或本领域已知的所有类型的修饰。

在本申请中, 术语“核酸”和“多核苷酸”可互换使用, 并指任何长度的核苷酸(脱氧核糖核苷酸或者核糖核苷酸或者其类似物)的聚合形式。多核苷酸可以具有任何三维结构并且可以执行任何功能。以下是多核苷酸的非限制性实例: 基因或基因片段(例如探针、引物、EST 或 SAGE 标签)、外显子、内含子、信使 RNA(mRNA)、转移 RNA、核糖体 RNA、核酶、cDNA、重组多核苷酸、分支的多核苷酸、质粒、载体、任何序列的分离的 DNA、任何序列的分离的 RNA、核酸探针、siRNA、miRNA、shRNA、RNA 抑制剂试剂和引物。多核苷酸可以在一个或多个碱基、糖和/或磷酸酯处以本申请所述或本领域已知的任何各种修饰或取代进行修饰或取代。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸, 例如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。如果存在, 可以在聚合物组装之前或之后对核苷酸结构进行修饰。核苷酸序列可以被非核苷酸组分阻断。多聚核苷酸可以在聚合后修饰, 例如通过与标记组分偶联。该术语可以是双链和单链分子。除非另有说明或要求, 否则本申请作为多核苷酸的任何实施方式包括双链形式和已知或据预测构成双链形式的两种互补单链形式中的每一种。

在本申请中, 术语“靶核酸”或“靶序列”通常指在 APOC3 基因转录期间所形成 mRNA 分子的核苷酸序列的连续部分, 包括作为主要转录产物的 RNA 加工产物的 mRNA。序列的靶部分应至少足够长以作为在 APOC3 基因转录期间形成的 mRNA 分子的核苷酸序列的该部分位置处或附近 iRNA 指导的切割的底物。在一个实施方式中, 该靶序列在 APOC3 的蛋白质编码区内。靶序列可为约 19-36 个核苷酸的长度, 例如, 优选约 19-30 个核苷酸的长度。上述范围和长度中间的范围和长度也包括为本申请的部分。

在本申请中, 术语“核苷酸序列”通常是指一连串或一定顺序的核碱基、核苷酸和/或核苷, 无论是经修饰还是未修饰, 使用标准核苷酸命名和本申请所述的经修饰的核苷酸的符号表用一连串字母描述。

在本申请中, 术语“寡核苷酸”通常是指由多个核苷酸残基(脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸, 或其相关的结构变体或合成类似物)通过磷酸二酯键(或其相关的结构变体或合成类似物)连接组成的聚合物。因此, 虽然术语“寡核苷酸”一般指其中核苷酸残基和它们之间的连接是天然产生的核苷酸聚合物, 但应理解, 该术语的范围也包括各种类似物, 包括但不限于: 肽核酸(PNA)、氨基磷酸酯、硫代磷酸酯、甲基膦酸酯、2-O-甲基核糖核酸等。该分子的确切大小可取决于具体应用。寡核苷酸一般长度较短, 通常约有 10-30 个核苷酸残基, 但该术语也可指任何长度的分子, 尽管术语“多核苷酸”或“核酸”一般用于较大的寡核苷酸。

在某些实施方式中, 寡核苷酸包含一个或多个未修饰的核糖核苷酸(RNA)和/或未修饰的脱氧核糖核苷酸(DNA)和/或一个或多个修饰核苷酸。术语“修饰寡核苷酸”通常意指包含至少一个修饰核苷酸和/或至少一个修饰的核苷间键联的寡核苷酸。

在本申请中, 术语“修饰的核苷”通常意指与天然存在的 RNA 或 DNA 核苷相比包含至少一个化学修饰的核苷。修饰的核苷包含修饰的糖部分和/或修饰的核碱基。

在本申请中, 术语“核碱基”通常意指杂环嘧啶或嘌呤化合物, 它是所有核酸的组分且包括腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶。核苷酸可包括经修饰的核苷酸或核苷酸模拟物、无碱基位点(Ab 或 X)或替代物替代部分。如本申请所使用, “核碱基序列”通常意指不依赖于任何糖、键联或核碱基修饰的连续核碱基的顺序。术语“未修饰的核碱基”或“天然存在的核碱基”

通常意指 RNA 或 DNA 的天然存在的杂环核碱基：嘌呤碱基腺嘌呤和鸟嘌呤；以及嘧啶碱基胸腺嘧啶、胞嘧啶和尿嘧啶。“修饰的核碱基”通常意指并非天然存在的核碱基的任何核碱基。

“g”、“c”、“a”、“t”和“u”各自通常代表分别含有鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶作为碱基的核苷酸。然而，应当理解，术语“核糖核苷酸”或“核苷酸”也可以指经修饰的核苷酸，具体可以参考表 1、2。本领域技术人员非常清楚鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶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。例如但不限于，包含 i（肌苷酸），也叫次黄嘌呤，可以与 a、c、u 进行碱基配对，有些情况下 i 也可与 g 配对，该现象称为摆动现象。因此，包含 a、c 或 u 的核苷酸可以在本申请内容中表征的 dsRNA 的核苷酸序列中被包含例如 i 的核苷酸替换。在另一种实施例中，寡核苷酸中任何地方的 a 和 c 可以分别替换为 g 和 u，以形成与靶 mRNA 的 g-u 摆动碱基配对。含有此类置换部分的序列适用于本申请内容中的组成物和方法。

在本申请中，术语“糖部分”通常意指核苷的天然存在的糖部分或修饰的糖部分。术语“天然存在的糖部分”通常意指如在天然存在的 RNA 中发现的呋喃核糖基或如在天然存在的 DNA 中发现的脱氧呋喃核糖基。“修饰的糖部分”意指取代的糖部分或糖替代物。

在本申请中，术语“核苷间键联”通常意指寡核苷酸中相邻核苷之间的共价键联。“天然存在的核苷间键联”意指 3' 至 5' 磷酸二酯键联。“修饰的核苷间键联”意指除了天然存在的核苷间键联之外的任何核苷间键联。

在本申请中，术语“反义寡核苷酸”是指单链寡核苷酸分子，其具有与靶核酸（例如，目标基因组序列，mRNA 前体，或 mRNA 分子）的相应片段互补的核碱基序列。在某些实施方案中，反义寡核苷酸的长度为 12 至 30 个核碱基。在某些实施方案中，反义寡核苷酸是具有与靶核酸（如 APOC3 多核苷酸）序列互补的核苷酸序列的未经修饰或经修饰的核酸。

在本申请中，术语“反义链”通常是指 RNA 抑制剂（例如 dsRNA）的包括与靶序列实质上互补的区域的链。在本发明中使用，术语“互补性区域”通常指反义链上与本申请定义的序列（例如靶序列）实质上互补的区域。当互补性区域与靶序列不完全互补时，错配可以在分子的内部或末端区域。通常，最被容许的错配在末端区域，例如，在 5' 端和/或 3' 端的 5、4、3 或 2 个核苷酸内。

在本申请中，术语“正义链”(S)通常是指 RNA 抑制剂的这样一条链，所述链包括与作为在此定义的术语反义链的区域基本互补的区域。“正义”链有时被称为“有义”链，“过客”链或“反引导”链。借助它们的序列，反义链靶向所希望的 mRNA，同时正义链靶向不同靶标。因此，如果反义链被掺入 RISC 中，则正确的靶标被靶向。正义链的掺入可以导致脱靶效应。这些脱靶效应可以通过在正义链上使用修饰或使用 5' 端帽加以限制。

在本申请中，术语“互补”当用于描述就第二核苷酸序列（如 RNA 抑制剂反义链）而言的第一核苷酸序列（如 RNA 抑制剂正义链或 APOC3 mRNA）时是指包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一定条件下与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交（形成碱基对氢键）并形成双链体或双螺旋结构的能力。互补序列包括沃森-克里克碱基对（Watson-Crick base pairs）或非沃森-克里克碱基对，并且包括天然或经修饰的核苷酸或核苷酸模拟物，只要以上关于它们的杂交能力而言的需求得以实现。“互补”不必需在每个核苷上均具有核碱基互补性。相反，可以容忍一些错配。

在本申请中，术语“完全互补”通常意指第一多核苷酸的连续序列中的全部（100%）碱基将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一部分。如本申请所用，“部分互补”通常意指在杂交的核碱基序列对中，第一多核苷酸的连续序列中至少约 70% 的碱基将与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。如本申请所用，“基本上互补”通常意指在杂交的核碱基序列对中，第一多核苷酸的连续序列中至少约 80% 的碱基将与第二多核苷酸的连续序列中相同数目的碱基杂交。如本申请所用的术语“互补”、“完全互补”和“基本上互补”可以就在 RNA 抑制剂的正义链与反义链之间或者在 RNA 抑制

剂的反义链与 APOC3 mRNA 的序列之间的碱基匹配而言使用。序列同一性或互补性不依赖于修饰。为了测定同一性或互补性的目的,例如, A 和 tA 与 U(或 T)互补并且与 a 同一。

在本申请中,术语“同源的”或“同源性”通常是指已经与参考核酸序列的相同核苷酸匹配的主题核酸序列的核苷酸的数量,通常通过序列分析程序(例如, Karlin 和 Altschul, 1990, PNAS 87:2264-2268; Karlin 和 Altschul, 1993, PNAS 90:5873-5877),或通过目视检查确定。如本发明所使用的,术语“完全同源性”或“完全同源的”一般是指在参考序列和主题核酸序列之间的完全(100%)同源性或“同一性”。如本发明所使用的,术语“基本上同源的”或“基本上同源性”一般是指主题序列与参考序列中相同核苷酸位置的核苷酸共有至少 50%(例如,至少 55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%)的同源的核苷酸。

在本申请中,术语“配体”通常是指能够共价地或以其它化学方式与生物活性物质(如寡核苷酸)结合的任何化合物或分子。在某些实施方式中,配体能够与另一种化合物例如受体直接或间接地相互作用,与配体相互作用的受体可以存在于细胞表面上,或可替代地可以是细胞内和/或细胞间受体,配体与受体的相互作用可以导致生化反应,或可以仅仅是物理相互作用或结合。

在本申请中,术语“诱导”、“抑制”、“加强”、“升高”、“增加”、“减少”、“降低”等通常表示两个状态之间的定量差异。例如,“有效抑制 APOC3 的活性或表达的量”意指处理样品中 APOC3 的活性或表达的水平将低于未处理样品中 APOC3 活性或表达的水平。所述术语例如适用于表达水平和活性水平。术语“减少”和“降低”可互换使用并且通常表示小于原来的任何变化。“减少”和“降低”是相对的术语,需要在测量前和测量后间进行比较。“减少”和“降低”包括完全耗竭。

在某些实施方式中,术语“降低”可以通过本领域已知标准方法(诸如本申请中描述的那些)检测的,基因、基因产物例如蛋白质或生物标志物在第一样品中的表达水平/量与相应基因、基因产物例如蛋白质或生物标志物在第二样品中的表达水平/量相比约 5%、10%、20%、25%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、95%、或 100%的总体降低。在某些实施方式中,术语“降低”指第一样品中基因或生物标志物的表达水平/量的降低,其中该降低是第二样品中相应基因或生物标志物的表达水平/量的至少约 0.9 倍、0.8 倍、0.7 倍、0.6 倍、0.5 倍、0.4 倍、0.3 倍、0.2 倍、0.1 倍、0.05 倍、或 0.01 倍。在某些实施方式中,第一样品是自受试者获得的样品,而第二样品是参照样品。

在本申请中,术语“表达”通常意指基因最终产生蛋白质的过程。表达包括但不限于转录、转录后修饰(例如,剪接、聚腺苷酸化、添加 5'-帽)以及翻译。

在本申请中,术语“药学上可接受的”通常是指不干扰活性成分生物学活性的有效性的一种或多种无毒物质。这类制剂通常可含有盐、赋形剂、缓冲剂、防腐剂、相容性载体和任选的其它治疗剂。这类药学上可接受的制剂通常也可包含适合给予人的相容性固体或液体填料、稀释剂或包囊材料。用于医药时,盐应该是药学上可接受的盐,但可方便地使用非药学上可接受的盐来制备药学上可接受的盐,不能将它们排除在本申请范围以外。这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:氢氯酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、马来酸、乙酸、水杨酸、柠檬酸、硼酸、甲酸、丙二酸、琥珀酸等。药学上可接受的盐也可制备成碱金属盐或碱土金属盐,如钠盐、钾盐或钙盐。

在本申请中,术语“脂质纳米颗粒”或“LNP”通常指包含包封药理活性分子(如核酸分子,例如, iRNA 或 iRNA 从其转录的质粒)的纳米颗粒。所述 iRNA 可不含有配体或含有配体,如 GalNAc 衍生物。LNP 描述于例如,中国专利号 CN103189057B 中,其完整内容以引用方式并入本文中。

在本申请中,术语“预防和/或治疗”不仅包括预防和/或治疗疾病,还通常包括预防疾病的发作,减缓或逆转疾病的进展,预防或减缓与疾病相关的一种或多种症状的发作,减少和/或减轻与疾病相关的一种或多种症状,降低疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度和/或持续时间和/或预防疾病和/或与其相关的任何症状的严重程度的进一步增加,预防、减少或逆转由疾病引起的任何生理损伤,以及通常对正在治疗的患者有益的任何药理学作用。本申请的 RNA 抑

制剂或药物组合物形成可行的治疗剂不需要实现完全治愈或根除疾病的任何症状或表现。如在相关领域中所认识到的, 用作治疗剂的药物可降低给定疾病状态的严重程度, 但不需要消除疾病的每种表现才能被认为是有用治疗剂。类似地, 预防性施用的治疗构成可行的预防剂不需要完全有效地预防病症的发作。简单地在受试者中减少疾病的影响(例如, 通过减少其症状的数量或严重程度, 或通过提高另一种治疗的有效性, 或通过产生另一种有益效果), 或减少疾病发生或恶化的可能性就足够了。

在本申请中, 术语“疾病”或“病症”可以互换使用, 通常是指受试者与正常状态的任意偏离, 例如身体或某些器官的状态的任何变化, 妨碍或扰乱了功能的履行, 和/或在患病或与其接触的人中引起症状例如不适、机能障碍、痛苦或甚至死亡。疾病或病症还可以称为失调、不适、小病、疾病、紊乱、疾病、生病和身体不适。

本申请中, 术语“施用”通常是指通过任意引入或递送途径将本申请药物制剂引入受试者的身体中。可以采用本领域技术人员已知的用于使细胞、器官或组织与所述药物接触的任何方法。所述施用可以包括而限于静脉内、动脉内、鼻内、腹内、肌内、皮下透皮或口服。每日剂量可以划分成一个、两个或更多个合适形式的剂量以在某个时间段期间的一个、两个或更多个时间施用。

在本申请中, 术语“接触”通常是指两种两个或更多个不同类型的物质以任何顺序、任何方式以及任何时长接触在一起。接触可以发生在体内(in vivo)、间接体内(ex vivo)或体外(in vitro)。在某些实施方式中, 可以是指使本申请的 RNA 抑制剂或组合物直接接触细胞或组织。在另一些实施方式中, 该术语是指使本申请的 RNA 抑制剂或组合物间接接触细胞或组织。例如, 本申请的方法包括其中受试者接触本申请的 RNA 抑制剂或组合物, 然后 RNA 抑制剂或组合物通过扩散或本领域已知的任何其他主动运输或被动运输过程(化合物通过该过程在体内循环)接触细胞或组织的方法。

在本申请中, 术语“有效量”或“有效剂量”通常是指足以实现或至少部分实现所需效果的量。药物或治疗剂的“治疗有效量”或“治疗有效剂量”通常是当单独使用或与另一种治疗剂组合使用时促进疾病消退(这通过疾病症状严重程度的降低、疾病无症状期的频度和持续时间的增加、或者由于罹患疾病而引起的损害或残疾的预防来证明)的任何药物量。药物的“预防有效量”或“预防有效剂量”通常是指当单独或与另一种治疗剂组合给有疾病发展或疾病复发的风险的受试者施用时抑制疾病的发展或复发的药物量。可以使用本领域技术人员已知的多种方法对治疗剂或预防剂促进疾病消退或抑制疾病发展或复发的能力进行评估, 比如在处于临床试验期间的人类受试者中、在动物模型系统中预测对人类的功效、或者通过在体外测定中测定药剂的活性。在某些实施方式中, “有效量”是指产生预期药理学、治疗性或预防性结果的 RNA 抑制剂的量。

在本申请中, 术语“受试者”通常是指需要诊断、预后、改善、预防和/或治疗疾病的人或非人动物(包括哺乳动物), 诸如人、非人灵长类动物(猴、长臂猿、大猩猩、黑猩猩、猩猩、猕猴)、家畜(狗和猫)、农场动物(家禽如鸡和鸭、马、牛、山羊、绵羊、猪)和实验动物(小鼠、大鼠、兔、豚鼠)。人受试者包括胎儿、新生儿、婴儿、青少年和成人受试者。受试者包括动物疾病模型。

在本申请中, 术语“包括”、“包含”、“具有”、“可以”、“含有”及其变体通常旨在是开放式过渡性短语、术语或词语, 其不排除额外行为或结构的可能性。术语“由.....组成”通常表示不能存在别的组分(或同样地, 特征、整数、步骤等)。

在本申请中, 术语“约”通常意指大约、在.....的附近、粗略地、或左右。当术语“约”当用于指涉数值范围时, 截值或特定数值用于指示所载明的数值可与该列举数值有多达 10% 的差异。因此, 术语“约”可用于涵盖自特定值 $\pm 0\%$ 或更少的变异、 $\pm 5\%$ 或更少的变异、 $\pm 1\%$ 或更少的变异、 $\pm 0.5\%$ 或更少的变异、或 $\pm 0.1\%$ 或更少的变异。

应理解, 数字或一系列数字之前的术语“至少”包括与该术语“至少”相邻的数字, 及逻辑上包括在内的所有后续数字或整数, 即“大于等于”。例如, 核酸分子中的核苷酸数目必需为整数。

例如,“至少 15 个核苷酸”意指 15、16、17、18、19、20、21 或更多个核苷酸;“至少 16 个核苷酸”意指 16、17、18、19、20、21 或更多个核苷酸;“至少 17 个核苷酸”意指 17、18、19、20、21 或更多个核苷酸;以此类推,当“至少”出现在一系列数字或范围之前时,应理解“至少”可修饰该系列或范围中每一个数字。

应理解本发明中采用的“不多于”指与该数值相邻且逻辑上较低的值或整数,即“小于等于”,如从上下文逻辑而言,至零。例如,具有“不多于 3 个核苷酸”指具有 3、2 或 1 个核苷酸。当“不多于”出现在一系列数字或范围之前时,应理解,“不多于”可修饰该系列或范围内每个数字。本发明所采用范围同时包括上限与下限。

发明详述

一方面,本发明提供了一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐。

在某些实施方式中,所述 RNA 抑制剂包括用于抑制在细胞中,如受试者(例如,哺乳动物,如易于发生 APOC3 相关障碍例如高脂血症的人)的细胞中, APOC3 基因的表达的单链寡核苷酸或双链核糖核酸(dsRNA)分子。其中,该 dsRNA 包括反义链,其具有与在 APOC3 基因的表达中所形成 mRNA 的至少一部分互补的互补区。该互补区为约 15-30 个核苷酸长度(例如,约 30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16 或 15 个核苷酸长度)。

dsRNA 包括两个 RNA 链,其可在 dsRNA 使用的条件下互补并杂交形成双链体结构(互补区)。dsRNA 的一条链(反义链)包括与靶序列基本上互补且通常完全互补的互补区。靶序列可源自 APOC3 基因表达期间形成 mRNA 的序列。另一条链(正义链)包括与反义链互补的区域,使得在合适条件下组合时,两条链可杂交并形成双链体结构。通常,双链体结构的长度为 15 至 30 个碱基对。类似地,与靶序列的互补区的长度为 15 至 30 个核苷酸。

在某些实施方式中,dsRNA 为约 19 至约 23 个核苷酸长度,或约 24 至约 30 个核苷酸长度。通常,dsRNA 的长度足以用作 Dicer 酶的底物。例如,本领域公知,长度大于约 21-23 个核苷酸的 dsRNA 可用作 Dicer 的底物。本领域技术人员也了解,被靶向切割的 RNA 的区域通常为较大 RNA 分子(通常 mRNA 分子)的部分。靶的“一部分”为 mRNA 靶的连续核苷酸,其长度足以允许其为 RNA 抑制剂指导切割(即经由 RISC 途径的切割)的底物。

本领域技术人员也应理解,双链体区为 dsRNA 的主要功能部分,例如,约 19 至约 30 碱基对的双链体区,例如,约 19-30、19-29、19-28、19-27、19-26、19-25、19-24、19-23、19-22、19-21、19-20 碱基对。因此在一个实施方式中,为了达到成为靶向所需 RNA 进行切割的功能性双链体(例如,15-30 碱基对)的程度,具有超过 30 碱基对的双链体区的 RNA 分子或 RNA 分子的复合物为 dsRNA。

在本发明的一个方面中,本申请的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐,其包含反义链,其中所述反义链包含至少 15 个与选自 APOC3 mRNA NM_000040.3(SEQ ID NO. 1: ctgctcagttcatccctagaggcagctgctccaggaaacagaggtgccatgcagccccgggtactcctgtgtgtgccctcctggcgctcctggcctctgcccgagcttcagaggccgaggtatgctccctctcagcttcagcagggtacatgaagcacgccaccaagaccgccaaggtgactgagcagcggtgcaggagtcagggtggccagcaggccaggggctgggtgaccgatggcttcagttccctgaaagactactggagcaccgttaaggacaaagtctctgagttctgggattggaccctgaggtcagaccaacttcagccgtggctgcctgagacctcaataccccaagtcaccctgcctatccatcctgcgagctcctgggtcctgcaatcctcagggtgcccctgtaggttgcttaaaaggacagttattctcagtgctctcctacccacctcatgcctggccccctccaggcatgctggcctcccaataaagctggacaagaagctgctatga)相应位置的核苷酸基本上互补的连续核苷酸或与其相差不超过 3 个核苷酸的序列。

在某些实施方式中,所述反义链和正义链形成的双链体结构(互补区),所述互补区包括至少 15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 个连续核苷酸。

在某些实施方式中,所述 RNA 抑制剂的正义链与表 1 中的靶序列具有基本上同源性。

表 1 RNA 抑制剂的靶序列

SEQ ID NO.	靶序列 5'→3'
2	gcttaaaaggacagtattct
3	ggagcaccgttaaggacaagt
4	gagcaccgttaaggacaagtt
5	gcaccgttaaggacaagttct
6	gcatgctggcctccaataaa
7	gttctctgagtctgggattt
8	ttacatgaagcacgccaccaa
9	gctgcctgagacctcaatacc
10	gtccacctgcctatccatcct
11	gatggcttcagttccctgaaa
12	tctcagctcatgcagggtta
13	tcagcttcagcagggttaca
14	gcttcagcagggttacatga
15	ctctgagttctgggatttggga
16	gcttcagttccctgaaagact
17	cagttccctgaaagactactg
18	ttccctgaaagactactggag
19	aaagactactggagcaccgtt
20	agactactggagcaccgttaa
21	ccgttaaggacaagttctctg
22	ggacaagttctctgagttctg
23	tctgagttctgggatttggac
24	tgaggtcagaccaacttcagc
25	tgagacctcaataccccaagt
26	tatccatcctgcgagctcctt
27	ctgcccctgtaggttgcttaa
28	tgcccctgtaggttgcttaa
29	cccctgtaggttgcttaaaag
30	agaccgccaaggatgcactga
31	taggttgcttaaaaggacag
32	cagtattctcagtgctctcct
33	tattctcagtgctctcctacc
34	tgctctctacccacctcat
35	gctccttgggtcctgcaatct
36	tcagaccaacttcagccgtgg
37	tggctgcctgagacctcaata
38	ttctgggatttggaccctgag
39	tgggatttggaccctgaggtc
40	atttggaccctgaggtcagac
41	agaccaacttcagccgtggct
42	ttgggtcctgcaatctcagg
43	acctgcctatccatcctgcga
44	tgcttatccatcctgcgagct
45	gagctccttgggtcctgcaat
46	acagtattctcagtgctctcc
47	acagtattctcagtgctctcc

SEQ ID NO.	靶序列 5'→3'
48	tccttgggtcctgcaatctcc
49	tggacctgaggtcagaccaa
50	acctgaggtcagaccaactt
51	cctgaggtcagaccaacttca
52	aaggacagtattctcagtcg

其中，g=鸟苷酸，a=腺苷酸，c=胞苷酸，t=胸苷酸。

在某些实施方式中，所述 RNA 抑制剂的正义链与表 1 中的靶序列具有基本上同源性，其选自 a) 表 2 中的序列，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列：

表 2 RNA 抑制剂的正义链序列

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
53	S1	gcuuaaaaggacagauuucu
54	S2	ggagcaccguuaaggacaagu
55	S3	gagcaccguuaaggacaaguu
56	S4	gcaccguuaaggacaaguucu
57	S5	gcaugcuggccuccaauaaa
58	S6	guucucugaguucugggauuu
59	S7	uuacaugaagcacgccacca
60	S8	gcugccugagaccucaauacc
61	S9	guccaccugccuauccaucuu
62	S10	gauggcucagauuccugaaa
63	S11	ucucagcuucaugcaggguua
64	S12	ucagcuucaugcaggguuaca
65	S13	gcuucaugcaggguuacauga
66	S14	cucugaguucugggauuugga
67	S15	gcuucaguucccugaaagacu
68	S16	caguucccugaaagacuacug
69	S17	uucccugaaagacuacuggag
70	S18	aaagacuacuggagcaccguu
71	S19	agacuacuggagcaccguuaa
72	S20	ccguuaaggacaaguucucug
73	S21	ggacaaguucucugaguucug
74	S22	ucugaguucugggauuuggac
75	S23	ugagguacagaccaacuucagc
76	S24	ugagaccucaauacccaagu
77	S25	uauccaucucgagcuccuu
78	S26	cugccccguagguugcuuaa
79	S27	ugccccguagguugcuuaaa
80	S28	ccccguagguugcuuaaaag
81	S29	agaccgccaaggauccacuga
82	S30	uagguugcuuaaaaggacag
83	S31	caguauucucagucucuccu
84	S32	uauucucagucucuccuacc

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
85	S33	ugcucuccuaccccaccucau
86	S34	gcuccuugggucugcaaucu
87	S35	ucagaccaacuucagccgugg
88	S36	uggcugccugagaccucaua
89	S37	uucugggaauuuggaccugag
90	S38	ugggaauuuggaccugagguc
91	S39	auuuggaccugaggucagac
92	S40	agaccaacuucagccguggcu
93	S41	uugggucugcaaucuccagg
94	S42	accugccuauccaucucgca
95	S43	ugccuauccaucucgagcu
96	S44	gagcuccuugggucugcaau
97	S45	acagauuucucagucucucc
98	S46	ucucagugcucuccuaccca
99	S47	uccuugggucugcaaucucc
100	S48	uggaccugaggucagaccaa
101	S49	accugaggucagaccaacu
102	S50	ccugaggucagaccaacuca
103	S51	aaggacagauuucucagugc
701	S193	aggacagauuucucagugcu
702	S194	gcuuaaaaggacagauuuc
703	S195	cugcccagcuucagaggcuu
704	S196	cccagcuucagaggccgauu
705	S197	ccgagcuucagaggccgagga
706	S198	cagagcuucagaggccgaggau
707	S199	gagcuucagaggccgaggaua
708	S200	agcuucagaggccgaggauaa
709	S201	gcuucagaggccgaggauaa
710	S202	cuucagaggccgaggauccu
711	S203	ucagaggccgaggauccucu
712	S204	aggccgaggauccuccuuc
713	S205	gccgaggauccuccuucuc
714	S206	cagggaugccuccuucucag
715	S207	gaggauccuccuucucaga
716	S208	aggauccuccuucucagcu
717	S209	gaugccuccuucucagcuua
718	S210	augccuccuucucagcuuca
719	S211	gccuccuucucagcuucaug
720	S212	ccuccuucucagcuucauaa
721	S213	cuccuucucagcuucaugca
722	S214	uccuucucagcuucaugcag
723	S215	ccuucucagcuucaugcauu
724	S216	ccuucucagcuucaugcagaa

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
725	S217	cuucucagcuucaugcaggggu
726	S218	uucucagcuucaugcagggguu
727	S219	ucucagcuucaugcagggguuc
728	S220	cucagcuucaugcagggguuac
729	S221	cagcuucaugcagggguuacag
730	S222	agcuucaugcagggguuacaug
731	S223	cuucaugcagggguuacauaagaa
732	S224	uucaugcagggguuacauaagaa
733	S225	ucaugcagggguuacauaagaa
734	S226	caugcagggguuacauaagaa
735	S227	augcagggguuacauaagaa
736	S228	ugcagggguuacauaagaa
737	S229	gcagggguuacauaagaa
738	S230	cagggguuacauaagaa
739	S231	agggguuacauaagaa
740	S232	ggguuacauaagaa
741	S233	gguuacauaagaa
742	S234	guuacauaagaa
743	S235	uacauaagaa
744	S236	caugaagcacgccaccaagac
745	S237	augaagcacgccaccaagaca
746	S238	ugaagcacgccaccaagacca
747	S239	gaagcacgccaccaagaccuu
748	S240	cacgccaccaagaccgccaau
749	S241	acgccaccaagaccgccaauu
750	S242	cgccaccaagaccgccaagga
751	S243	gccaccaagaccgccaaggau
752	S244	ccaccaagaccgccaaggau
753	S245	caccaagaccgccaaggauaa
754	S246	accaagaccgccaaggau
755	S247	ccaagaccgccaaggau
756	S248	caagaccgccaaggau
757	S249	aagaccgccaaggau
758	S250	gaccgccaaggau
759	S251	accgccaaggau
760	S252	ccgccaaggau
761	S253	cgccaaggau
762	S254	gccaaggau
763	S255	ccaaggau
764	S256	caaggau
765	S257	aaggau
766	S258	aggau
767	S259	ggaugcacugagcagcgugca

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
768	S260	gaugcacugagcagcgugcag
769	S261	augcacugagcagcgugcauu
770	S262	ugcacugagcagcgugcagga
771	S263	gcacugagcagcgugcaggau
772	S264	cacugagcagcgugcaggagu
773	S265	acugagcagcgugcaggaguc
774	S266	cugagcagcgugcaggaguaa
775	S267	ugagcagcgugcaggagucua
776	S268	gagcagcgugcaggaguccaa
777	S269	gcagcgugcaggagucccagu
778	S270	cagcgugcaggagucccaggu
779	S271	gcgugcaggagucccagguga
780	S272	cugcaggagucccaggugaa
781	S273	aaggagacaguuucucaguga
782	S274	gcaggagucccagguggccua
783	S275	aggagucccaggugggccauu
784	S276	agucccaggugggccagcauu
785	S277	agcaggccaggggcuggguaa
786	S278	caggccaggggcugggugaca
787	S279	ccaggggcugggugaccgauc
788	S280	caggggcugggugaccgaucu
789	S281	gggcuaggugaccgauggcuu
790	S282	gcugggugaccgauggcuuca
791	S283	ugggugaccgauggcuuacgu
792	S284	ggugaccgauggcuuacuguu
793	S285	gugaccgauggcuuacuuuaa
794	S286	ugaccgauggcuuacuucau
795	S287	gaccgauggcuuacuuuccau
796	S288	ccgauggcuuacuuuccuga
797	S289	cgauggcuuacuuuccugaa
798	S290	gauggcuuacuuuccugaaa
799	S291	auggcuacuuuccugaaag
800	S292	uggcuacuuuccugaaaauu
801	S293	ggcuacuuuccugaaaagac
802	S294	cuucaguuuccugaaaagacua
803	S295	uuacaguuuccugaaaagacuau
804	S296	ucaguucccugaaaagacuacu
805	S297	aguucccugaaaagacuacuga
806	S298	guucccugaaaagacuacugga
807	S299	ucccugaaaagacuacuggauu
808	S300	cccugaaaagacuacuggagca
809	S301	ccugaaaagacuacuggagcac
810	S302	cugaaaagacuacuggagcauu

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
811	S303	ugaagacuacuggagcacua
812	S304	gaaagacuacuggagcaccgu
813	S305	aagacuacuggagcaccguua
814	S306	gacuacuggagcaccguuaau
815	S307	acuacuggagcaccguuaagu
816	S308	cuacuggagcaccguuaagga
817	S309	uacuggagcaccguuaaggau
818	S310	acuggagcaccguuaaggaaa
819	S311	cuggagcaccguuaaggacau
820	S312	uggagcaccguuaaggacaag
821	S313	agcaccguuaaggacaaguua
822	S314	gcaccguuaaggacaaguucu
823	S315	caccguuaaggacaaguucuu
824	S316	accguuaaggacaaguucucu
825	S317	cguuaaggacaaguucucuga
826	S318	guuaaggacaaguucucugau
827	S319	uuaaggacaaguucucugagu
828	S320	uaaggacaaguucucugaguu
829	S321	aaggacaaguucucugaguuc
830	S322	ggacaaguucucugaguucua
831	S323	gacaaguucucugaguucuga
832	S324	acaaguucucugaguucugaa
833	S325	caaguucucugaguucuggga
834	S326	aaguucucugaguucugggau
835	S327	aguucucugaguucugggauu
836	S328	uucucugaguucugggauuuc
837	S329	ucucugaguucugggauuuaa
838	S330	ugaguucugggauuuggacaa
839	S331	gaguucugggauuuggaccan
840	S332	aguucugggauuuggaccuaa
841	S333	guucugggauuuggaccuaa
842	S334	ucugggauuuggaccugaa
843	S335	cugggauuuggaccugagau
844	S336	gggauuuggaccugagguca
845	S337	ggauuuggaccugaggucaa
846	S338	gauuuggaccugagguacaga
847	S339	uuuggaccugagguacagaaa
848	S340	uuggaccugagguacagacua
849	S341	gaccugagguacagaccaacu
850	S342	cccugagguacagaccaacuuc
851	S343	cugagguacagaccaacuucag
852	S344	gaggucagaccaacuucagaa
853	S345	aggucagaccaacuucagcaa

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
854	S346	ggucagaccaacuucagccuu
855	S347	gucagaccaacuucagccguu
856	S348	ucagaccaacuucagccguaa
857	S349	cagaccaacuucagccgugaa
858	S350	gaccaacuucagccguggcua
859	S351	accaacuucagccguggcuuu
860	S352	ccaacuucagccguggcugaa
861	S353	caacuucagccguggcugcua
862	S354	acuucagccguggcugccuga
863	S355	uucagccguggcugccugaga
864	S356	guggcugccugagaccucaau
865	S357	ggcugccugagaccucaauac
866	S358	cugccugagaccucaauacuu
867	S359	ugccugagaccucaauaccaa
868	S360	gccugagaccucaauaccaa
869	S361	ccugagaccucaauacccau
870	S362	cugagaccucaauacccauu
871	S363	gagaccucaauaccccaaguc
872	S364	agaccucaauaccccaaguuu
873	S365	gaccucaauaccccaagucca
874	S366	accucaauaccccaaguccac
875	S367	ccucaauaccccaaguccauu
876	S368	cucaauaccccaaguccaccu
877	S369	ucaauaccccaaguccaccua
878	S370	aaauaccccaaguccaccugaa
879	S371	uaccccaaguccaccugccua
880	S372	accccaaguccaccugccuau
881	S373	cccaaguccaccugccuauaa
882	S374	ccaaguccaccugccuaucca
883	S375	caaguccaccugccuauccau
884	S376	aaguccaccugccuauccauc
885	S377	aguccaccugccuauccaaua
886	S378	uccaccugccuauccaueccu
887	S379	ccaccugccuauccaueccugu
888	S380	caccugccuauccaueccugaa
889	S381	ccugccuauccaueccugcgag
890	S382	cugccuauccaueccugcgauu
891	S383	ugccuauccaueccugcgagcu
892	S384	ccuauccaueccugcgagcucu
893	S385	cuauccaueccugcgaguccu
894	S386	auccaueccugcgaguccuuu
895	S387	uccaueccugcgaguccuuuga
896	S388	ccaueccugcgaguccuuuguu

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
897	S389	cauccugcgagcuccuuggau
898	S390	auccugcgagcuccuuggguc
899	S391	uccugcgagcuccuuggguua
900	S392	ccugcgagcuccuuggguccu
901	S393	cugcgagcuccuuggguccua
902	S394	ugcgagcuccuuggguccuaa
903	S395	agcuccuuggguccugcaauu
904	S396	gcuccuuggguccugcauaa
905	S397	cuccuuggguccugcaaucua
906	S398	ccuuggguccugcaaucucu
907	S399	cuuggguccugcaaucuccau
908	S400	uggguccugcaaucuccagaa
909	S401	ggguccugcaaucuccaggaa
910	S402	gguccugcaaucuccaggguu
911	S403	guccugcaaucuccagggcua
912	S404	uccugcaaucuccagggcuaa
913	S405	ccugcaaucuccagggcugaa
914	S406	cugcaaucuccagggcugcau
915	S407	ugcaaucuccagggcugccaa
916	S408	aaucuccagggcugcccuua
917	S409	agggcugcccuagguuga
918	S410	gcugcccuagguugcuua
919	S411	ugcccuagguugcuuaaa
920	S412	cuguagguugcuuaaaggga
921	S413	uguagguugcuuaaaggga
922	S414	agguugcuuaaagggacauu
923	S415	guugcuuaaagggacaguau
924	S416	uugcuuaaagggacagauuc
925	S417	ugcuuaaagggacagauucu
926	S418	cuuaaagggacagauuucua
927	S419	uaaagggacagauuucuaa
928	S420	aaaagggacagauuucuaau
929	S421	aaagggacagauuucucagaa
930	S422	agggacagauuucucaguguu
931	S423	gggacagauuucucagugcuu
932	S424	gacagauuucucagugcucu
933	S425	aguauuucucagugcucuccaa
934	S426	guauuucucagugcucuccuaa
935	S427	auucucagugcucuccuacuu
936	S428	cucagugcucuccuaccccaa
937	S429	ucagugcucuccuaccccauu
938	S430	agugcucuccuacccaccua
939	S431	gugcucuccuacccaccuaa

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'
940	S432	gcucuccuaccccaccucauu
941	S433	cucuccuaccccaccucauau
942	S434	cuccuaccccaccucaugcau
943	S435	ccuaccccaccucaugccuaa
944	S436	uaccccaccucaugccugguc
945	S437	ccuccaggcaugcuggccuaa
946	S438	uccaggcaugcuggccuccua
947	S439	aaggggacaguauuctcagugu
948	S440	gaggggacaguauucucagugu
949	S441	caggggacaguauucucagugu
950	S442	gggacaguauucucagugcua
951	S443	gagcgacaguauucucagugu
952	S444	uaggggacaguauucucagugu
953	S445	auggggacaguauucucagugu
954	S446	aggggacaguauucucagugua
955	S447	aaggggacaguauucucagu
956	S448	gcuuaaaaggacaguauuca
957	S449	gcuuaaaaggacaguauucu
958	S450	cuuaaaaggacaguauucuc
959	S451	uuuaaaaggacaguauucuca
960	S452	uaaaaggacaguauucucag
961	S453	aaaaggacaguauucucagc
962	S454	aaaggacaguauucucagug
963	S455	uaaaggacaguauucucagu
964	S456	aagcgacaguauucucagugu

其中，g=鸟苷酸，a=腺苷酸，u=尿苷酸，c=胞苷酸。

在某些实施方式中，所述 RNA 抑制剂的反义链选自 a) 以下序列，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，或 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列：

表 3 RNA 抑制剂的反义链序列

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
104	AS1	agaauacuguccuuuaagc
105	AS2	acuuguccuuaacggugucc
106	AS3	aacuuguccuuaacggugcuc
107	AS4	agaacuuguccuuaacggugc
108	AS5	uuuaauugggaggccagcaugc
109	AS6	aaaucccagaacucagagaac
110	AS7	uugguggcgugcuucauguaa
111	AS8	gguaauaggucucaggcagc
112	AS9	aggauaggauaggcagguggac
113	AS10	uuucaggggaacugaagccauc
114	AS11	uaaccugcaugaagcugaga
115	AS12	uguaaccugcaugaagcuga

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
116	AS13	ucauguaaaccugcaugaagc
117	AS14	uccaaaucccagaacucagag
118	AS15	agucuuucagggaacugaagc
119	AS16	caguagucuuucagggaacug
120	AS17	cuccaguagucuuucaggga
121	AS18	aacggugcuccaguagucuuu
122	AS19	uuaacggugcuccaguagucu
123	AS20	cagagaacuuguccuaacgg
124	AS21	cagaacucagagaacuugucc
125	AS22	guccaaaucccagaacucaga
126	AS23	gcugaaguuggucugaccuca
127	AS24	acuuggggguauugaggucua
128	AS25	aaggagcucgcaggauaggua
129	AS26	uuaagcaaccuacaggggcag
130	AS27	uuuaagcaaccuacaggggca
131	AS28	cuuuuaagcaaccuacagggg
132	AS29	ucagugcauccuuggcggucu
133	AS30	cuguccuuuuuagcaaccua
134	AS31	aggagagcacugagaauacug
135	AS32	gguaaggagagcacugagaaua
136	AS33	augaggugggguaggagagca
137	AS34	agauugcaggaccaaggagc
138	AS35	ccacggcugaaguuggucuga
139	AS36	uauugaggucucaggcagcca
140	AS37	cucaggguccaaaucccagaa
141	AS38	gaccucaggguccaaauccca
142	AS39	gucugaccucaggguccaaau
143	AS40	agccacggcugaaguuggucu
144	AS41	ccuggagaauugcaggacccaa
145	AS42	ucgcaggauaggauaggcaggu
146	AS43	agcucgcaggauaggauaggca
147	AS44	auugcaggacccaaggagcuc
148	AS45	ggagagcacugagaauacugu
149	AS46	ugggguaaggagcacugaga
150	AS47	ggagauugcaggacccaaggga
151	AS48	uuggucugaccucagggucca
152	AS49	aaguuggucugaccucagggu
153	AS50	ugaaguuggucugaccucagg
154	AS51	gcacugagaauacuguccuuuu
437	AS193	cacugagaauacuguccuuua
438	AS194	uaauacuguccuuuuuagcaa
439	AS195	gccucugaagcucgggcagag

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
440	AS196	ucggccucugaagcucgggca
441	AS197	cucggccucugaagcucgggc
442	AS198	ccucggccucugaagcucggg
443	AS199	uccucggccucugaagcucgg
444	AS200	auccucggccucugaagcucg
445	AS201	cauccucggccucugaagcuc
446	AS202	gcauccucggccucugaagcu
447	AS203	aggcauccucggccucugaag
448	AS204	agggaggcauccucggccucu
449	AS205	gaaggaggcauccucggccu
450	AS206	gagaaggaggcauccucggc
451	AS207	ugagaaggaggcauccucgg
452	AS208	cugagaaggaggcauccucg
453	AS209	agcugagaaggagggauccu
454	AS210	aagcugagaaggagggaucc
455	AS211	ugaagcugagaaggagggauc
456	AS212	augaagcugagaaggaggga
457	AS213	caugaagcugagaaggagggc
458	AS214	gcaugaagcugagaaggagg
459	AS215	ugcaugaagcugagaaggagg
460	AS216	cugcaugaagcugagaaggga
461	AS217	ccugcaugaagcugagaagg
462	AS218	cccugcaugaagcugagaagg
463	AS219	accugcaugaagcugagaag
464	AS220	aaccugcaugaagcugagaa
465	AS221	guaaccugcaugaagcugag
466	AS222	uguaaccugcaugaagcuga
467	AS223	cauguaaccugcaugaagcu
468	AS224	ucauguaaccugcaugaagc
469	AS225	uucauguaaccugcaugaag
470	AS226	cuucauguaaccugcaugaa
471	AS227	gcuucauguaaccugcauga
472	AS228	ugcuucauguaaccugcaug
473	AS229	gugcuucauguaaccugcau
474	AS230	cgugcuucauguaaccugca
475	AS231	gcgugcuucauguaaccugc
476	AS232	ggcgugcuucauguaaccug
477	AS233	uggcgugcuucauguaaccu
478	AS234	guggcgugcuucauguaacc
479	AS235	ugguggcgugcuucauguaac
480	AS236	cuugguggcgugcuucaugua
481	AS237	ucuugguggcgugcuucaugu

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
482	AS238	gucuugguggcgugcucaug
483	AS239	ggucuugguggcgugcucau
484	AS240	uggcggucuuugguggcgugcu
485	AS241	uuggcggucuuugguggcgugc
486	AS242	cuuggcggucuuugguggcgug
487	AS243	ccuuggcggucuuugguggcgu
488	AS244	uccuuggcggucuuugguggcg
489	AS245	auccuuggcggucuuugguggc
490	AS246	cauccuuggcggucuuuggugg
491	AS247	gcauccuuggcggucuuuggug
492	AS248	ugcauccuuggcggucuuuggu
493	AS249	gugcauccuuggcggucuuugg
494	AS250	cagugcauccuuggcggucuu
495	AS251	ucagugcauccuuggcggucuu
496	AS252	cucagugcauccuuggcgguc
497	AS253	gcucagugcauccuuggcgggu
498	AS254	ugcucagugcauccuuggcgg
499	AS255	cugcucagugcauccuuggcg
500	AS256	gcugcucagugcauccuuggc
501	AS257	cgcugcucagugcauccuugg
502	AS258	acgcugcucagugcauccuug
503	AS259	cacgcugcucagugcauccuu
504	AS260	gcacgcugcucagugcauccu
505	AS261	ugcacgcugcucagugcaucc
506	AS262	cugcacgcugcucagugcauc
507	AS263	ccugcacgcugcucagugcau
508	AS264	uccugcacgcugcucagugca
509	AS265	cuccugcacgcugcucagugc
510	AS266	acuccugcacgcugcucagug
511	AS267	gacuccugcacgcugcucagu
512	AS268	ggacuccugcacgcugcucag
513	AS269	ugggacuccugcacgcugcuc
514	AS270	cugggacuccugcacgcugcu
515	AS271	accugggacuccugcacgcug
516	AS272	caccugggacuccugcacgcuc
517	AS273	ccaccugggacuccugcacgc
518	AS274	ggccaccugggacuccugcac
519	AS275	ugggccaccugggacuccugc
520	AS276	ugcugggccaccugggacucc
521	AS277	accagccccugggccugcugg
522	AS278	ucaccagccccugggccugcu
523	AS279	ucggucaccagccccugggcc

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
524	AS280	aucggucacccagccccuggc
525	AS281	gccaucggucacccagcccu
526	AS282	aagccaucggucacccagccc
527	AS283	ugaagccaucggucacccagc
528	AS284	acugaagccaucggucaccca
529	AS285	aacugaagccaucggucaccc
530	AS286	gaacugaagccaucggucacc
531	AS287	ggaacugaagccaucggucac
532	AS288	agggaacugaagccaucgguc
533	AS289	cagggaacugaagccaucggu
534	AS290	ucagggaacugaagccaucgg
535	AS291	uucagggaacugaagccaucg
536	AS292	uuucagggaacugaagccauc
537	AS293	cuuucagggaacugaagccau
538	AS294	gucuucagggaacugaagcc
539	AS295	agucuucagggaacugaagc
540	AS296	uagucuucagggaacugaag
541	AS297	aguagucuucagggaacuga
542	AS298	caguagucuucagggaacug
543	AS299	uccaguagucuucagggaac
544	AS300	cuccaguagucuucaggga
545	AS301	gcuccaguagucuucaggga
546	AS302	ugcuccaguagucuucaggga
547	AS303	gugcuccaguagucuucagg
548	AS304	ggugcuccaguagucuucag
549	AS305	acggugcuccaguagucuuuc
550	AS306	uaacggugcuccaguagucuu
551	AS307	uuaacggugcuccaguagucu
552	AS308	cuuaacggugcuccaguaguc
553	AS309	ccuuaacggugcuccaguagu
554	AS310	uccuuaacggugcuccaguag
555	AS311	guccuuaacggugcuccagua
556	AS312	uguccuuaacggugcuccagu
557	AS313	acuuguccuuaacggugcucc
558	AS314	aacuuguccuuaacggugcuc
559	AS315	gaacuuguccuuaacggugcu
560	AS316	agaacuuguccuuaacggugc
561	AS317	agagaacuuguccuuaacgggu
562	AS318	cagagaacuuguccuuaacgg
563	AS319	ucagagaacuuguccuuaacg
564	AS320	cucagagaacuuguccuuaac
565	AS321	acucagagaacuuguccuuaa

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
566	AS322	gaacucagagaacuuguccuu
567	AS323	agaacucagagaacuuguccu
568	AS324	cagaacucagagaacuugucc
569	AS325	ccagaacucagagaacuuguc
570	AS326	cccagaacucagagaacuugu
571	AS327	ucccagaacucagagaacuug
572	AS328	aaucccagaacucagagaacu
573	AS329	aaaucccagaacucagagaac
574	AS330	guccaaaaucccagaacucaga
575	AS331	gguccaaaaucccagaacucag
576	AS332	ggguccaaaaucccagaacuca
577	AS333	aggguccaaaaucccagaacuc
578	AS334	ucaggguccaaaaucccagaac
579	AS335	cucaggguccaaaaucccagaa
580	AS336	accucaggguccaaaauccag
581	AS337	gaccucaggguccaaaauccca
582	AS338	ugaccucaggguccaaaauccc
583	AS339	ucugaccucaggguccaaauc
584	AS340	gucugaccucaggguccaaaau
585	AS341	uuggucugaccucagggucca
586	AS342	aguuggucugaccucagggucc
587	AS343	gaaguuggucugaccucagggg
588	AS344	cugaaguuggucugaccucag
589	AS345	gcugaaguuggucugaccuca
590	AS346	ggcugaaguuggucugaccuc
591	AS347	cggcugaaguuggucugaccu
592	AS348	acggcugaaguuggucugacc
593	AS349	cacggcugaaguuggucugac
594	AS350	gccacggcugaaguuggucug
595	AS351	agccacggcugaaguuggucu
596	AS352	cagccacggcugaaguugguc
597	AS353	gcagccacggcugaaguuggu
598	AS354	aggcagccacggcugaaguug
599	AS355	ucaggcagccacggcugaagu
600	AS356	ugaggucucaggcagccacgg
601	AS357	auuaggucucaggcagccac
602	AS358	guauuaggucucaggcagcc
603	AS359	gguaauuaggucucaggcagc
604	AS360	ggguaauuaggucucaggcag
605	AS361	gggguaauuaggucucaggca
606	AS362	ugggguaauuaggucucaggc
607	AS363	cuugggguaauuaggucucag

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
608	AS364	acuugggguaauugaggucuca
609	AS365	gacuugggguaauugaggucuc
610	AS366	ggacuugggguaauugaggucu
611	AS367	uggacuugggguaauugagguc
612	AS368	guggacuugggguaauugaggu
613	AS369	gguaggacuugggguaauugagg
614	AS370	cagguggacuugggguaauuga
615	AS371	ggcagguggacuugggguaau
616	AS372	aggcagguggacuugggguaau
617	AS373	auaggcagguggacuugggggu
618	AS374	gauaggcagguggacuuggggg
619	AS375	ggauaggcagguggacuugggg
620	AS376	uggauaggcagguggacuuggg
621	AS377	auggauaggcagguggacuug
622	AS378	ggauaggauaggcagguggacu
623	AS379	aggauaggauaggcagguggac
624	AS380	caggauaggauaggcaggugga
625	AS381	cgcaggauaggauaggcaggug
626	AS382	ucgcaggauaggauaggcaggu
627	AS383	cucgcaggauaggauaggcagg
628	AS384	agcucgcaggauaggauaggca
629	AS385	gagcucgcaggauaggauaggc
630	AS386	aggagcucgcaggauaggauag
631	AS387	aaggagcucgcaggauaggaua
632	AS388	caaggagcucgcaggauaggau
633	AS389	ccaaggagcucgcaggauagg
634	AS390	cccaaggagcucgcaggauagg
635	AS391	acccaaggagcucgcaggauag
636	AS392	gaccaaggagcucgcaggau
637	AS393	ggaccaaggagcucgcaggga
638	AS394	aggaccaaggagcucgcagg
639	AS395	uugcaggaccaaggagcucg
640	AS396	auugcaggaccaaggagcuc
641	AS397	gauugcaggaccaaggagcu
642	AS398	gagauugcaggaccaaggag
643	AS399	ggagauugcaggaccaaggga
644	AS400	cuggagauugcaggaccaag
645	AS401	ccuggagauugcaggaccaaa
646	AS402	cccuggagauugcaggacca
647	AS403	gcccuggagauugcaggaccc
648	AS404	agcccuggagauugcaggacc
649	AS405	cagcccuggagauugcaggac

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
650	AS406	gcagccuggagauugcagg
651	AS407	ggcagccuggagauugcagg
652	AS408	aggggcagccuggagauugc
653	AS409	aaccuacaggggcagccuug
654	AS410	agcaaccuacaggggcagccc
655	AS411	uaagcaaccuacaggggcagc
656	AS412	ccuuuaagcaaccuacaggg
657	AS413	ccuuuaagcaaccuacaggg
658	AS414	uguccuuuaagcaaccuac
659	AS415	acuguccuuuaagcaaccu
660	AS416	uacuguccuuuaagcaacc
661	AS417	auacuguccuuuaagcaac
662	AS418	gaauacuguccuuuaagca
663	AS419	gagaauacuguccuuuaag
664	AS420	ugagaauacuguccuuuaa
665	AS421	cugagaauacuguccuuua
666	AS422	cacugagaauacuguccuuu
667	AS423	gcacugagaauacuguccuu
668	AS424	gagcacugagaauacugucc
669	AS425	ggagagcacugagaauacugu
670	AS426	aggagagcacugagaauacug
671	AS427	guaggagagcacugagaauac
672	AS428	ggggguaggagcacugagaa
673	AS429	uggggguaggagcacugaga
674	AS430	gguggggguaggagcacuga
675	AS431	agguggggguaggagcacug
676	AS432	ugagguggggguaggagcac
677	AS433	augagguggggguaggagca
678	AS434	gcaugagguggggguaggag
679	AS435	aggcaugagguggggguagg
680	AS436	ccaggcaugagguggggguagg
681	AS437	aggcccaugccuggagggg
682	AS438	ggaggcccaugccuggagg
683	AS439	acacugagaauacuguccuu
684	AS440	acacugagaauacuguccuc
685	AS441	acacugagaauacuguccug
686	AS442	gcacugagaauacuguccuu
687	AS443	acacugagaauacugucgcuc
688	AS444	acacugagaauacuguccua
689	AS445	acacugagaauacuguccau
690	AS446	ucacugagaauacuguccuu
691	AS447	ucacugagaauacuguccuu

SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
692	AS448	ugaauacuguccuuuuuagc
693	AS449	aaucuguccuuuuuagcaa
694	AS450	gaauacuguccuuuuuagca
695	AS451	agaauacuguccuuuuuagc
696	AS452	gagaauacuguccuuuuuag
697	AS453	ugagaauacuguccuuuuu
698	AS454	cugagaauacuguccuuuu
699	AS455	acugagaauacuguccuuu
700	AS456	acacugagaauacugucguu

其中 g=鸟苷酸，a=腺苷酸，u=尿苷酸，c=胞苷酸。

在一些筛选实施方案中，所述 RNA 抑制剂选自 a) 表 2 中的正义链和表 3 中的反义链的组合，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列：

在某些实施方式中，所述 RNA 抑制剂选自：a) 表 5 中的序列，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，或 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列：

表 5 RNA 抑制剂

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS67	S193	701	AS193	437
Ky-12-DS68	S194	702	AS194	438
Ky-12-DS69	S195	703	AS195	439
Ky-12-DS70	S196	704	AS196	440
Ky-12-DS71	S197	705	AS197	441
Ky-12-DS72	S198	706	AS198	442
Ky-12-DS73	S199	707	AS199	443
Ky-12-DS74	S200	708	AS200	444
Ky-12-DS75	S201	709	AS201	445
Ky-12-DS76	S202	710	AS202	446
Ky-12-DS77	S203	711	AS203	447
Ky-12-DS78	S204	712	AS204	448
Ky-12-DS79	S205	713	AS205	449
Ky-12-DS80	S206	714	AS206	450
Ky-12-DS81	S207	715	AS207	451
Ky-12-DS82	S208	716	AS208	452
Ky-12-DS83	S209	717	AS209	453
Ky-12-DS84	S210	718	AS210	454
Ky-12-DS85	S211	719	AS211	455
Ky-12-DS86	S212	720	AS212	456
Ky-12-DS87	S213	721	AS213	457
Ky-12-DS88	S214	722	AS214	458
Ky-12-DS89	S215	723	AS215	459
Ky-12-DS90	S216	724	AS216	460

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS91	S217	725	AS217	461
Ky-12-DS92	S218	726	AS218	462
Ky-12-DS93	S219	727	AS219	463
Ky-12-DS94	S220	728	AS220	464
Ky-12-DS95	S221	729	AS221	465
Ky-12-DS96	S222	730	AS222	466
Ky-12-DS97	S223	731	AS223	467
Ky-12-DS98	S224	732	AS224	468
Ky-12-DS99	S225	733	AS225	469
Ky-12-DS100	S226	734	AS226	470
Ky-12-DS101	S227	735	AS227	471
Ky-12-DS102	S228	736	AS228	472
Ky-12-DS103	S229	737	AS229	473
Ky-12-DS104	S230	738	AS230	474
Ky-12-DS105	S231	739	AS231	475
Ky-12-DS106	S232	740	AS232	476
Ky-12-DS107	S233	741	AS233	477
Ky-12-DS108	S234	742	AS234	478
Ky-12-DS109	S235	743	AS235	479
Ky-12-DS110	S236	744	AS236	480
Ky-12-DS111	S237	745	AS237	481
Ky-12-DS112	S238	746	AS238	482
Ky-12-DS113	S239	747	AS239	483
Ky-12-DS114	S240	748	AS240	484
Ky-12-DS115	S241	749	AS241	485
Ky-12-DS116	S242	750	AS242	486
Ky-12-DS117	S243	751	AS243	487
Ky-12-DS118	S244	752	AS244	488
Ky-12-DS119	S245	753	AS245	489
Ky-12-DS120	S246	754	AS246	490
Ky-12-DS121	S247	755	AS247	491
Ky-12-DS122	S248	756	AS248	492
Ky-12-DS123	S249	757	AS249	493
Ky-12-DS124	S250	758	AS250	494
Ky-12-DS125	S251	759	AS251	495
Ky-12-DS126	S252	760	AS252	496
Ky-12-DS127	S253	761	AS253	497
Ky-12-DS128	S254	762	AS254	498
Ky-12-DS129	S255	763	AS255	499
Ky-12-DS130	S256	764	AS256	500
Ky-12-DS131	S257	765	AS257	501
Ky-12-DS132	S258	766	AS258	502

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS133	S259	767	AS259	503
Ky-12-DS134	S260	768	AS260	504
Ky-12-DS135	S261	769	AS261	505
Ky-12-DS136	S262	770	AS262	506
Ky-12-DS137	S263	771	AS263	507
Ky-12-DS138	S264	772	AS264	508
Ky-12-DS139	S265	773	AS265	509
Ky-12-DS140	S266	774	AS266	510
Ky-12-DS141	S267	775	AS267	511
Ky-12-DS142	S268	776	AS268	512
Ky-12-DS143	S269	777	AS269	513
Ky-12-DS144	S270	778	AS270	514
Ky-12-DS145	S271	779	AS271	515
Ky-12-DS146	S272	780	AS272	516
Ky-12-DS147	S273	781	AS273	517
Ky-12-DS148	S274	782	AS274	518
Ky-12-DS149	S275	783	AS275	519
Ky-12-DS150	S276	784	AS276	520
Ky-12-DS151	S277	785	AS277	521
Ky-12-DS152	S278	786	AS278	522
Ky-12-DS153	S279	787	AS279	523
Ky-12-DS154	S280	788	AS280	524
Ky-12-DS155	S281	789	AS281	525
Ky-12-DS156	S282	790	AS282	526
Ky-12-DS157	S283	791	AS283	527
Ky-12-DS158	S284	792	AS284	528
Ky-12-DS159	S285	793	AS285	529
Ky-12-DS160	S286	794	AS286	530
Ky-12-DS161	S287	795	AS287	531
Ky-12-DS162	S288	796	AS288	532
Ky-12-DS163	S289	797	AS289	533
Ky-12-DS164	S290	798	AS290	534
Ky-12-DS165	S291	799	AS291	535
Ky-12-DS166	S292	800	AS292	536
Ky-12-DS167	S293	801	AS293	537
Ky-12-DS168	S294	802	AS294	538
Ky-12-DS169	S295	803	AS295	539
Ky-12-DS170	S296	804	AS296	540
Ky-12-DS171	S297	805	AS297	541
Ky-12-DS172	S298	806	AS298	542
Ky-12-DS173	S299	807	AS299	543
Ky-12-DS174	S300	808	AS300	544

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS175	S301	809	AS301	545
Ky-12-DS176	S302	810	AS302	546
Ky-12-DS177	S303	811	AS303	547
Ky-12-DS178	S304	812	AS304	548
Ky-12-DS179	S305	813	AS305	549
Ky-12-DS180	S306	814	AS306	550
Ky-12-DS181	S307	815	AS307	551
Ky-12-DS182	S308	816	AS308	552
Ky-12-DS183	S309	817	AS309	553
Ky-12-DS184	S310	818	AS310	554
Ky-12-DS185	S311	819	AS311	555
Ky-12-DS186	S312	820	AS312	556
Ky-12-DS187	S313	821	AS313	557
Ky-12-DS188	S314	822	AS314	558
Ky-12-DS189	S315	823	AS315	559
Ky-12-DS190	S316	824	AS316	560
Ky-12-DS191	S317	825	AS317	561
Ky-12-DS192	S318	826	AS318	562
Ky-12-DS193	S319	827	AS319	563
Ky-12-DS194	S320	828	AS320	564
Ky-12-DS195	S321	829	AS321	565
Ky-12-DS196	S322	830	AS322	566
Ky-12-DS197	S323	831	AS323	567
Ky-12-DS198	S324	832	AS324	568
Ky-12-DS199	S325	833	AS325	569
Ky-12-DS200	S326	834	AS326	570
Ky-12-DS201	S327	835	AS327	571
Ky-12-DS202	S328	836	AS328	572
Ky-12-DS203	S329	837	AS329	573
Ky-12-DS204	S330	838	AS330	574
Ky-12-DS205	S331	839	AS331	575
Ky-12-DS206	S332	840	AS332	576
Ky-12-DS207	S333	841	AS333	577
Ky-12-DS208	S334	842	AS334	578
Ky-12-DS209	S335	843	AS335	579
Ky-12-DS210	S336	844	AS336	580
Ky-12-DS211	S337	845	AS337	581
Ky-12-DS212	S338	846	AS338	582
Ky-12-DS213	S339	847	AS339	583
Ky-12-DS214	S340	848	AS340	584
Ky-12-DS215	S341	849	AS341	585
Ky-12-DS216	S342	850	AS342	586

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS217	S343	851	AS343	587
Ky-12-DS218	S344	852	AS344	588
Ky-12-DS219	S345	853	AS345	589
Ky-12-DS220	S346	854	AS346	590
Ky-12-DS221	S347	855	AS347	591
Ky-12-DS222	S348	856	AS348	592
Ky-12-DS223	S349	857	AS349	593
Ky-12-DS224	S350	858	AS350	594
Ky-12-DS225	S351	859	AS351	595
Ky-12-DS226	S352	860	AS352	596
Ky-12-DS227	S353	861	AS353	597
Ky-12-DS228	S354	862	AS354	598
Ky-12-DS229	S355	863	AS355	599
Ky-12-DS230	S356	864	AS356	600
Ky-12-DS231	S357	865	AS357	601
Ky-12-DS232	S358	866	AS358	602
Ky-12-DS233	S359	867	AS359	603
Ky-12-DS234	S360	868	AS360	604
Ky-12-DS235	S361	869	AS361	605
Ky-12-DS236	S362	870	AS362	606
Ky-12-DS237	S363	871	AS363	607
Ky-12-DS238	S364	872	AS364	608
Ky-12-DS239	S365	873	AS365	609
Ky-12-DS240	S366	874	AS366	610
Ky-12-DS241	S367	875	AS367	611
Ky-12-DS242	S368	876	AS368	612
Ky-12-DS243	S369	877	AS369	613
Ky-12-DS244	S370	878	AS370	614
Ky-12-DS245	S371	879	AS371	615
Ky-12-DS246	S372	880	AS372	616
Ky-12-DS247	S373	881	AS373	617
Ky-12-DS248	S374	882	AS374	618
Ky-12-DS249	S375	883	AS375	619
Ky-12-DS250	S376	884	AS376	620
Ky-12-DS251	S377	885	AS377	621
Ky-12-DS252	S378	886	AS378	622
Ky-12-DS253	S379	887	AS379	623
Ky-12-DS254	S380	888	AS380	624
Ky-12-DS255	S381	889	AS381	625
Ky-12-DS256	S382	890	AS382	626
Ky-12-DS257	S383	891	AS383	627
Ky-12-DS258	S384	892	AS384	628

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS259	S385	893	AS385	629
Ky-12-DS260	S386	894	AS386	630
Ky-12-DS261	S387	895	AS387	631
Ky-12-DS262	S388	896	AS388	632
Ky-12-DS263	S389	897	AS389	633
Ky-12-DS264	S390	898	AS390	634
Ky-12-DS265	S391	899	AS391	635
Ky-12-DS266	S392	900	AS392	636
Ky-12-DS267	S393	901	AS393	637
Ky-12-DS268	S394	902	AS394	638
Ky-12-DS269	S395	903	AS395	639
Ky-12-DS270	S396	904	AS396	640
Ky-12-DS271	S397	905	AS397	641
Ky-12-DS272	S398	906	AS398	642
Ky-12-DS273	S399	907	AS399	643
Ky-12-DS274	S400	908	AS400	644
Ky-12-DS275	S401	909	AS401	645
Ky-12-DS276	S402	910	AS402	646
Ky-12-DS277	S403	911	AS403	647
Ky-12-DS278	S404	912	AS404	648
Ky-12-DS279	S405	913	AS405	649
Ky-12-DS280	S406	914	AS406	650
Ky-12-DS281	S407	915	AS407	651
Ky-12-DS282	S408	916	AS408	652
Ky-12-DS283	S409	917	AS409	653
Ky-12-DS284	S410	918	AS410	654
Ky-12-DS285	S411	919	AS411	655
Ky-12-DS286	S412	920	AS412	656
Ky-12-DS287	S413	921	AS413	657
Ky-12-DS288	S414	922	AS414	658
Ky-12-DS289	S415	923	AS415	659
Ky-12-DS290	S416	924	AS416	660
Ky-12-DS291	S417	925	AS417	661
Ky-12-DS292	S418	926	AS418	662
Ky-12-DS293	S419	927	AS419	663
Ky-12-DS294	S420	928	AS420	664
Ky-12-DS295	S421	929	AS421	665
Ky-12-DS296	S422	930	AS422	666
Ky-12-DS297	S423	931	AS423	667
Ky-12-DS298	S424	932	AS424	668
Ky-12-DS299	S425	933	AS425	669
Ky-12-DS300	S426	934	AS426	670

RNA 抑制剂	正义链代码	正义链 SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 SEQ ID NO.
Ky-12-DS301	S427	935	AS427	671
Ky-12-DS302	S428	936	AS428	672
Ky-12-DS303	S429	937	AS429	673
Ky-12-DS304	S430	938	AS430	674
Ky-12-DS305	S431	939	AS431	675
Ky-12-DS306	S432	940	AS432	676
Ky-12-DS307	S433	941	AS433	677
Ky-12-DS308	S434	942	AS434	678
Ky-12-DS309	S435	943	AS435	679
Ky-12-DS310	S436	944	AS436	680
Ky-12-DS311	S437	945	AS437	681
Ky-12-DS312	S438	946	AS438	682
Ky-12-DS313	S439	947	AS439	683
Ky-12-DS314	S440	948	AS440	684
Ky-12-DS315	S441	949	AS441	685
Ky-12-DS316	S442	950	AS442	686
Ky-12-DS317	S443	951	AS443	687
Ky-12-DS318	S444	952	AS444	688
Ky-12-DS319	S445	953	AS445	689
Ky-12-DS320	S446	954	AS446	690
Ky-12-DS321	S447	955	AS447	691
Ky-12-DS322	S448	956	AS448	692
Ky-12-DS323	S449	957	AS449	693
Ky-12-DS324	S450	958	AS450	694
Ky-12-DS325	S451	959	AS451	695
Ky-12-DS326	S452	960	AS452	696
Ky-12-DS327	S453	961	AS453	697
Ky-12-DS328	S454	962	AS454	698
Ky-12-DS329	S455	963	AS455	699
Ky-12-DS330	S456	964	AS456	700

在一些实施方案中，所述 RNA 抑制剂可以通过本领域技术人员所熟知的细胞转染方式或脂质体-核酸纳米颗粒的方式加药到细胞系中进行序列筛选。专利 US9233971B2, US9080186B2, CN102985548B 和 CN103189057B 有关脂质化合物及脂质体-核酸纳米颗粒制备的方法全文引入本说明书。

在一些实施方案中，其中所述的脂质化合物中的两性脂质优选大环脂类化合物 D1C1、T1C1、T1C6、T4C4、B2C1、B2C6、B2C7 和 M10C1。

本领域技术人员公知，具有约 19 至 23 碱基对，例如，21 碱基对的双链体结构的 dsRNA 已经被认为能特别有效地诱导 RNA 干扰(Elbashir 等人，EMBO 2001，20： 6877-6888)。然而，其他人已发现更短或更长的 RNA 双链体结构也有效(Chu 和 Rana(2007)RNA14： 1714-1719; Kim 等人(2005)Nat Biotech 23： 222-226)。可以合理地预期，本领域技术人员可以根据表 1-3 和 5 中的一个序列在一端或两端减去或增加几个核苷酸设计成新的序列，这样的序列和本发明的序列相比可以类似地有效。因此，包含与表 1-3 和 5 中所示序列具有相同的至少 15、16、17、18、

19、20、21 个连续核苷酸的序列，都应该在本发明的保护范围之内。至少 15 个连续核酸是指：15、16、17、18、19、20、21、22、23 或更多个连续核苷酸的序列且在抑制 APOC3 基因表达的能力方面与本发明的序列的抑制效果相差不超过约 5、10、15、20、25 或 30% 的序列均包括在本申请保护范围内。

本申请所述 dsRNA 可进一步包括一个或多个单链核苷酸突出端，例如，1、2、3 或 4 个核苷酸。核苷酸突出端可包含核苷酸/核苷类似物或其组成，包括脱氧核苷酸/核苷。该突出端可在正义链、反义链或其任何组合上。此外，突出端的核苷酸可存在于 dsRNA 的反义或正义链的 5'端、3'端或两端。该突出端可由一条链长于另一条链所造成，或由相同长度的两条链交错造成。该突出端可与靶 mRNA 形成错配或其可与所靶向的基因序列互补或可为另一个序列。

dsRNA 也可以只含有单一突出端，其可以增强 RNA 抑制剂的干扰活性，而不影响其整体稳定性。例如，单链突出端可以位于正义链的 3'端，或可选地，在反义链的 3'端。RNA 抑制剂还可以具有平端，位于反义链的 5'端(或正义链的 3'端)，反之亦然。通常，RNA 抑制剂的正义链在 3'端具有核苷酸突出端，而 5'端是平端。

在某些实施方式中，突出端存在于正义链、反义链或两条链的 3'端。在某些实施方式中，此 3'-突出端存在于反义链中。在某些实施方式中，此 3'-突出端存在于正义链中。

在某些实施方式中，所述 dsRNA 是 21 个核苷酸长的双端平端体。

在某些实施方式中，所述 dsRNA 具有 21 个核苷酸长度，且正义链和反义链在 3'端均具有 2 个核苷酸的突出端。

在某些实施方式中，所述 dsRNA 的正义链具有 19 个核苷酸长度，反义链具有 21 个核苷酸长度，且反义链在 3'端具有 2 个核苷酸的突出端。

在某些实施方式中，所述 dsRNA 的正义链具有 21 个核苷酸长度，反义链具有 23 个核苷酸长度，且反义链在 3'端具有 2 个核苷酸的突出端。

为了增强本申请所述的 RNA 抑制剂在体内的稳定性，在不影响其活性甚至增强其活性的情况下，可以对上述 RNA 抑制剂的正义链和反义链进行修饰，其中的核苷酸可以有修饰基团，可以整条链或者部分修饰。在某些实施方式中，所述正义链和/或反义链上的一个或多个核苷酸被修饰以形成修饰的核苷酸。

在某些实施方式中，本申请的 RNA 抑制剂(例如，dsRNA)的 RNA 未修饰，且不包含例如，本领域已知及本发明所述的化学修饰或偶联。在其他实施方式中，本申请的 RNA 抑制剂(例如，dsRNA)的 RNA 经化学修饰以加强稳定性或其他有利特性。本申请的其他实施方式中，本申请的 RNA 抑制剂的所有核苷酸或基本上所有核苷酸被修饰，即 RNA 抑制剂的链存在不超过 5、4、3、2 或 1 个未修饰的核苷酸。

如本申请所述的核酸可采用本领域上公知的方法合成和/或修饰，如那些描述于“Current protocols in nucleic acid chemistry”，Beaucage, S.L. 等人(编辑)，John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA 中的，其以引用方式并入本发明中。修饰包括例如，末端修饰，例如，5'端修饰(磷酸化、偶联、反向连接)或 3'端修饰(偶联、DNA 核苷酸、反向连接等)；碱基修饰，例如，使用稳定化碱基、失稳碱基或用与扩异展的伴体库碱基配对的碱基替代、移除碱基(无碱基核苷酸)或偶联碱基；糖修饰(例如，2'-位或 4'-位)或糖的替代；或主链修饰，包括磷酸二酯连接的修饰或替换。在本申请提供的 RNA 抑制剂中，所述 RNA 抑制剂的正义链和反义链均不需要均匀修饰，可在其单个核苷酸中掺入一种或一种以上的修饰。

在某些实施方式中，所述修饰的核苷酸包括脱氧核糖核苷酸、核苷酸模拟物、脱碱基核苷酸、2'-修饰核苷酸、3'至 3'连接(倒置)核苷酸、含非天然碱基的核苷酸、桥接核苷酸、肽核苷酸(PNA)、解锁的核碱基类似物、锁定核苷酸、3'-O-甲氧基(2'核苷间连接)核苷酸、2'-F-阿拉伯糖核苷酸、5'-Me/2'-氟带核苷酸、吗啉代核苷酸、乙烯基磷酸酯脱氧核糖核苷酸、含乙烯基磷酸酯的核苷酸和含环丙基磷酸酯的核苷酸。

在某些实施方式中，所述 2'-修饰核苷酸包括 2'-O-甲基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟核苷酸、2'-

脱氧核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、2'-氨基核苷酸和 2'-烷基核苷酸。

在某些实施方案中，所述正义链 5'端开始的奇数位的核苷酸糖基 2'位部分或全部是氟。

在某些实施方案中，所述正义链至少有 3 个或 4 个核苷酸的糖基 2'位是氟。

在某些实施方案中，所述反义链 5'端开始的偶数位的核苷酸糖基 2'位部分或全部是氟。

在某些实施方案中，所述反义链至少有 2 个或 4 个核苷酸的糖基 2'位是氟。

在某些实施方式中，所述反义链 5'端开始的第 2、4、6、8、14、16 位核苷酸糖基 2'位至少一个是氟。例如，所述反义链 5'端开始的第 2、4、6、8、14、16 位核苷酸糖基 2'位均是氟。

在某些实施方式中，所述反义链除了 5'端开始的第 2、4、6、8、14、16 位核苷酸之外，其余的核苷酸糖基的 2'位至少一个是甲氧基。

在某些实施方式中，所述正义链 5'端开始的第 9、10、11 位核苷酸糖基 2'位至少一个是氟。例如，所述正义链 5'端开始的第 9、10、11 位核苷酸糖基 2'位均是氟。

在某些实施方式中，所述正义链除了 5'端开始的第 9、10、11 位核苷酸之外，其余的核苷酸糖基的 2'位的至少一个是甲氧基。

在某些实施方式中，所述正义链除了 5'端开始的第 7、9、10、11 位核苷酸之外，其余的核苷酸糖基的 2'位的至少一个是甲氧基。

例如，所述正义链和/或反义链的部分或全部核苷酸糖基 2'位的-OH 可以被取代，其中，所述取代基为氟或甲氧基，优选从正义链 5'端开始的第 9、10、11 位的核苷酸糖基 2'位是氟且从反义链的 5'端开始的第 2、4、6、8、14、16、18、20 位核苷酸 2'位是氟，其余的核苷酸糖基 2'位均是甲氧基，或优选从正义链 5'端开始的第 5、7、8、9 位的核苷酸 2'位是氟且从反义链的 5'端开始的第 7、12、14 位核苷酸糖基 2'位是氟，其余的核苷酸糖基 2'位均是甲氧基。

在一些实施方式中，所述正义链和/或反义链的核苷酸之间存在至少两个连续的硫代磷酸酯键。

在一些实施方式中，所述正义链末端和/或反义链末端至少有一端的 3 个连续的核苷酸之间存在至少两个连续的硫代磷酸酯键。

例如，所述正义链和反义链的 5'端和 3'端的 3 个连续的核苷酸之间存在至少两个连续的硫代磷酸酯键。

又例如，从正义链 5'端开始的第 9、10、11 位的核苷酸糖基 2'位是氟且从反义链的 5'端开始的第 2、4、6、8、14、16、18、20 位核苷酸糖基 2'位是氟，其余的核苷酸糖基 2'位均是甲氧基，并且所述正义链和反义链的 5'端和 3'端的 3 个连续的核苷酸之间存在至少两个连续的硫代磷酸酯键。

在一些实施方式中，所述正义链的部分核苷酸 2'位是氟或甲氧基，且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。从正义链 5'端开始的第 5、7、8、9 位或者第 3、5、7、9、11、13、15 的核苷酸 2'位是氟，其余的核苷酸 2'位是甲氧基，且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。

在一些实施方式中，所述正义链的部分核苷酸 2'位是氟或甲氧基，且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。从正义链 5'端开始的第 9、10、11 位或者第 3、5、7、9、11、13、15 和/或 17 的核苷酸 2'位是氟，其余的核苷酸 2'位是甲氧基，且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。

在一些筛选实施方案中，正义链和反义链的 3'端可以分别悬挂两个 tt，所述 RNA 抑制剂的正义链和反义链选自 a) 表 6 中序列，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列：

表 6 RNA 抑制剂

RNA 抑制剂	正义链			反义链		
	SEQ ID NO.	单链代码	序列 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链 5'→3'
DS52	155	S52	gcuuaaaaggacaguauucutt	206	AS52	agaauacuguccuuuaagctt
DS53	156	S53	ggagcaccguuaaggacaagutt	207	AS53	acuuguccuuacggugucuctt
DS54	157	S54	gagcaccguuaaggacaaguutt	208	AS54	aacuuguccuuacggugucuctt
DS55	158	S55	gcaccguuaaggacaaguucutt	209	AS55	agaacuuguccuuacggugcctt
DS56	159	S56	gcaugcuggccucccauaaatt	210	AS56	uuuauugggagccagcaugcctt
DS57	160	S57	guucucugaguucggauuutt	211	AS57	aaaucccagaacucagagaatt
DS58	161	S58	uuacauagacacgccaccaatt	212	AS58	uugugggcugcuucauguaatt
DS59	162	S59	gcugccugagaccucauacctt	213	AS59	gguaugaggucucaggcagctt
DS60	163	S60	guccaccugccuauccauccutt	214	AS60	aggauaggauaggcaggugcatt
DS61	164	S61	gauggcucucaguuccgaaatt	215	AS61	uuucagggaacugaagccauctt
DS62	165	S62	ucucagcucaugcaggguuatt	216	AS62	uaacccugcaugaagcugagatt
DS63	166	S63	ucagcucaugcaggguuacatt	217	AS63	uguaaccugcaugaagcugatt
DS64	167	S64	gcuucaugcaggguuacugatt	218	AS64	ucauguaaccugcaugaagcctt
DS65	168	S65	cucugaguucugggauuugcatt	219	AS65	uccaaaucccagaacucagatt
DS66	169	S66	gcuucaguuuccgaaagacutt	220	AS66	agucuuuacgggaacugaagctt
DS67	170	S67	caguucccugaaagacuacugtt	221	AS67	caguagucuuuacgggaacugtt
DS68	171	S68	uucccugaaagacuacugcagtt	222	AS68	cuccaguagucuuuacgggaatt
DS69	172	S69	aaagacuacugcagcaccguutt	223	AS69	aacggugucccagugagucuuutt
DS70	173	S70	agacuacugcagcaccguuaatt	224	AS70	uuacaggugucccagugagucutt
DS71	174	S71	ccguuaaggacaaguucucugtt	225	AS71	cagagaacuuguccuuacagggtt
DS72	175	S72	ggacaaguucucugaguucugtt	226	AS72	cagaacucagagaacuugucctt
DS73	176	S73	ucugaguuucugggauuugcatt	227	AS73	guccaaaucccagaacucagatt
DS74	177	S74	ugaggucagaccaacuucagctt	228	AS74	gcugaaguuggucugaccucatt
DS75	178	S75	ugagaccucaauaccccaagutt	229	AS75	acuugggguauuaggguucatt
DS76	179	S76	uaucauccugcagcuccuutt	230	AS76	aaggagcucgcaggauugauatt
DS77	180	S77	cugccccuagguugcuuaaatt	231	AS77	uuagcacaacuacagggcagtt
DS78	181	S78	ugccccuagguugcuuaaatt	232	AS78	uuuaagcaaccuacaggggcatt
DS79	182	S79	cccucguagguugcuuaaagtt	233	AS79	cuuuuaagcaaccuacaggggtt
DS80	183	S80	agaccgccaaggauccagucatt	234	AS80	ucagugcauccuugcgguucutt
DS81	184	S81	uagguugcuuaaaggacagtt	235	AS81	cuguccuuuuuagcaaccuatt
DS82	185	S82	caguauucucagucucuccutt	236	AS82	aggagagcacugagaauucgutt
DS83	186	S83	uauucucagucucuccuacctt	237	AS83	gguaaggagacacugagaauatt
DS84	187	S84	ugcucuccuacccaccucautt	238	AS84	augaggugggguaggagagcatt
DS85	188	S85	gcuccuugggucuccaauccutt	239	AS85	agauugcaggaccaaggagcctt
DS86	189	S86	ucagaccaacuucagccguggtt	240	AS86	ccacggcuagaauuggucugatt
DS87	190	S87	uggcugccugagaccucauatt	241	AS87	uauugaggucucaggcagccatt
DS88	191	S88	uucugggaauuggaccucaggtt	242	AS88	cucaggguccaaauccagaatt
DS89	192	S89	ugggaauuggaccucagguuctt	243	AS89	gaccucaggguccaaauccatt
DS90	193	S90	auuuggaccucagggucagactt	244	AS90	gucugaccucaggguccaaaatt

RNA 抑制剂	正义链			反义链		
	SEQ ID NO.	单链代码	序列 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链 5'→3'
DS91	194	S91	agaccaacuucagccgugcucc	245	AS91	agccacggcugaaguugcucc
DS92	195	S92	uugggucugcauuccaggtt	246	AS92	ccuggagauugcaggaccaatt
DS93	196	S93	accugccuauccauccugcatt	247	AS93	ucgcaggauugauaggcaggutt
DS94	197	S94	ugccuauccauccugcagcatt	248	AS94	agcucgcaggauugauaggcatt
DS95	198	S95	gagcuccuugggucugcauatt	249	AS95	auugcaggaccaaggagcucc
DS96	199	S96	acagauuucucagucucucc	250	AS96	ggagagcacugagaauucucc
DS97	200	S97	ucucagugcucuccuacccatt	251	AS97	uggggauaggagagcacugagatt
DS98	201	S98	uccuugggucugcauuccatt	252	AS98	ggagauugcaggaccaaggatt
DS99	202	S99	uggaccugaggucagaccaatt	253	AS99	uuggucugaccucaggguccatt
DS100	203	S100	accugaggucagaccaauatt	254	AS100	aaguuggucugaccucaggguatt
DS101	204	S101	ccugaggucagaccaauatt	255	AS101	ugaaguuggucugaccucagggtt
DS102	205	S102	aaggacagauuucucagucc	256	AS102	gcacugagaauucuguccuuuu

其中 g=鸟苷酸，a=腺苷酸，u=尿苷酸，c=胞苷酸，t=胸苷酸。

在一些实施方案中，所述正义链的部分核苷酸 2'位是氟，且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以硫代。

在一些实施方案中，RNA 抑制剂中的正义链优先选自下列表 6-1 和表 6-2 中的正义链序列。

表 6-1 正义链的修饰序列

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'
257	S103	GsGsAGfCAfCfGfGUUAAGGACAAsGsU
258	S104	GsAsGCfACfCfGfUUAAGGACAAGsUsU
259	S105	GsCsACfCGfUfUfAAGGACAAGUUsCsU
260	S106	GsCsAUfGCfUfGfGCCUCCCAAUAsAsA
261	S107	UsUsACfAUfGfAfAGCACGCCACCsAsA
262	S108	UsCsUCfAGfCfUfUCAUGCAGGGUsUsA
263	S109	GsCsUUfCAfGfUfUCCCUGAAAGAsCsU
264	S110	CsAsGUfUCfCfCfUGAAAGACUACsUsG
265	S111	UsUsCCfCUfGfAfAAGACUACUGGsAsG
266	S112	AsAsAGfACfUfAfCUGGAGCACCGsUsU
267	S113	AsGsACfUAfCfUfGGAGCACCGUUsAsA
268	S114	CsCsGUfUAfAfGfGACAAGUUCUCsUsG
269	S115	GsGsACfAAfGfUfUCUCUGAGUUCsUsG
270	S116	UsCsUGfAGfUfUfCUGGGAUUUGGsAsC
271	S117	UsGsAGfACfCfUfCAAUACCCCAAsGsU
272	S118	CsUsGCfCCfCfUfGUAGGUUGCUUsAsA
273	S119	UsGsCCfCCfUfGfUAGGUUGCUUsAsA
274	S120	CsCsCCfUGfUfAfGGUUGCUUAAAAsG
275	S121	UsAsGGfUUfGfCfUUAAGGGACsAsG
276	S122	CsAsGUfAUfUfCfUCAGUGCUCUCsCsU
277	S123	UsAsUUfCUfCfAfGUGCUCUCCUAsCsC
278	S124	UsGsGCfUGfCfCfUGAGACCUCAAsUsA
279	S125	UsUsGGfGUfCfCfUGCAAUCUCCAsGsG

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'
280	S126	UgGsCCfUAfUfCfCAUCCUGCGAGsCsU
281	S127	GsAsGcFUCfCfUfUfUGGGUCCUGCAsAsU
282	S128	AsCsAGfUAfUfUfCUCAGUGCUCUsCsC
283	S129	UsCsUCfAGfUfGfCUCUCCUACCCsCsA
284	S130	AsCsCCfUGfAfGfGUCAGACCAACsUsU
285	S131	CsCsUGfAGfGfUfCAGACCAACUUsCsA
286	S132	AsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsC
287	S133	GsGsGfAGfCAfCfCfUfUfAfAGfGACAAsgsU
288	S134	GsAsfGcFACfCfGfUfUfAAfGGfACAAGsUsU
289	S135	GsCsGfACfCGfUfUfAAfGGfACfAAGUUsCsU
290	S136	GsCsGfAUfGCfUfGfGfCfUfCCfCAAUAsAsA
291	S137	UsUsfACfAUfGfAfAGfCAfCGfCCACCsAsA
292	S138	UsCsUfCfAGfCfUfUfCfAUfGCfAGGGUsUsA
293	S139	GsCsUfUfCfAfGfUfUfCfCCfUGfAAAGAsCsU
294	S140	CsAsfGUfUCfCfCfUfGfAAfAGfACUACsUsG
295	S141	UsUsfCCfCUfGfAfAAfGfAfCUfACUGGsAsG
296	S142	AsAsfAGfACfUfAfCfUfGfGfAGfCfACCGsUsU
297	S143	AsGsGfACfUAfCfUfGfGfAGfCAfCCGUUsAsA
298	S144	CsCsGfGUfUAfAfGfGfAfCAfAGfUUCUCsUsG
299	S145	GsGsGfACfAAfGfUfUfCfUfUfGfAGUUCsUsG
300	S146	UsCsUfGfAGfUfUfCfUfGfGfGAfUUGGsAsC
301	S147	UsGsGfAGfACfCfUfCfAfAUfACfCCCAAsGsU
302	S148	CsUsfGCfCCfCfUfGfUfAGfGUfUGCUUsAsA
303	S149	UsGsGfCCfCCfUfGfUfAfGGfUfUfGCUUsAsA
304	S150	CsCsGCCfUGfUfAfGfGfUfUfGfCUUAAAsAsG
305	S151	UsAsfGGfUfUfGfCfUfUfAAfAAfGGGACsAsG
306	S152	CsAsfGUfAUfUfCfUfCfAGfUfGfCUCUCsCsU
307	S153	UsAsfUfUfCfUfCfAfGUfGfCfUfUCCUAsCsC
308	S154	UsGsGfGCfUGfCfCfUfGfAGfACfCUCAAsUsA
309	S155	UsUsfGGfGUfCfCfUfGfCAfAUfCUCCAsGsG
310	S156	UsGsGfCCfUAfUfCfCAfUfCfUfGCGAGsCsU
311	S157	GsAsfGcFUCfCfUfUfGfGGfUCfUCGAsAsU
312	S158	AsCsGfAGfUAfUfUfCfCAfGUfGCUCUsCsC
313	S159	UsCsUfCfAGfUfGfCfUfCfUfCCfUACCCsCsA
314	S160	AsCsGfCCfUGfAfGfGUfCAfGAfCCAACsUsU
315	S161	CsCsUfGfAGfGfUfCAfGAfCCfAACUUsCsA
316	S162	AsAsfGGfGAfCAfGfUfAUfUfCfUfCAGUsGsC
407	S163	GsGsAGCACCCfGfUfUAAGGACAAsGsU

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'
408	S164	GsAsGCACCGfUfUfAAGGACAAGsUsU
409	S165	GsCsACCGUUFfAfAfGGACAAGUUsCsU
410	S166	GsCsAUGCUGfGfCfCUCCCAAUAsAsA
411	S167	UsUsACAUGAfAfGfCACGCCACCsAsA
412	S168	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGUsUsA
413	S169	GsCsUUCAGUfUfCfCCUGAAAGAsCsU
414	S170	CsAsGUUCCCFUfGfAAAGACUACsUsG
415	S171	UsUsCCCUGAfAfAfGACUACUGGsAsG
416	S172	AsAsAGACUAFfCfUfGGAGCACCGsUsU
417	S173	AsGsACUACUfGfGfAGCACCGUUsAsA
418	S174	CsCsGUUAAGfGfAfCAAGUUCUsUsG
419	S175	GsGsACAAGUfUfCfUCUGAGUUCsUsG
420	S176	UsCsUGAGUUFfCfUfGGGAUUUGGsAsC
421	S177	UsGsAGACCUfCfAfAUACCCCAAsGsU
422	S178	CsUsGCCCCUfGfUfAGGUUGCUUsAsA
423	S179	UsGsCCCCUGfUfAfGGUUGCUUAsAsA
424	S180	CsCsCCUGUAFgGfGUUGCUUAAAsAsG
425	S181	UsAsGGUUGCfUfUfAAAAGGGACsAsG
426	S182	CsAsGUAUUCfUfCfAGUGCUCUCsCsU
427	S183	UsAsUUCUCAfGfUfGCUCUCCUAsCsC
428	S184	UsGsGCUGCCfUfGfAGACCUCAsUsA
429	S185	UsUsGGGUCCfUfGfCAAUCUCCAsGsG
430	S186	UsGsCCUAUCfCfAfUCCUGCGAGsCsU
431	S187	GsAsGCUCCUfUfGfGGUCCUGCAsAsU
432	S188	AsCsAGUAUUFfCfUfCAGUGCUCUsCsC
433	S189	UsCsUCAGUGfCfUfCUCCUACCCCsAsA
434	S190	AsCsCCUGAGfGfUfCAGACCAACsUsU
435	S191	CsCsUGAGGUfCfAfGACCAACUUsCsA
436	S192	AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsC

表 6-2 正义链的修饰序列

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链 5'→3'
1028	S457	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
1029	S458	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
1030	S459	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1031	S460	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
1032	S461	GsAsCAGUAUfUfCfUfCAGUGCUCsUsU
1033	S462	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1034	S463	GsUsGGCUfGfCfUfGAGACCUCAsAsU
1035	S464	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
1036	S465	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1037	S466	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
1038	S467	GsAsCAGUfAUfUfCfUfCAGUGCUCsUsU

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链 5'→3'
1039	S468	GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1040	S469	GUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
1041	S470	AAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
1042	S471	CACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1043	S472	GGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
1044	S473	GACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
1045	S474	GUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
1046	S475	AAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
1047	S476	CACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1048	S477	GGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
1049	S478	GACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
1050	S479	GAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1051	S480	GAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1052	S481	GAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
1053	S482	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
1054	S483	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
1055	S484	CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1056	S485	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
1057	S486	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
1058	S487	GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
1059	S488	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
1060	S489	CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1061	S490	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
1062	S491	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
1063	S492	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
1064	S493	AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
1065	S494	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
1066	S495	GUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
1067	S496	AAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
1068	S497	CGCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1069	S498	GGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
1070	S499	GACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
1071	S500	GUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
1072	S501	AAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
1073	S502	CGCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
1074	S503	GGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
1075	S504	GACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
1076	S505	AAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
1077	S506	AAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
1078	S507	AAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
1079	S508	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCsCsA
1080	S509	GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链 5'→3'
1081	S510	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA
1082	S511	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA
1083	S512	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA
1084	S513	GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA
1085	S514	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA
1086	S515	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA
1087	S516	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA
1088	S517	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsA
1089	S518	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
1090	S519	GsCsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAsGsU
1091	S520	GsCsGCGACAfGfUfAUUCTCAsGsA
1092	S521	GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA
1093	S522	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCcCsA
1094	S523	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsCsG
1095	S524	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsCsG
1096	S525	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsG
1097	S526	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsG
1098	S527	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsC
1099	S528	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsC
1100	S529	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsC
1101	S530	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsC
1102	S531	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsC
1103	S532	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsC
1104	S533	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsC
1105	S534	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsC
1106	S535	AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsC
1107	S536	AsAsGGGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsC
1108	S537	AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
1109	S538	AsAsGGGAfCAfGfUfAUUCUCAsGsU
1110	S539	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1111	S540	AsAsGCGfACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
1112	S541	AsAsGGfGAfCfAfGUAUUCTCAGUsGsU
1113	S542	GsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsU
1114	S543	CsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsU
1115	S544	GsGsGAfCAfGfUfAUUCUCAGUGCsUsA
1116	S545	GsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsU
1117	S546	GsAsGCFGAfCfAfGUAUUCTCAGUsGsU
1118	S547	UsAsGGfGAfCfAfGUAUUCTCAGUsGsU
1119	S548	AsUsGGfGAfCfAfGUAUUCTCAGUsGsU
1120	S549	AsGsGGfACfAfGfUAUUCUCAGUGsUsA
1121	S550	AsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsA
1122	S551	GsCsUUfAAfAfAfGGGACAGUAUUsCsA

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链 5'→3'
1123	S552	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAUUsCsA
1124	S553	GsCsUUfAAfAfAfGfGGACAGUAUUsCsU
1125	S554	GsCsUfUUfAAfAfAfGfGfGAfCfGUAUUsCsU
1126	S555	CsUsUAfAAfAfAfGfGGACAGUAUUCsUsC
1127	S556	CsUsfUAfAAfAfAfGfGGfACfAGfUAUUCsUsC
1128	S557	UsUsAAfAAfGfGfGACAGUAUUCUsCsA
1129	S558	UsUsfAAfAAfGfGfGfGAfCfAGUfAUUCUsCsA
1130	S559	UsAsAAfAGfGfGfACAGUAUUCUCsAsG
1131	S560	UsAsfAAfAGfGfGfACfAGfUAfUUCUCsAsG
1132	S561	AsAsAAfGGfGfGfAfCAGUAUUCUCAsGsC
1133	S562	AsAsfAAfGGfGfGfAfCfAGUfAUfUCUCAsGsC
1134	S563	AsAsAGfGGfAfCfAGUAUUCUCAGsUsG
1135	S564	AsAsAfGGfGAfCfAfGfUAfUfUCfUCAGsUsG
1136	S565	AsAsGGfGAfCfAfGUAUUCUCAGUsGsC
1137	S566	AsAsfGGfGAfCfAfGfUAfUfUCfUCAGUsGsC
1138	S567	AsGsGGfACfAfGfUAUUCUCAGUGsCsU
1139	S568	AsGsGfGGfACfAfGfUAfUfUfUCfUCAGUGsCsU
1140	S569	GsCsUUfAAfAfAfGGGACAGUAUUsCsA
1141	S570	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAUUsCsA

其中, G=2'-O-甲基鸟苷酸, A=2'-O-甲基腺苷酸, U=2'-O-甲基尿苷酸, C=2'-O-甲基胞苷酸; fG=2'-氟鸟苷酸, fA=2'-氟腺苷酸, fU=2'-氟尿苷酸, fC=2'-氟胞苷酸, Gs=2'-O-甲基-3'-硫代鸟苷酸, As=2'-O-甲基-3'-硫代腺苷酸, Us=2'-O-甲基-3'-硫代尿苷酸, Cs=2'-O-甲基-3'-硫代胞苷酸, fGs=2'-氟-3'-硫代鸟苷酸, fAs=2'-氟-3'-硫代腺苷酸, fUs=2'-氟-3'-硫代尿苷酸, fCs=2'-氟-3'-硫代胞苷酸, T=胸苷酸, Ts=3'-硫代胸苷酸。

在某些实施方案中, 本申请所述的 RNA 抑制剂的正义链选自: a) 表 6-1 和表 6-2 中的序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 或 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列。

在一些实施方案中,所述反义链的部分核苷酸 2'位是氟,且所述反义链的末端至少有 3 个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以硫代,所述 RNA 抑制剂中的反义链优先选自 a) 表 7-1 和表 7-2 中的序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列,或 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列;

表 7-1 反义链的修饰序列

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'→3'
317	AS103	AsCsUUGUfCCUUAfACfGGUGCU _s CsC
318	AS104	AsAsCUUGfUCCUUFaAfCGGUGC _s UsC
319	AS105	AsGsAACUfUGUCCfUfUAACGGU _s GsC
320	AS106	UsUsUAUUFgGGGAGfGCfCAGCAU _s GsC
321	AS107	UsUsGGUGfGCGUGfCUfUCAUGU _s AsA
322	AS108	UsAsACCCfUGCAUfGAfAGCUGAsGsA
323	AS109	AsGsUCUUFUCAGGfGAfACUGAA _s GsC
324	AS110	CsAsGUAGfUCUUUFCAfGGGAAC _s UsG

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'→3'
325	AS111	CsUsCCAGfUAGUCfUUfUCAGGGsAsA
326	AS112	AsAsCGGUfGCUCCfAGfUAGUCUsUsU
327	AS113	UsUsAACGfGUGCUfCCfAGUAGUsCsU
328	AS114	CsAsGAGAfACUUGfUCfCUUAACsGsG
329	AS115	CsAsGAACfUCAGAfGAFACUUGUsCsC
330	AS116	GsUsCCAAfAUCCCfAGfAACUCAsGsA
331	AS117	AsCsUUGGfGGUAUfUGfAGGUCUsCsA
332	AS118	UsUsAAGCfAACCUfACfAGGGGCSAsG
333	AS119	UsUsUAAGfCAACCfUAfCAGGGGCSAsA
334	AS120	CsUsUUUAfAGCAAfCCfUACAGGsGsG
335	AS121	CsUsGUCCfCUUUUfAAfGCAACCsUsA
336	AS122	AsGsGAGAfGCACUfGAfGAAUACsUsG
337	AS123	GsGsUAGGfAGAGCfACfUGAGAAUsA
338	AS124	UsAsUUGAfGGUCUfCAfGGCAGCsCsA
339	AS125	CsCsUGGAfGAUUGfCAfGGACCCsAsA
340	AS126	AsGsCUCGfCAGGAfUGfGAUAGGsCsA
341	AS127	AsUsUGCAfGGACCfCAfAGGAGCsUsC
342	AS128	GsGsAGAGfCACUGfAGfAAUACUsGsU
343	AS129	UsGsGGGUfAGGAGfAGfCACUGAsGsA
344	AS130	AsAsGUUGfGUCUGfACfCUCAGGsGsU
345	AS131	UsGsAAGUfUGGUCfUGfACCUCAsGsG
346	AS132	GsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCUUsUsU
347	AS133	AsfCsUUGfUCfCfUUAACfGfGfUGCUsCsC
348	AS134	AsfAsCUUfGUfCfCfUUAafCfGfGUGCsUsC
349	AS135	AsfGsAACfUUGfUfCCUfUfAfAfCGGUsGsC
350	AS136	UsfUsUAUfUGfGfGfAGGCfCfAfGCAUsGsC
351	AS137	UsfUsGGUfGGfCfGfUGCUfUfCfAUGUsAsA
352	AS138	UsfAsACCFUfGfCfAUGAfAfGfCUGAsGsA
353	AS139	AsfGsUCUfUfCfAfGGAfAfCfUGAAsGsC
354	AS140	CsfAsGUAfGUfCfUfUUCAfGfGfGAACsUsG
355	AS141	CsfUsCCAfGUfAfGfUCUfUfCfAGGGsAsA
356	AS142	AsfAsCGGfUGfCfUfCCAGfUfAfGUCUsUsU
357	AS143	UsfUsAACfGGfUfGfCUCcfAfGfUAGUsCsU
358	AS144	CsfAsGAGfAAfCfUfUGUCfCfUfUAACsGsG
359	AS145	CsfAsGAACfUfCfAfGAGAfAfCfUUGUsCsC
360	AS146	GsfUsCCAAfAAfUfCfCCAGfAfAfCUCAsGsA
361	AS147	AsfCsUUGfGGfGfUfAUUGfAfGfGUCUsCsA
362	AS148	UsfUsAAGfCAfAfCfCUACfAfGfGGGCsAsG
363	AS149	UsfUsUAafGcAfAfCCUafCfAfGGGGsCsA
364	AS150	CsfUsUUUfAAfGfCfAACCFUfAfCAGGsGsG
365	AS151	CsfUsGUCfCCfUfUfUUAafGfCfAACCsUsA
366	AS152	AsfGsGAGfAGfCfAfCUGAfGfAfAUACsUsG
367	AS153	GsfGsUAGfGAfGfAfGCACfUfGfAGAAUsA

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'→3'
368	AS154	UsfAsUUGfAGfGfUfCUCAfGfGfCAGCsCsA
369	AS155	CsfCsUGGfAGfAfUfUGCAfGfGfACCCsAsA
370	AS156	AsfGsCUCfGfCfAfGfGAUGfGfAfUAGGsCsA
371	AS157	AsfUsUGCfAGfGfAfCCCAfAfGfGAGCsUsC
372	AS158	GsfGsAGAfGfCfAfCfUGAGfAfAfUACUsGsU
373	AS159	UsfGsGGGfUAfGfGfAGAGfCfAfCUGAsGsA
374	AS160	AsfAsGUUfGGfUfCfUGACfCfUfCAGGsGsU
375	AS161	UsfGsAAGfUUfGfGfUCUGfAfCfCUCAsGsG
376	AS162	GsfCsACUfGfAfGfAfUAACfUfGfUCCCUUsUsU
377	AS163	AsfCsUfUGfUCfCUUAACfGGfUGCUUsCsC
378	AS164	AsfAsCfUfUGfUfCCUUAACfCGfGUGCsUsC
379	AS165	AsfGsAfACfUfUfGUCCUUAACfCGGUUsGsC
380	AS166	UsfUsUfAUfUGfGfGAGGCfCAfGCAUsGsC
381	AS167	UsfUsGfGUfGGfGfGUGCUfUCfAUGUsAsA
382	AS168	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
383	AS169	AsfGsUfCUfUfUfCAGGGAfACfUGAAUsGsC
384	AS170	CsfAsGfUAfGfUfCUUUAACfGGfGAACsUsG
385	AS171	CsfUsCfCAfGfUfAGUCUfUfUfCfAGGGsAsA
386	AS172	AsfAsCfGGfUGfCUCCAGfUAfGUCUUsUsU
387	AS173	UsfUsAfACfGGfUGCUCCfAGfUAGUsCsU
388	AS174	CsfAsGfAGfAAfCUUGUCfCUfUAACsGsG
389	AS175	CsfAsGfAAfCUfCAGAGAfACfUUGUsCsC
390	AS176	GsfUsCfCAfAAfUCCAGfAAfCUCAsGsA
391	AS177	AsfCsUfUGfGGfGUAUUGfAGfGUCUUsCsA
392	AS178	UsfUsAfAGfCAfACCUACfAGfGGGCsAsG
393	AS179	UsfUsUfAAfGCfAACCUAfCAfGGGGSsCsA
394	AS180	CsfUsUfUfUfAAfGCAACCfUAfCAGGsGsG
395	AS181	CsfUsGfUCfCCfUUUUAAfGCfAACCsUsA
396	AS182	AsfGsGfAGfAGfCACUGAfGAfUAACsUsG
397	AS183	GsfGsUfAGfGAfGAGCACfUGfAGAAUsUsA
398	AS184	UsfAsUfUGfAGfGUCUCAfGGfCAGCsCsA
399	AS185	CsfCsUfGGfAGfAUUGCAfGGfACCCsAsA
400	AS186	AsfGsCfUCfGfCfAGGAUGfGAfUAGGsCsA
401	AS187	AsfUsUfGCfAGfGACCAfAGfGAGCsUsC
402	AS188	GsfGsAfGAfGCfACUGAGfAAfUACUsGsU
403	AS189	UsfGsGfGGfUAfGGAGAGfCAfCUGAsGsA
404	AS190	AsfAsGfUfUGfGfUCUGACfCUfCAGGsGsU
405	AS191	UsfGsAfAGfUfUGfGUCUGfACfCUCAsGsG
406	AS192	GsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCCCUUsUsU

表 7-2 反义链的修饰序列

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'-3'
965	AS457	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACsfGsG

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'-3'
966	AS458	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGsG
967	AS459	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGsfGsA
968	AS460	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCsfUsU
969	AS461	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCsfCsC
970	AS462	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
971	AS463	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGcfAGfCCfACsGsG
972	AS464	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUsGsG
973	AS465	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGsGsA
974	AS466	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCsUsU
975	AS467	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCsCsC
976	AS468	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCsUsC
977	AS469	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCsUsU
978	AS470	UsfGsAfGGfUCfUCAGGcfAGfCCfACfGG
979	AS471	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUfGG
980	AS472	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGfGA
981	AS473	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCfUU
982	AS474	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCC
983	AS475	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGcfAGfCCfACGG
984	AS476	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUGG
985	AS477	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGGA
986	AS478	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCUU
987	AS479	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCCC
988	AS480	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUC
989	AS481	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCUC
990	AS482	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCUU
991	AS483	UsfGsAfGGfUCfUCAGGcfAGfCCfACfGsG
992	AS484	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUfGsG
993	AS485	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGfGsA
994	AS486	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCfUsU
995	AS487	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCsC
996	AS488	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGcfAGfCCfACGsG
997	AS489	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUGsG
998	AS490	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGGsA
999	AS491	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCUsU
1000	AS492	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCCsC
1001	AS493	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUsC
1002	AS494	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCUcC
1003	AS495	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCUsU
1004	AS496	AsfUsUfGAfGGfUCUCAGfGCfAGfCCsfAsC
1005	AS497	AsfUsUfGAfGGfUCfUCAGfGCfAGfCCsfAsC
1006	AS498	AsfUsUfGAfGGfUCUCAGfGCfAGfCCfACsGsG
1007	AS499	AsfUsUfGAfGGfUCfUCAGfGCfAGfCCACsGsG

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'-3'
1008	AS500	GsfAsUfGGfAUfAGGCAGfGUfGGfACsfUsU
1009	AS501	GsfAsUfGGfAUfAGfGCAGfGUfGGfACsUsU
1010	AS502	GsfAsUfGGfAUfAGGCAGfGUfGGfACfUUsGsG
1011	AS503	GsfAsUfGGfAUfAGfGCAGfGUfGGfACUUsGsG
1012	AS504	CsfGsCfAGfGAfUGGAUfAGGfCAfGGsfUsG
1013	AS505	CsfGsCfAGfGAfUGfGAUfAGGfCAfGGsUsG
1014	AS506	CsfGsCfAGfGAfUGGAUfAGGfCAfGGfUGsGsA
1015	AS507	CsfGsCfAGfGAfUGfGAUfAGGfCAfGGUGsGsA
1016	AS508	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCCsUsU
1017	AS509	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCCCsUsU
1018	AS510	GsfAsGfAGfCAfCUGAGAfAUfACfUGsfUsC
1019	AS511	GsfAsGfAGfCAfCUfGAGAfAUfACfUGsUsC
1020	AS512	GsfAsGfAGfCAfCUGAGAfAUfACfUGfUCsCsC
1021	AS513	GsfAsGfAGfCAfCUfGAGAfAUfACfUGUCsCsC
1022	AS514	GsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfCCfUUsUsU
1023	AS515	GsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfCCUUsUsU
1024	AS516	AsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfGCsfUsU
1025	AS517	AsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfGCfUUsUsU
1026	AS518	AsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfGCsUsU
1027	AS519	AsfCsAfCUfGfGAfAAUACfUGfUCfGCUUsUsU
1142	AS520	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsU
1143	AS521	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsC
1144	AS522	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsG
1145	AS523	GsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsU
1146	AS524	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsC
1147	AS525	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCGCsUsC
1148	AS526	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsA
1149	AS527	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsAsU
1150	AS528	UsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsU
1151	AS529	UsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUsU
1152	AS530	UsGsAAUAfCUGUCfCCfUUUUAAAsGsC
1153	AS531	UsfGsAfAUfACfUGfUCfCCfUfUfUAAsGsC
1154	AS532	AsAsUACUfGUCCCFUfUUAAGCsAsA
1155	AS533	AsfAsUfACfUGfUCCCUUfUUAAGCsAsA
1156	AS534	GsAsAUACfUGUCCfCUfUUUAAGCsAsA
1157	AS535	GsfAsAfUAfCUfGUCCCUfUUAAGCsAsA
1158	AS536	AsGsAAUAfCUGUCfCCfUUUUAAAsGsC
1159	AS537	AsfGsAfAUfACfUGUCCCFUfUUAAsGsC
1160	AS538	GsAsGAAUfACUGUfCCfUUUUAsAsG
1161	AS539	GsfAsGfAAfUAfCUGUCCfCUfUUUAAsAsG
1162	AS540	UsGsAGAAfUACUGfUCfCCUUUUAsAsA
1163	AS541	UsfGsAfGAfAUfACUGUCfCCfUUUUAsAsA

SEQ ID NO.	反义链代码	反义链 5'-3'
1164	AS542	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUUsUsA
1165	AS543	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUUsUsA
1166	AS544	AsCsUGAGfAAUACfUGfUCCCCUUsUsA
1167	AS545	AsfCsUfGfGfGfAUACUGfUCfCCUUsUsA
1168	AS546	CsAsCUGAfGAAUfCUfGUCCCCUsUsA
1169	AS547	CsfAsCfUGfAGfAAUACUfGUfCCCUUsUsA
1170	AS548	UsAsAUAfCUGUCfCCfUUUUAAGCsAsA
1171	AS549	UsAsfAUfACfUGfUCfCCfUUfUUfAAGCsAsA

其中，G=2'-O-甲基鸟苷酸，A=2'-O-甲基腺苷酸，U=2'-O-甲基尿苷酸，C=2'-O-甲基胞苷酸，fG=2'-氟鸟苷酸，fA=2'-氟腺苷酸，fU=2'-氟尿苷酸，fC=2'-氟胞苷酸，Gs=2'-O-甲基-3'-硫代鸟苷酸，As=2'-O-甲基-3'-硫代腺苷酸，Us=2'-O-甲基-3'-硫代尿苷酸，Cs=2'-O-甲基-3'-硫代胞苷酸，fGs=2'-氟-3'-硫代鸟苷酸，fAs=2'-氟-3'-硫代腺苷酸，fUs=2'-氟-3'-硫代尿苷酸，fCs=2'-氟-3'-硫代胞苷酸，T=胸苷酸。

在某些实施方案中，本申请所述的 RNA 抑制剂的反义链选自：a) 表 7-1 和表 7-2 中的序列，b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列，和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列。

在某些实施方案中，所述 RNA 抑制剂中正义链与反义链选自下表 8。

表 8 序列被修饰的 RNA 抑制剂

RNA 抑制剂	正义链 SEQ ID NO.	正义链代码	反义链 SEQ ID NO.	反义链代码
DS103	407	S163	377	AS163
DS104	408	S164	378	AS164
DS105	409	S165	379	AS165
DS106	410	S166	380	AS166
DS107	411	S167	381	AS167
DS108	412	S168	382	AS168
DS109	413	S169	383	AS169
DS110	414	S170	384	AS170
DS111	415	S171	385	AS171
DS112	416	S172	386	AS172
DS113	417	S173	387	AS173
DS114	418	S174	388	AS174
DS115	419	S175	389	AS175
DS116	420	S176	390	AS176
DS117	421	S177	391	AS177
DS118	422	S178	392	AS178
DS119	423	S179	393	AS179
DS120	424	S180	394	AS180
DS121	425	S181	395	AS181
DS122	426	S182	396	AS182
DS123	427	S183	397	AS183

RNA 抑制剂	正义链 SEQ ID NO.	正义链代码	反义链 SEQ ID NO.	反义链代码
DS124	428	S184	398	AS184
DS125	429	S185	399	AS185
DS126	430	S186	400	AS186
DS127	431	S187	401	AS187
DS128	432	S188	402	AS188
DS129	433	S189	403	AS189
DS130	434	S190	404	AS190
DS131	435	S191	405	AS191
DS132	436	S192	406	AS192

在某些实施方式中，通过在载体中引入靶组织受体的配体，以改变 RNA 抑制剂的分布、靶向或稳定性。例如，与不存在配体的物种相比，专属性的配体可以提供针对所选靶(例如分子、细胞或细胞类型、区室(例如细胞或器官区室、身体组织、器官或区域))的增强的亲和力。

配体可以包括天然存在的物质，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、茁霉多糖、壳多糖、壳聚糖、菊糖、环糊精、N-乙酰葡萄糖胺、N-乙酰半乳糖胺或透明质酸)；或脂质。配体也可以是重组或合成分子，如合成聚合物，例如合成的聚氨基酸。

配体也可以包括靶向基团，例如与指定的细胞类型如肾细胞结合的细胞或组织靶向剂，例如凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质，例如抗体。靶向基团可以是促甲状腺激素、促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性蛋白质 A、黏蛋白碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-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、双膦酸盐、聚谷氨酸、聚天冬氨酸、脂质、胆固醇、类固醇、胆酸、叶酸、维生素 B12、维生素 A、生物素、或 RGD 肽或 RGD 肽模拟物。在某些实施方式中，该配体为多价半乳糖，例如，N-乙酰基-半乳糖胺。

本发明所述的 RNA 抑制剂所包含的正义链和反义链可以通过固相合成的公知技术方便且常规地制备。可另外地或替代地使用本领域中已知的用于这类合成的任何其他方法，如液相合成或发酵。使用相似的技术来制备其他寡核苷酸(如硫代磷酸酯和烷基化衍生物)也是已知的。

在某些实施方式中，除了可商购以及寡核苷酸合成中常规使用的标准核苷亚磷酸胺单体以及非标准核苷亚磷酸胺单体之外，本申请的寡核苷酸或连接的核苷酸可以通过自动合成仪使用衍生自载体-核苷亚磷酸胺单体的亚磷酸胺法合成。

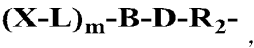
在某些实施方式中，本发明所述配体缀合的方式通过载体结构偶联于反义链的 5'端和/或 3'端，和/或正义链的 5'端和/或 3'端。

例如，所述载体结构可以偶联于正义链的 5'端和/或 3'端；或所述载体结构可以偶联于反义链的 5'端，且所述载体结构偶联于正义链的 3'端；或所述载体结构可以偶联于反义链的 3'端，且所述载体结构偶联于正义链的 5'端。

在某些实施方式中，所述载体结构包括 5'MVIP 和 3'MVIP，其中，所述 5'MVIP 偶联在所述正义链和/或反义链 5'端，所述 3'MVIP 偶联在所述反义链和/或正义链 3'端，所述 5'MVIP 的结构如式 I 所示，所述 3'MVIP 结构如式 II 所示，



I



II

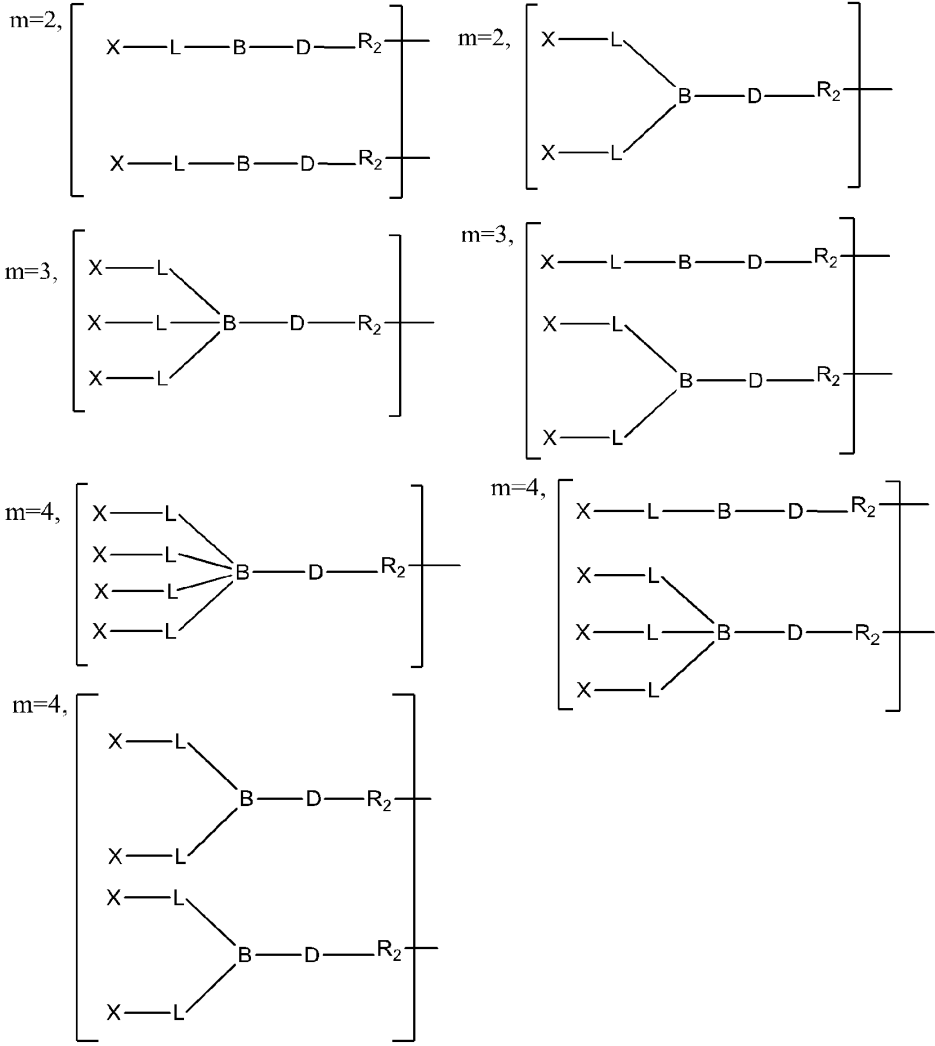
其中，
X 为肝靶向特异性配体；
L 为支链；
B 为接头；
D 为连接链；
R₁ 和 R₂ 为转接点；

所述 5'MVIP 通过转接点 R₁ 与正义链 5'端或反义链 5'端连接，所述 3'MVIP 通过转接点 R₂ 与正义链 3'端或反义链 3'端连接，n 和 m 各自独立地为 0-4 的任意整数，且 n+m=2-6 的整数，优选 n+m=2、3 或 4，更优选为 4。

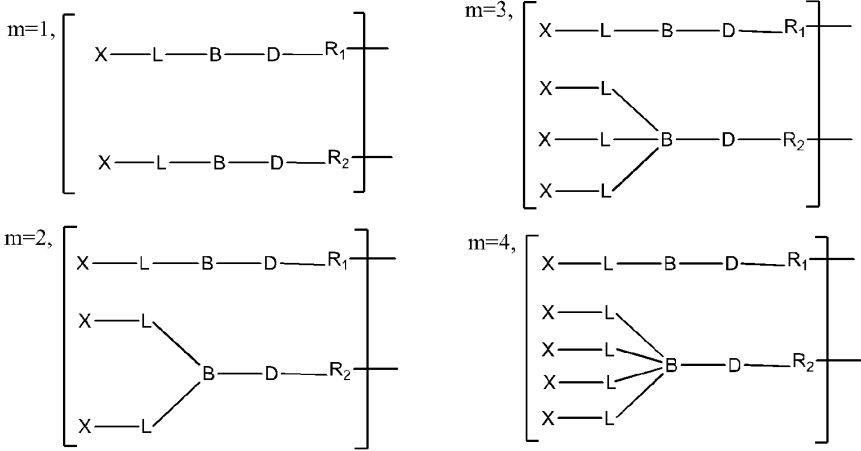
在某些实施方式中，所述 R₁ 或 R₂ 与所述正义链或反义链的连接通过磷酸酯或经修饰的磷酸酯，R₁ 或 R₂ 优选地通过磷酸酯或硫代磷酸酯与所述正义链或反义链相连接。

在某些实施方式中，m 或 n 可以为 0，即不存在 3'MVIP 或 5'MVIP。

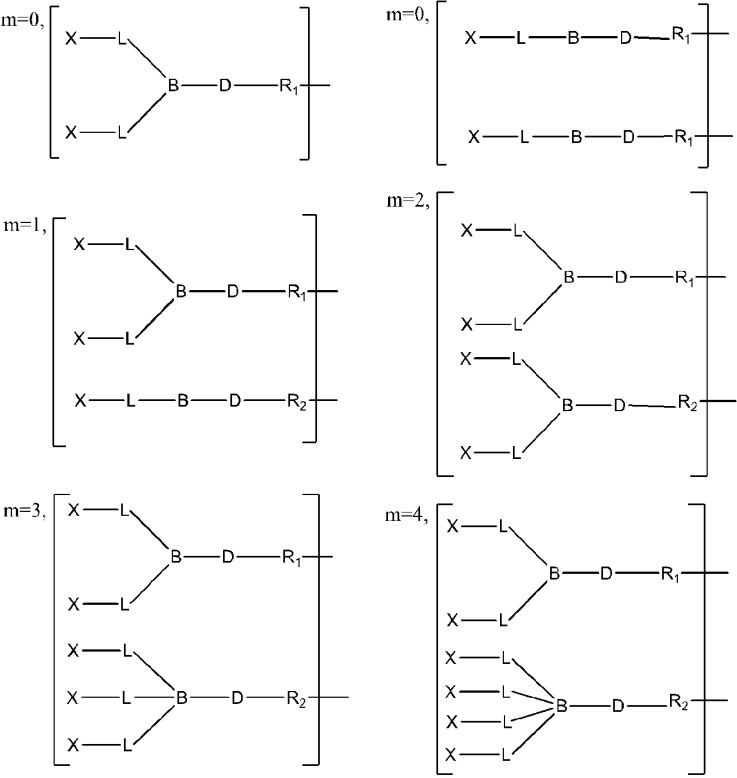
在某些实施方案中，当n=0(即不存在5'MVIP)时，所述3'MVIP的结构可以为：



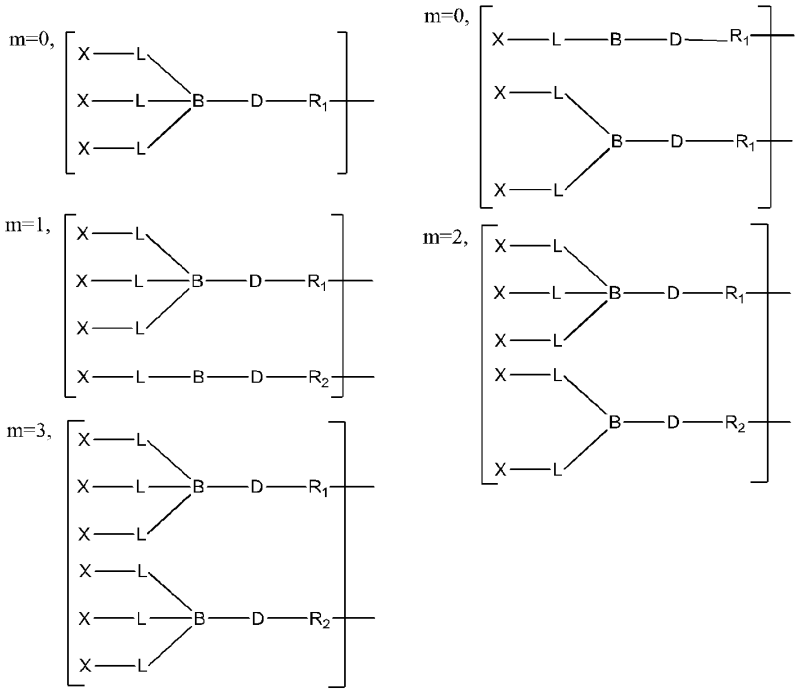
在某些实施方案中，当n=1时，所述3'MVIP的结构可以为：



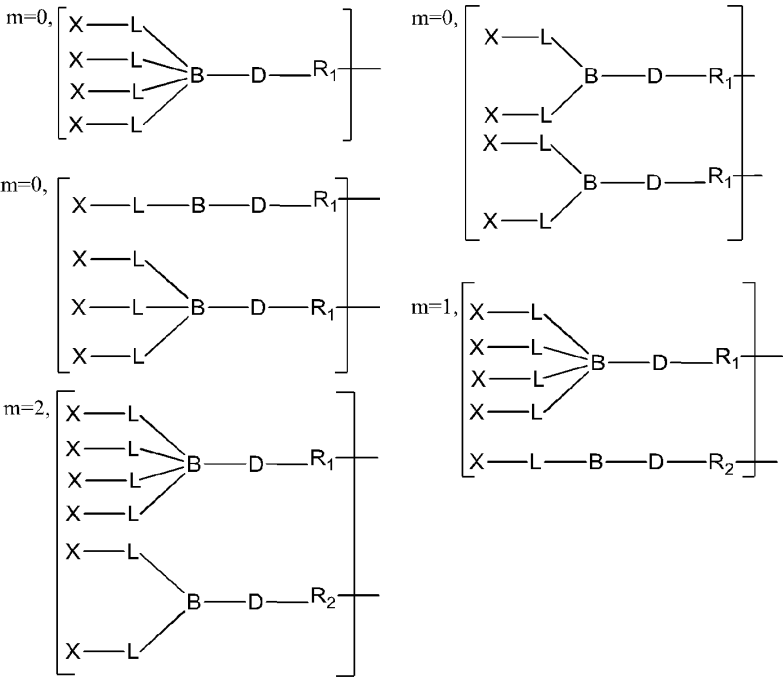
在某些实施方案中，当n=2时，所述3'MVIP的结构可以为：



在某些实施方案中，当n=3时，所述3'MVIP的结构可以为：



在某些实施方案中，当n=4时，所述3'MVIP的结构可以为：



在某些实施方案中，所述的n是指同时放在所述RNA抑制剂的正义链和反义链5'端5'MVIP中n之和，所述的m是指同时放在所述RNA抑制剂的正义链和反义链3'端3'MVIP中m之和。

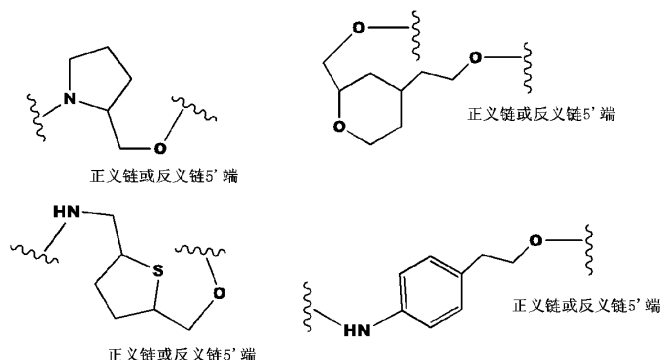
在某些实施方案中，所述R₁和R₂结构中带有-NH-、-S-和/或-O-，R₁和R₂通过结构中-NH-、-S-或-O-分别与连接链D以及正义链和/或反义链5'端和3'端相连，R₁和R₂相同或不相同。

在某些实施方案中,所述 R_1 和 R_2 是任选直链,或带有酰胺基、羧基或烷基类支链的直链或者环状结构,所述环状结构包括饱和或不饱和的脂肪族碳环基,或者含有硫、氧或氮原子的五元或六元杂环基或芳香烃基。

在某些实施方案中,所述 R_1 和/或 R_2 为 $-E_1(CH_2)_xCH_2E_2-$, 其中 x 为 3-12 的任意整数,基团 E_1 和 E_2 可以分别为 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 。

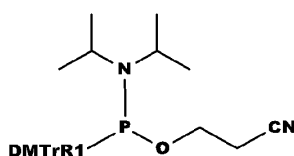
在某些实施方案中,所述 R_1 和/或 R_2 为 $-E_1(CH_2)_{x1}CH(OH)(CH_2)_{x2}E_2-$, 其中 $x1$ 或 $x2$ 各自独立地为 3-10 的任意整数, E_1 和 E_2 可以分别为 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 。

在某些实施方案中,所述 R_1 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构:

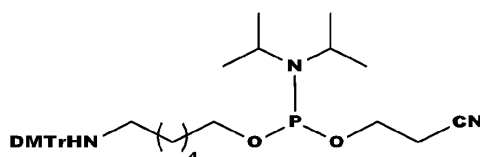


在某些实施方式中,所述转接点 R_1 为 $-NH(CH_2)_xCH_2O-$, 其中 x 为 3-12 的任意整数,优选为 4-6 的任意整数,可以通过以下两种亚磷酰胺单体的方式引入。

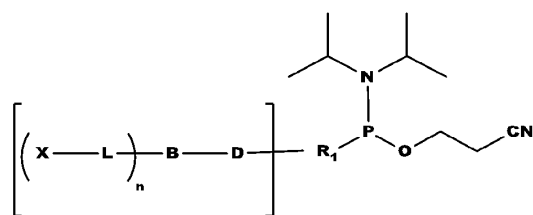
i. R_1 结构中的一个 $-O-$ 或 $-S-$ 用于 R_1 亚磷酰胺单体的合成,通过固相合成的方法接入 RNA 抑制剂正义链或反义链的 5'端。结构中 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 用于与 5'MVIP 中的连接链 D 连接,从而在 RNA 抑制剂中的正义链或反义链的 5'端引入肝靶向特异性配体 X。引入到 RNA 抑制剂正义链或反义链 5'端的单体示例性结构如下:



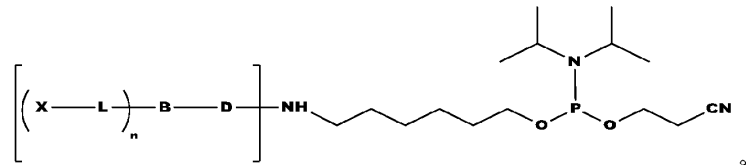
在某些实施方案中,优选以下结构:



ii. R_1 结构中的一个 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 先与连接链 D 连接,另外一个 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$ 用于 5'MVIP 亚磷酰胺单体的合成中与亚磷酰胺成酯,正义链或反义链 5'MVIP 亚磷酰胺单体结构示例如下:



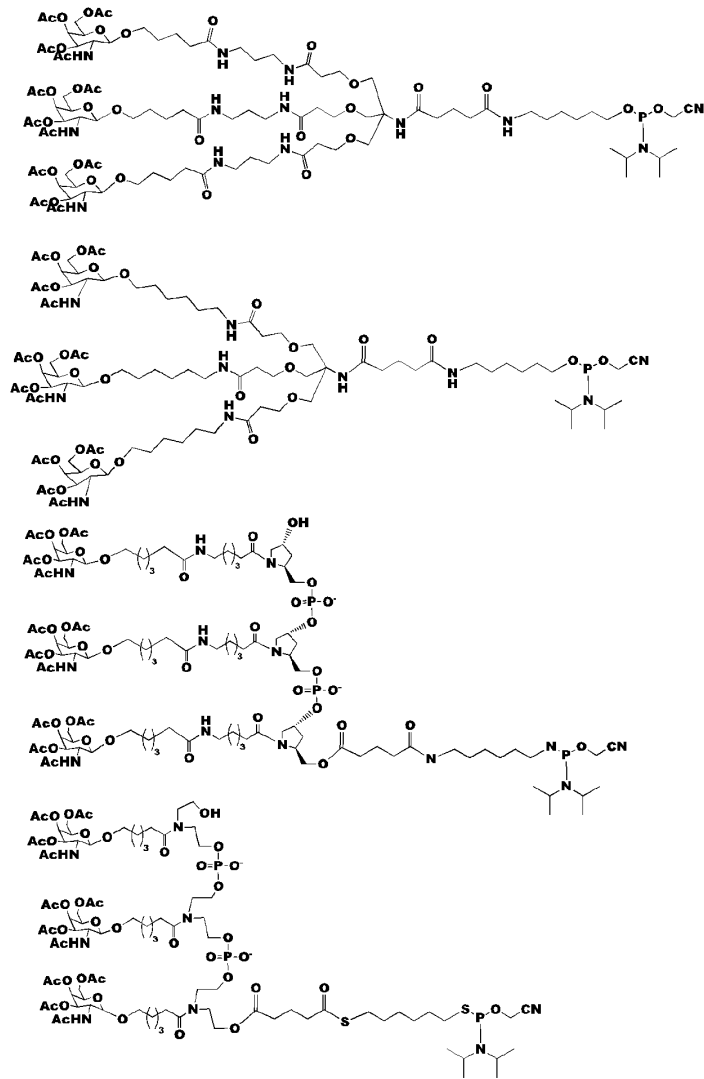
在某些实施方案中，正义链或反义链 5'MVIP 亚磷酰胺单体优选以下结构：

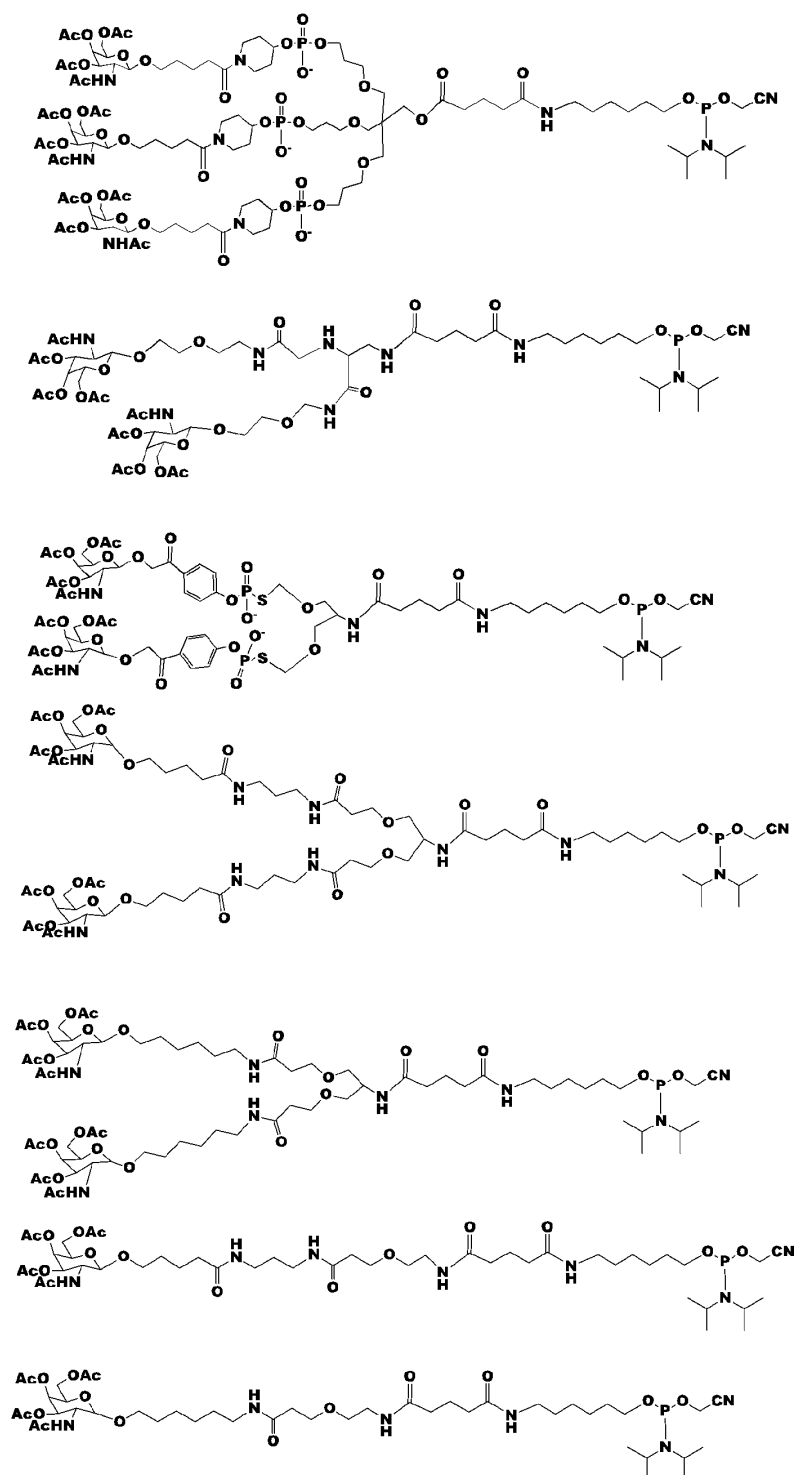


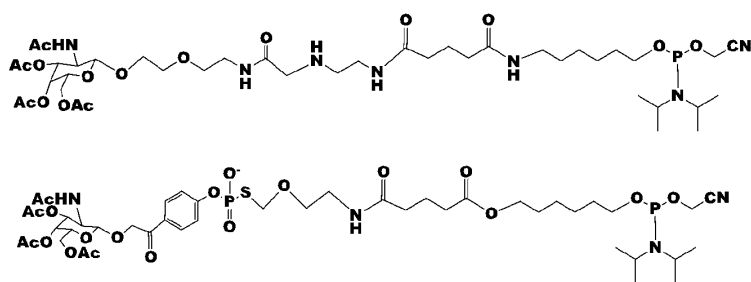
当通式中 n 为 1-4 时，上述的单体中接头 B 部分别分支化 1 至 4 次，以获得对应的单体化合物，借助上述的单体化合物，肝靶向特异性配体 X 通过固相合成被引入到正义链或反义链 5' 端。

在某些实施方案中，所述转接点 R₁ 为 -NH(CH₂)_xCH₂O-，其中 x 可以是 3-12 的任意整数，优选为 4-6 的任意整数。

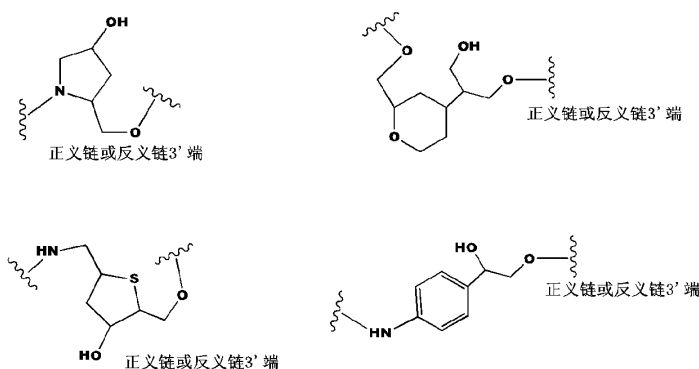
在某些实施方案中，5'MVIP 亚磷酰胺单体结构选自如下结构中：







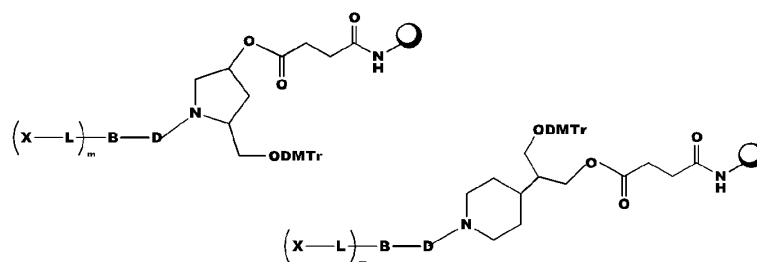
在某些实施方式中，所述转接点 R₂ 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构：



在某些实施方式中,所述转接点 R₂ 为-NH(CH₂)_{x1}CH(OH)(CH₂)_{x2}CH₂O-, 其中 x1 为 1-4 的任意整数, x2 为 0-4 的任意整数。

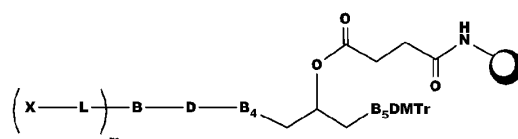
本申请所述的转接点 R₂ 是通过丁二酸酐与 R₂ 结构中-NH-、-S-或-O-成酯或酰胺的同时，又与空白 Solid Support 中-NH-进行偶联，形成 3'MVIP solid support，再通过亚磷酰胺固相合成法，将 3'MVIP 引入到正义链或反义链的 3'端。

在某些实施方案中,所述转接点 R_2 结构中的杂环为吡咯环或哌啶环,其通过环中的氮杂原子与 3'MVIP 的连接链 D 连接,引入 3'MVIP solid support 示例性结构如下:



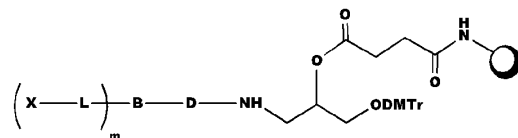
当通式中 m 为 1-4 时，上述的单体中接头 B 部分别变化 1 至 4 次，以获得对应的 Solid Support。

在某些实施方案中,所述转接点 R_2 为 $-B_4(CH_2)_{x1}CH(OH)(CH_2)_{x2}CH_2B_5-$, 其中 x_1 为 1-4 的任意整数, x_2 为 0-4 的任意整数, B_4 和 B_5 分别为 $-NH-$ 、 $-S-$ 或 $-O-$, 引入 3'MVIP solid support 示例性结构如下:



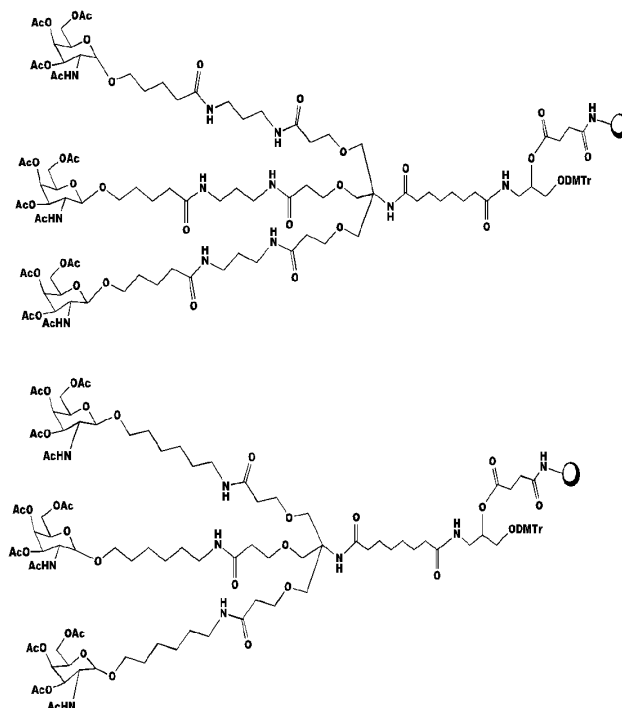
当通式中 m 为 1-4 时，上述的单体中接头 B 部分别分支化 1 至 4 次，以获得对应的 Solid Support。

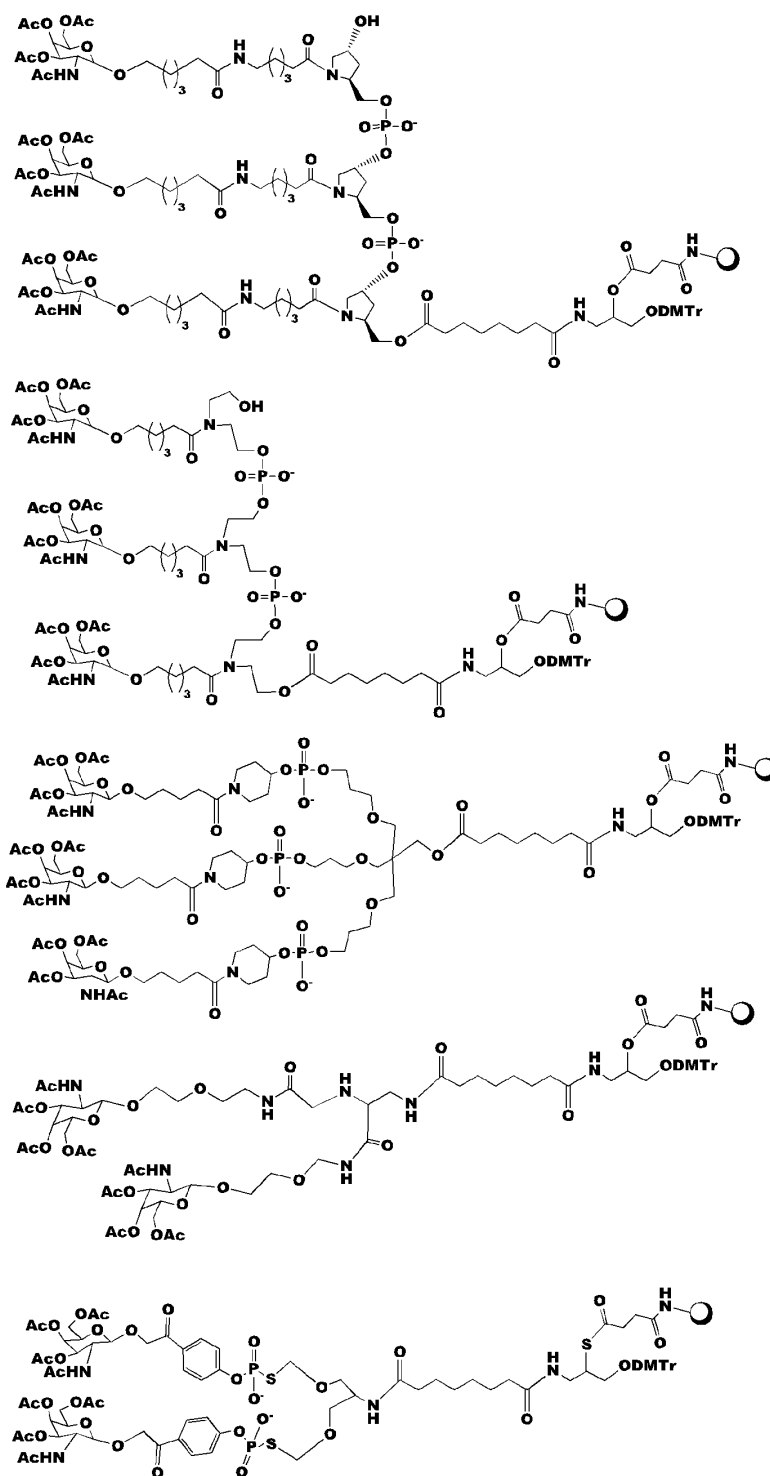
在某些实施方案中， R_2 为 $-NHCH_2CH(OH)CH_2O-$ ，引入 3'MVIP solid support 示例性结构如下：

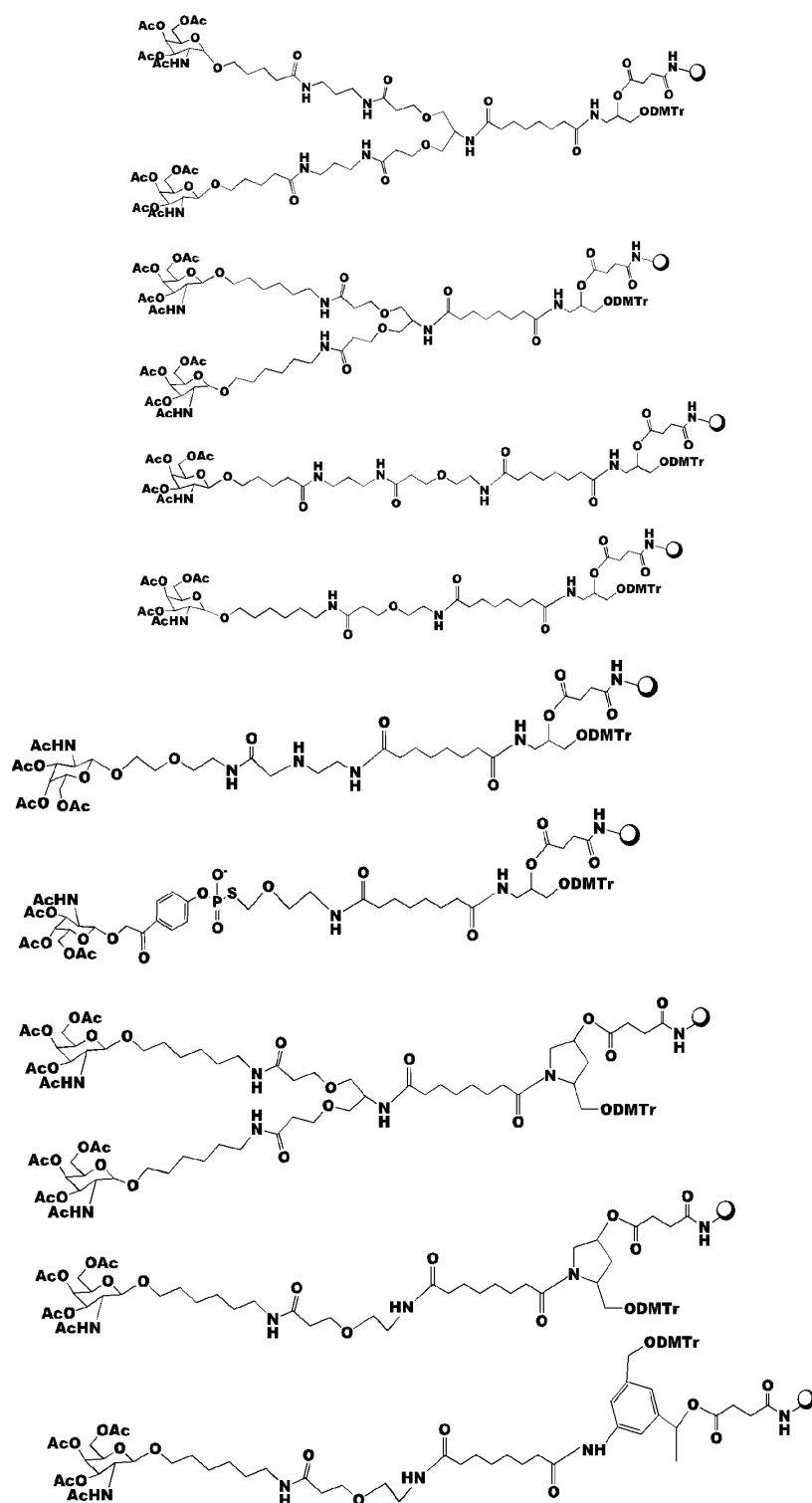


当通式中 m 为 1-4 时，上述的单体中接头 B 部分别分支化 1 至 4 次，以获得对应的 Solid Support。

在某些实施方案中，3'MVIP solid support 结构如下：





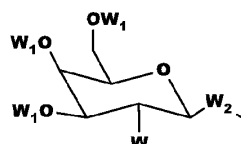


在某些实施方式中, 所述肝靶向特异性配体 X 选自用于增强肝细胞对 RNA 抑制剂的摄取的结构, 可以是脂质、类固醇、维生素、糖、蛋白质、肽、多胺及肽模拟结构。在本申请提供的 RNA 抑制剂中, 引入所述 RNA 抑制剂正义链或反义链末端的肝靶向特异性配体 X 可以相同,

也可以不同,例如在特性上,有些可以是增强肝靶向性,有些可以是所述 RNA 抑制剂在体内药代动力学的调节结构,有些可以是具有体内溶解活性的结构。在某些实施方案中,所述肝靶向特异性配体 X 选自以下结构中的一种或多种单糖及其衍生物。

在某些实施方式中,所述单糖选自以下结构中的一种或多种:甘露糖、半乳糖、D-阿拉伯糖、葡萄糖、果糖、木糖、葡糖胺、核糖。所述单糖衍生物选自甘露糖衍生物、半乳糖衍生物、葡萄糖衍生物、核糖衍生物以及其他衍生物。

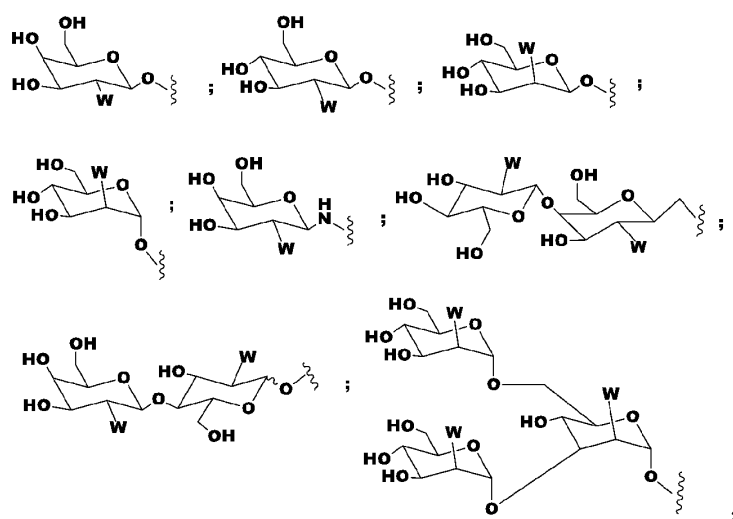
在某些实施方式中,所述肝靶向特异性配体 X 选自半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺及其衍生物,其结构通式如下:



其中, W_1 为氢或羟基保护基,可以相同也可以不同; W 为 $-OH$ 、 $-NHCOOH$ 或 $-NHCO(CH_2)_qCH_3$, 其中 q 为 0-4 的整数; W_2 为 $-NH-$ 、 O 、 S 或 C 。

在某些实施方式中,所述肝靶向特异性配体 X 为 N-乙酰半乳糖胺及其衍生物。

在某些实施方式中,所述肝靶向特异性配体 X 选自以下结构:



其中, W 选自 $-OH$ 、 $-NHCOOH$ 或 $-NHCO(CH_2)_qCH_3$ 中的一种或两种, 其中 q 为 0-4 的整数。

在某些实施方案中,所述肝靶向特异性配体 X 在同一个 5'MVIP 或 3'MVIP 结构中可以相同,也可以不同。

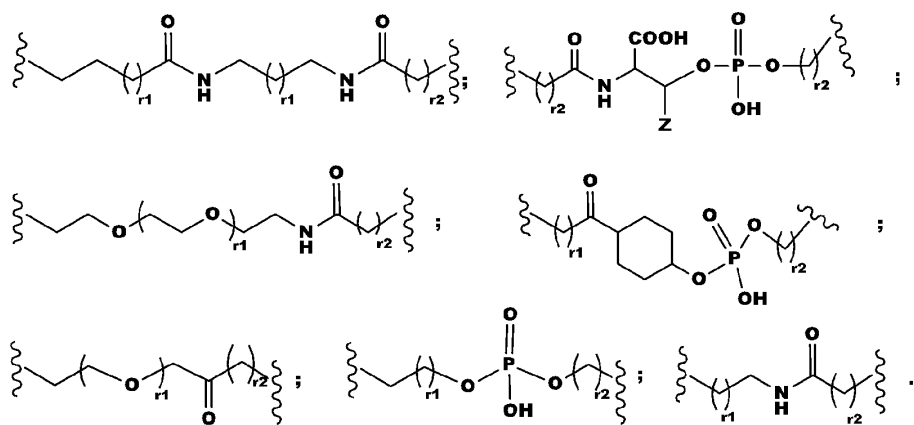
在某些实施方案中,5'MVIP 与 3'MVIP 彼此之间的 X 可以相同,也可以不同。

在某些实施方式中,所述支链 L 是含有 $-NH-$ 、 $-C(=O)-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、酰胺基、磷酰基、硫代磷酰基、 C_4 - C_{10} 脂肪族碳环基、苯基或者这些基团的组合的 C_4 - C_{18} 碳链。

在某些实施方式中,所述支链 L 还带有羟乙基或羧酸类的侧链。

在某些实施方式中,所述支链 L 为含有酰胺基或六元脂肪族碳环基的 C_7 - C_{18} 碳链。

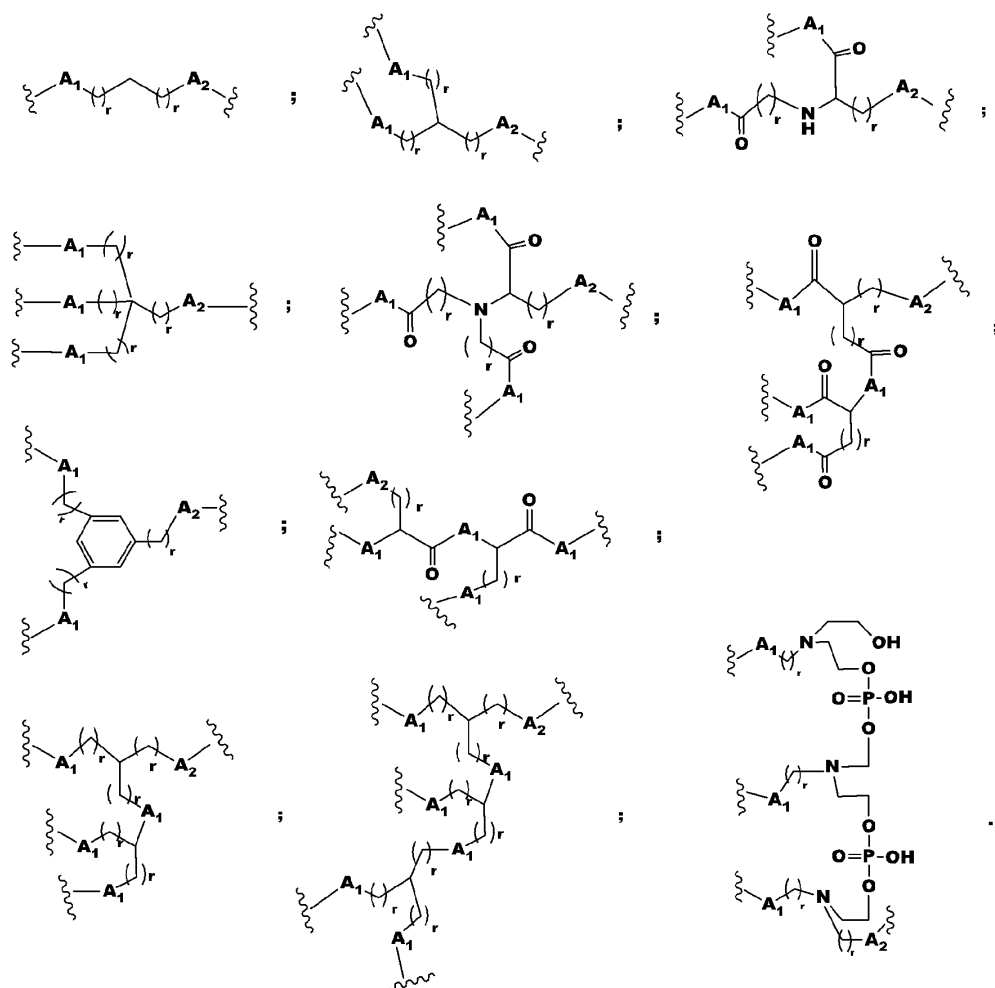
在某些实施方式中,所述支链 L 选自如下结构中的一种或多种:



其中, r_1 是 1-12 的任意整数, r_2 为 0-20 的任意整数, Z 为 H、烷基或酰胺基, 所述烷基如 C_1 - C_5 烷基。

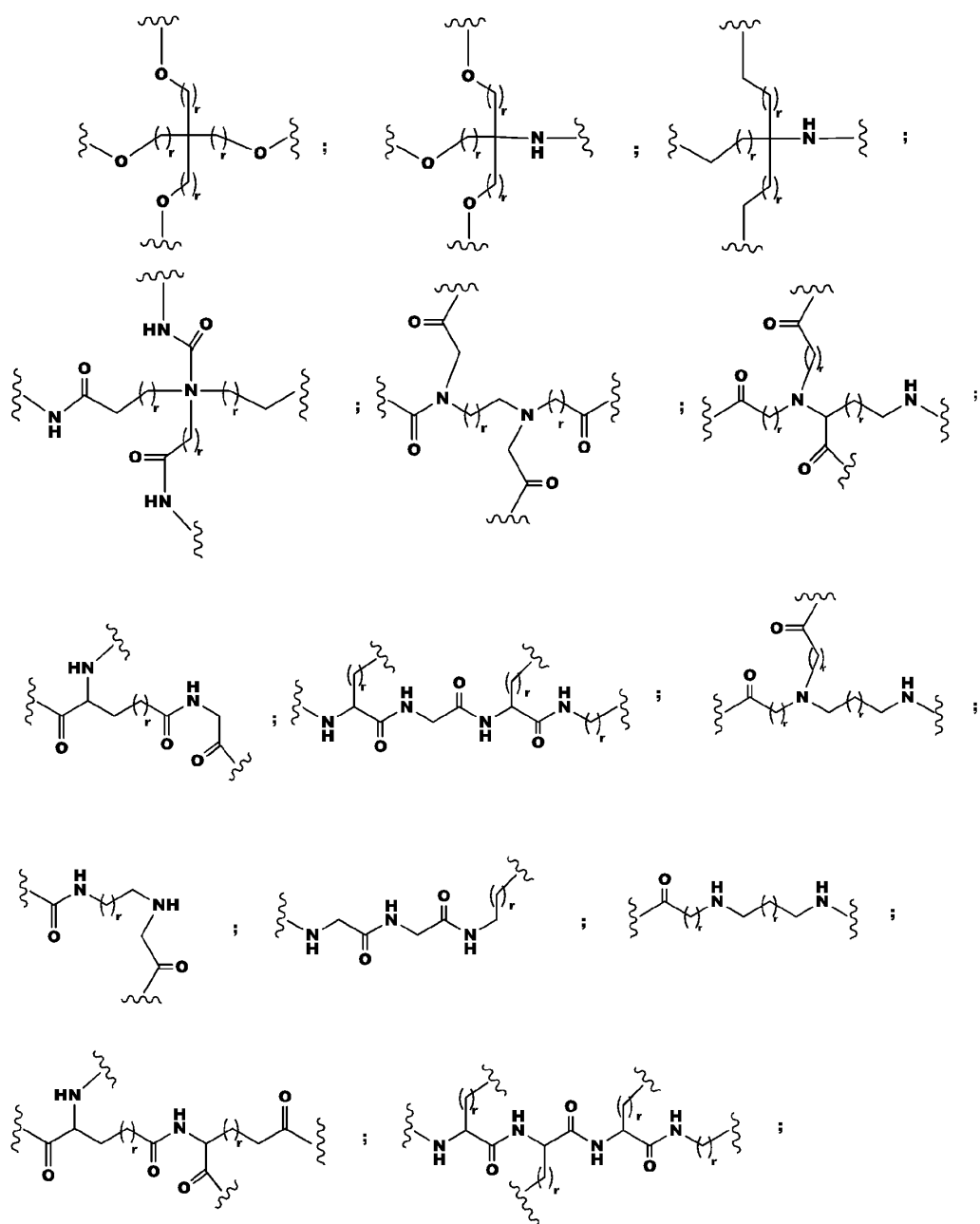
在某些实施方式中, 所述接头 B 的结构与能引入的 X 的数量有关, 所述接头 B 中含 -NH-、C、O、S、酰胺基、磷酰基、硫代磷酰基, 当 n 或 m 为 1 时, 其为一条直链, 当 n 或 m 为 2、3 或 4 时, 其分叉的次数分别为 2、3 或 4。

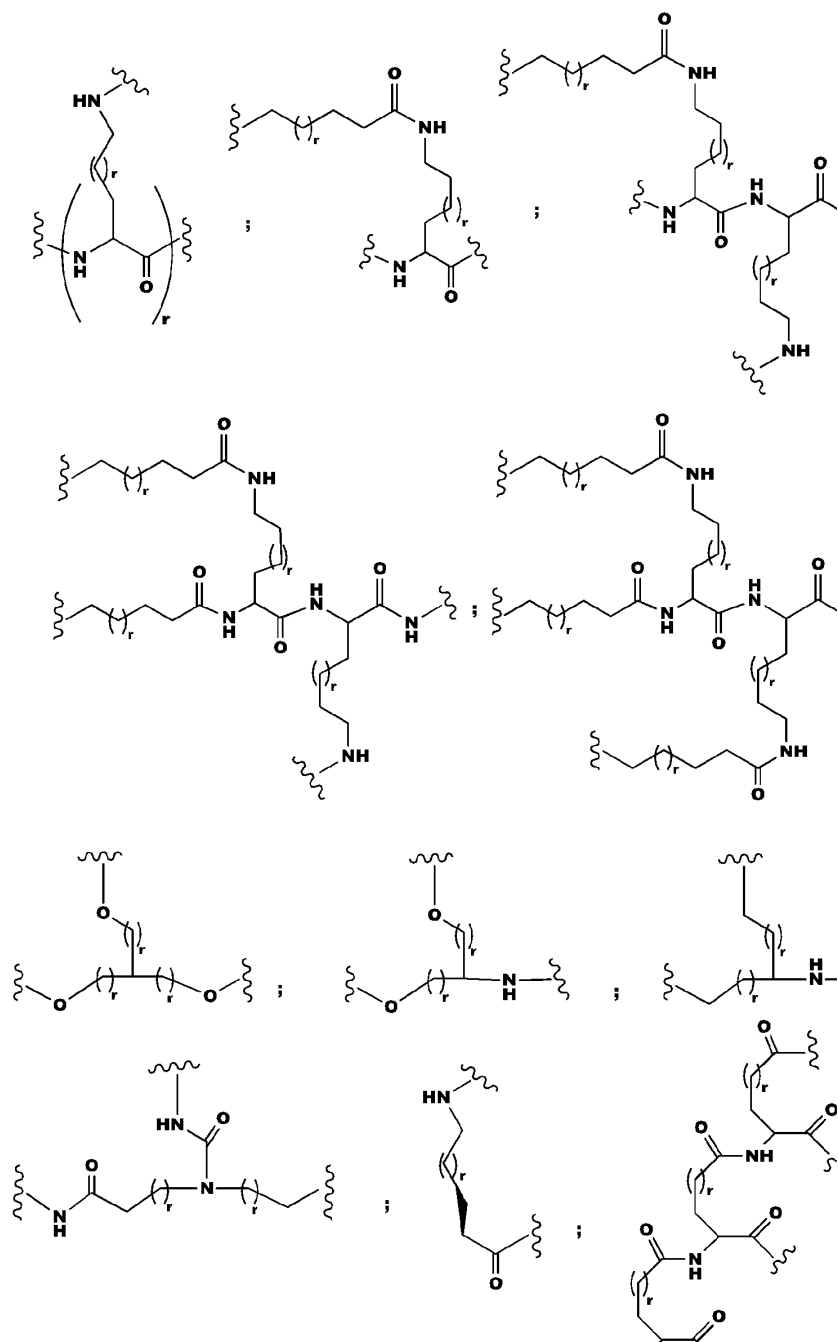
在某些实施方式中，所述接头 B 选自以下结构：



其中， A_1 和 A_2 各自独立地是 C、O、S、-NH-、羰基、酰胺基、磷酰基或硫代磷酰基， r 为 0-4 的整数。

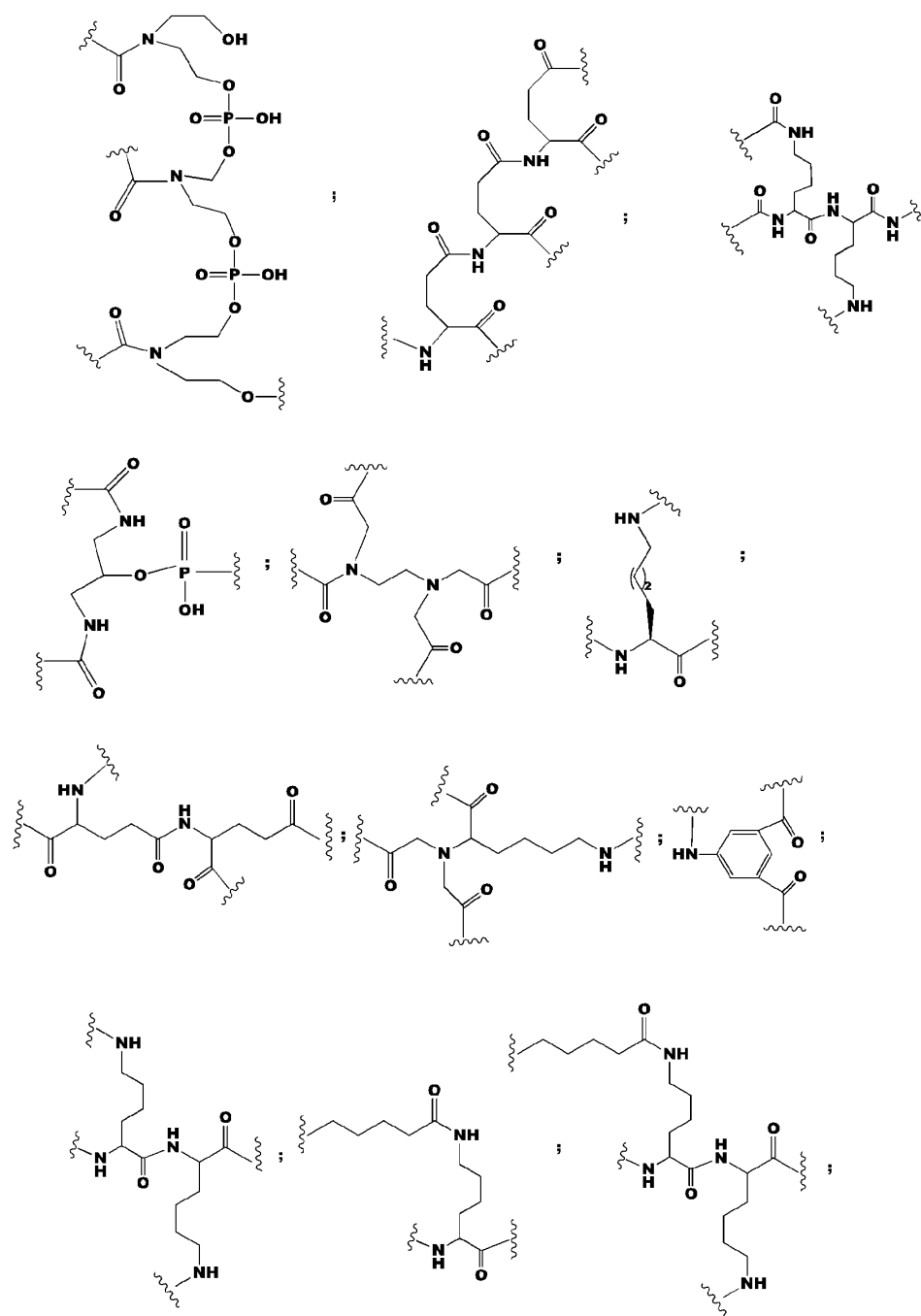
在某些实施方式中，所述接头 B 选自以下结构：

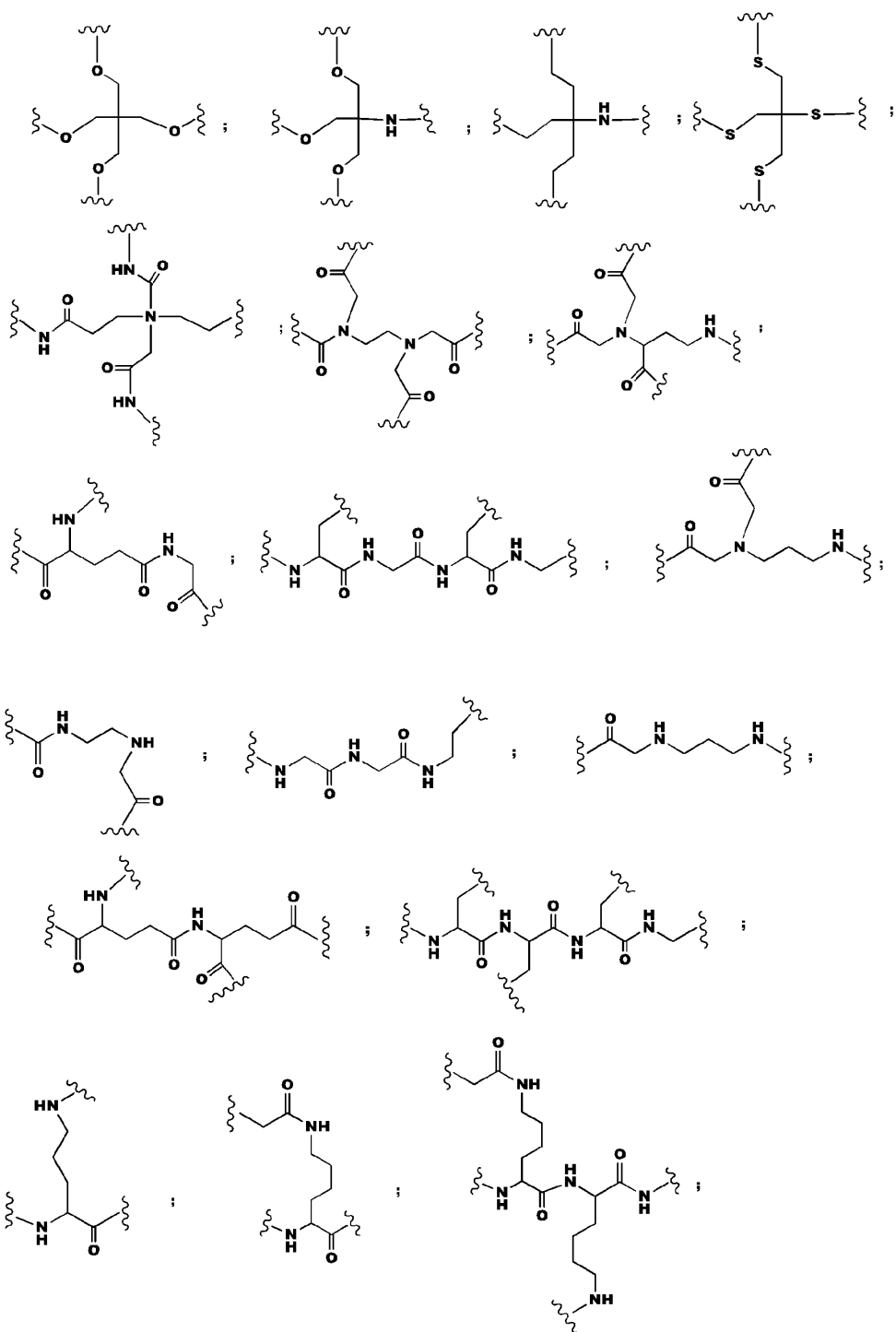


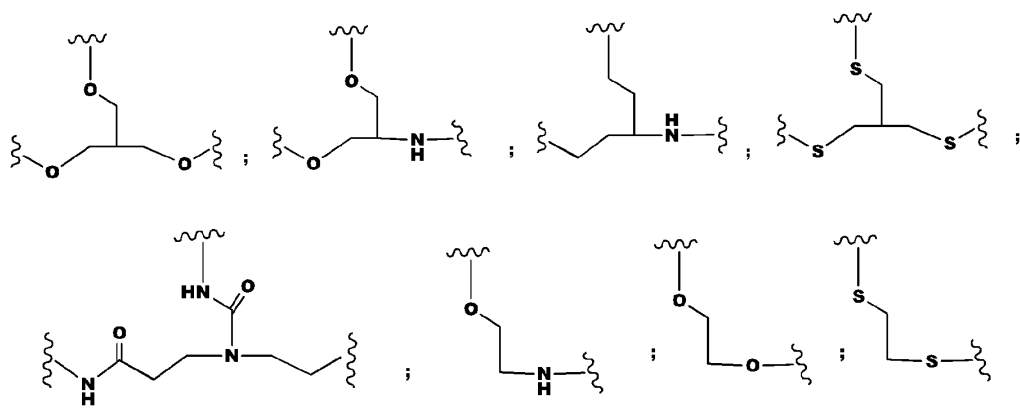


其中, r 为 0-4 的任意整数。

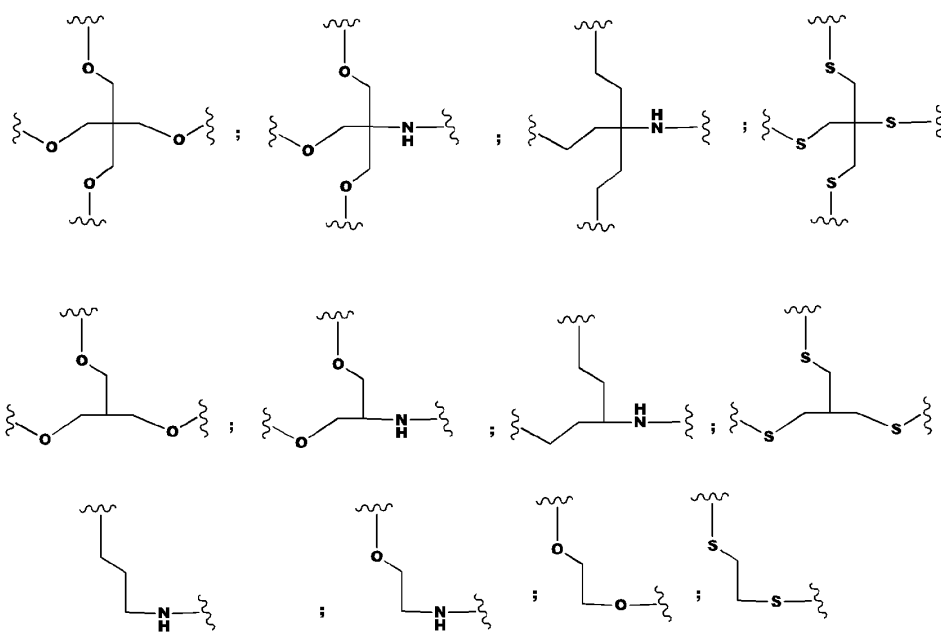
在某些实施方式中，所述接头 B 选自以下结构：







在某些实施方式中，所述接头 B 选自以下结构：



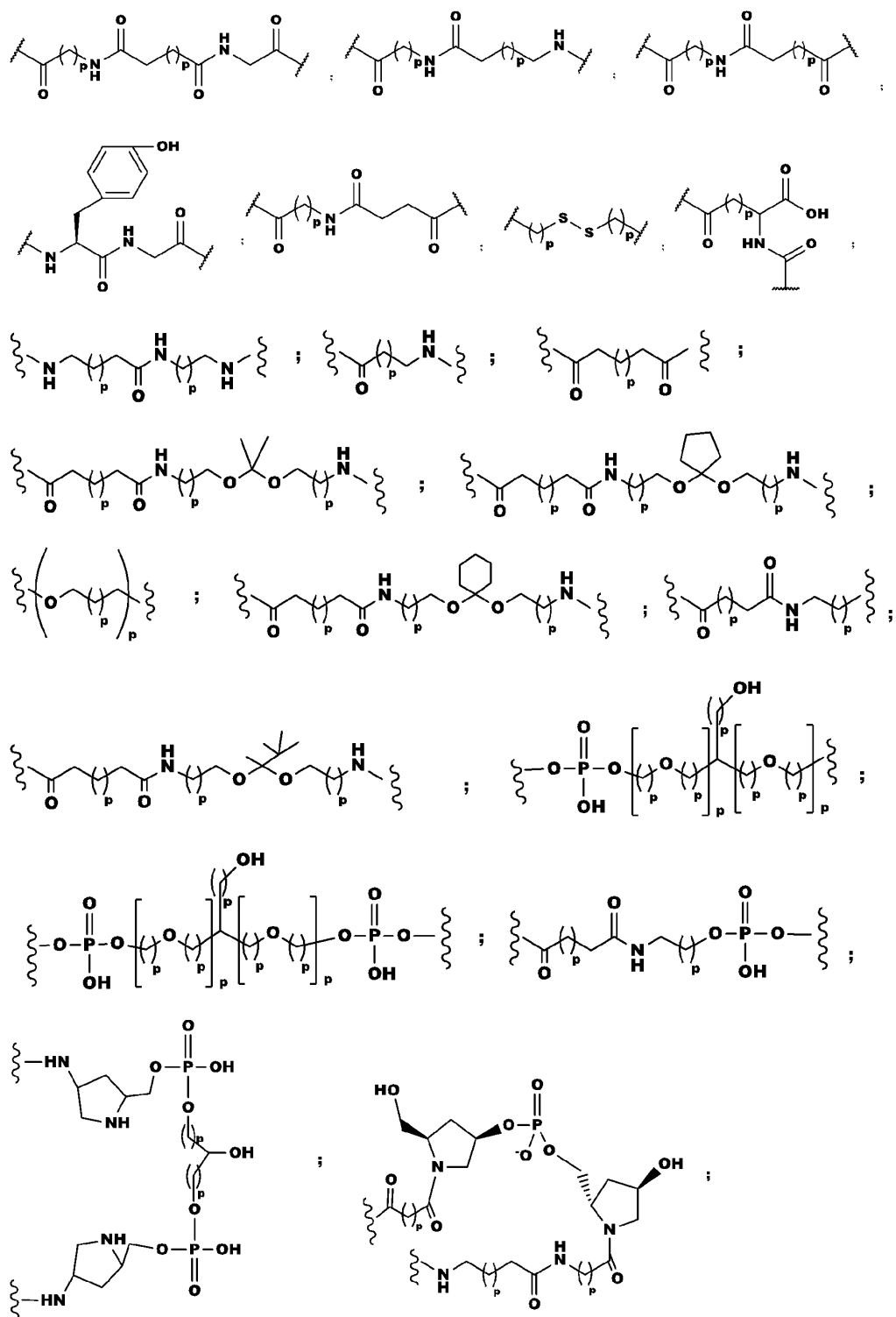
在某些实施方式中，所述连接链 D 是含有-NH-、C=O、O、S、酰胺基、磷酰基、硫代磷酰基、芳香烃基、C₄-C₁₀脂肪族碳环基、含 1-3 个氮的五元或六元杂环基或者这些基团的组合的 C₃-C₁₈ 碳链。

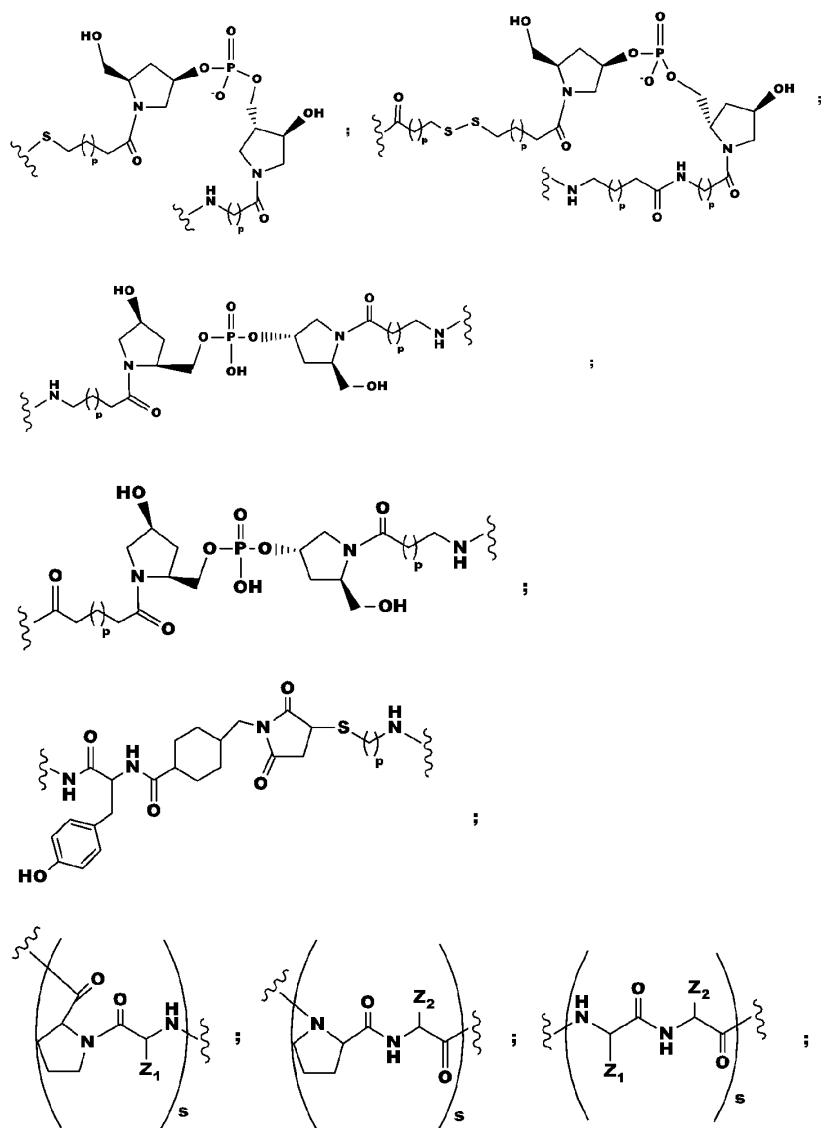
在某些实施方式中，所述连接链 D 还带有羟甲基、甲基叔丁基、甲基苯酚基、C₅-C₆ 脂肪族碳环基的侧链。

在某些实施方式中，所述连接链 D 为含有两个 C=O、六元脂肪族碳环基或苯基的 C₃-C₁₀ 碳链。

在某些实施方式中，所述连接链 D 为含两个 C=O 的 C₃-C₁₀ 碳链。

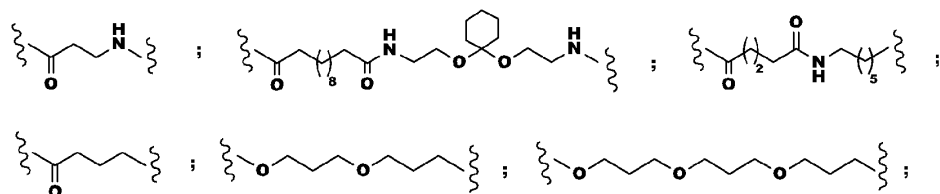
在某些实施方式中，所述连接链 D 选自以下结构：

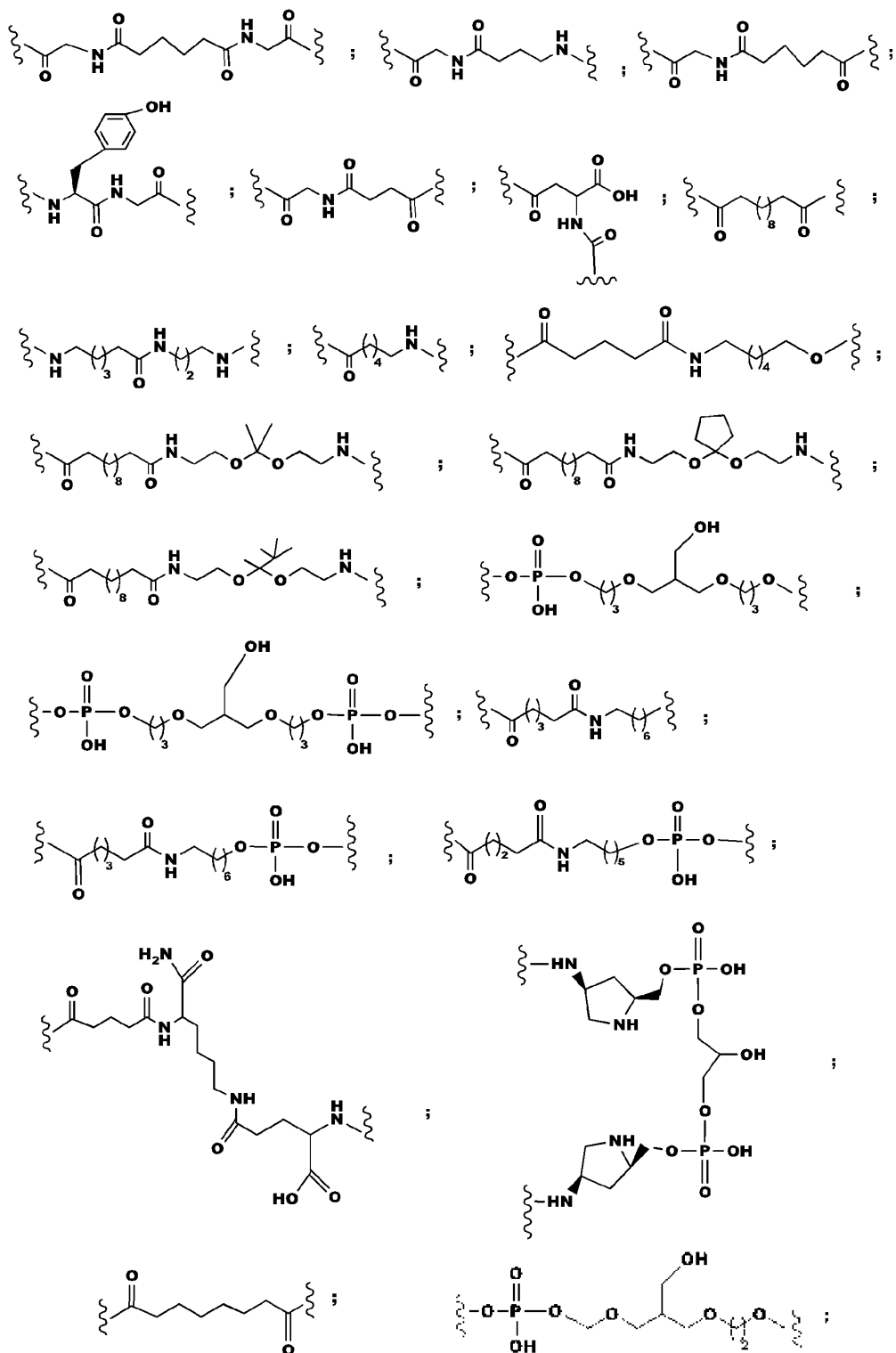


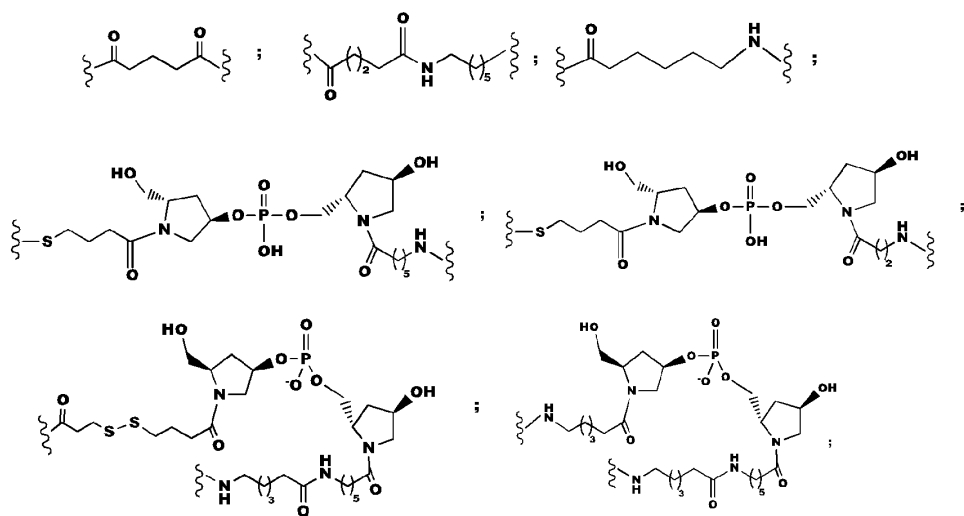


其中，每个 p 各自独立地为 1-20 的任意整数； s 为 2-13 的整数； Z_1 和 Z_2 为相同或者不同的取代基团，如 C_3 - C_{10} 烷基。

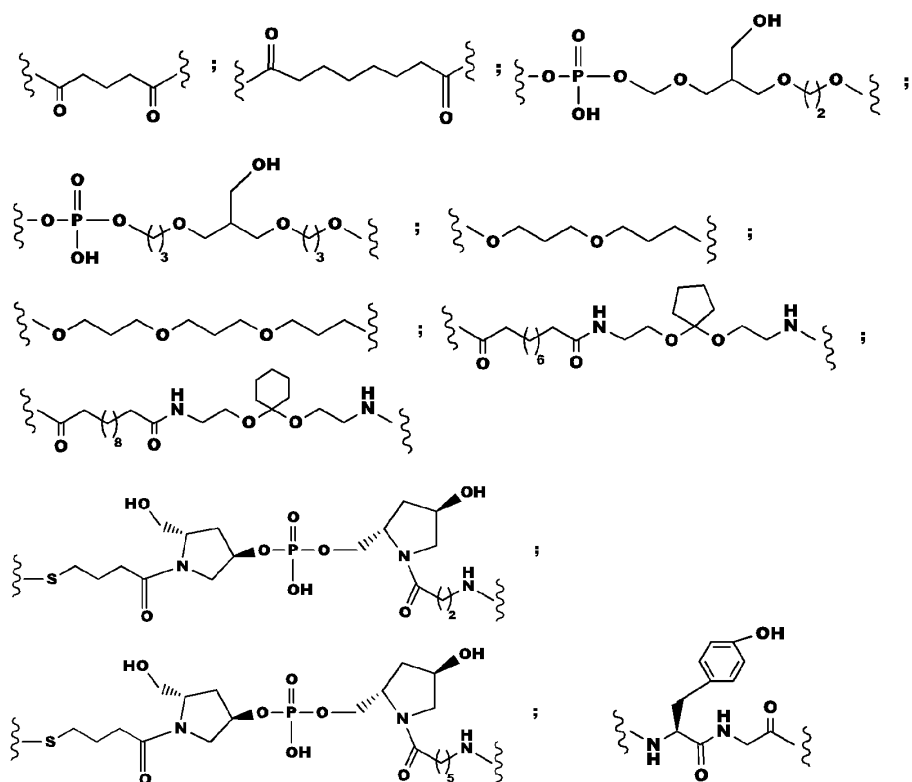
在某些实施方式中，所述连接链 D 选自以下结构：



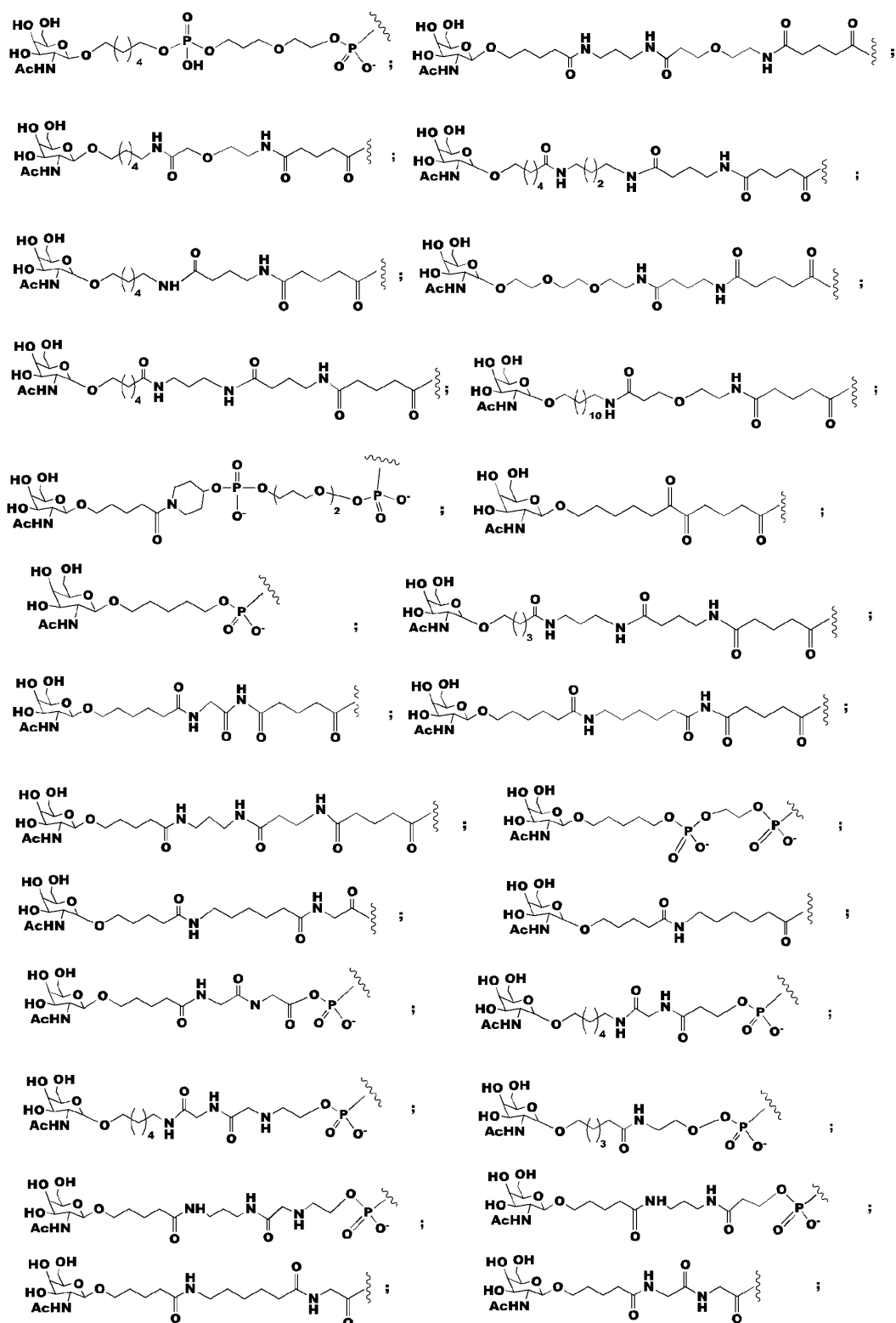


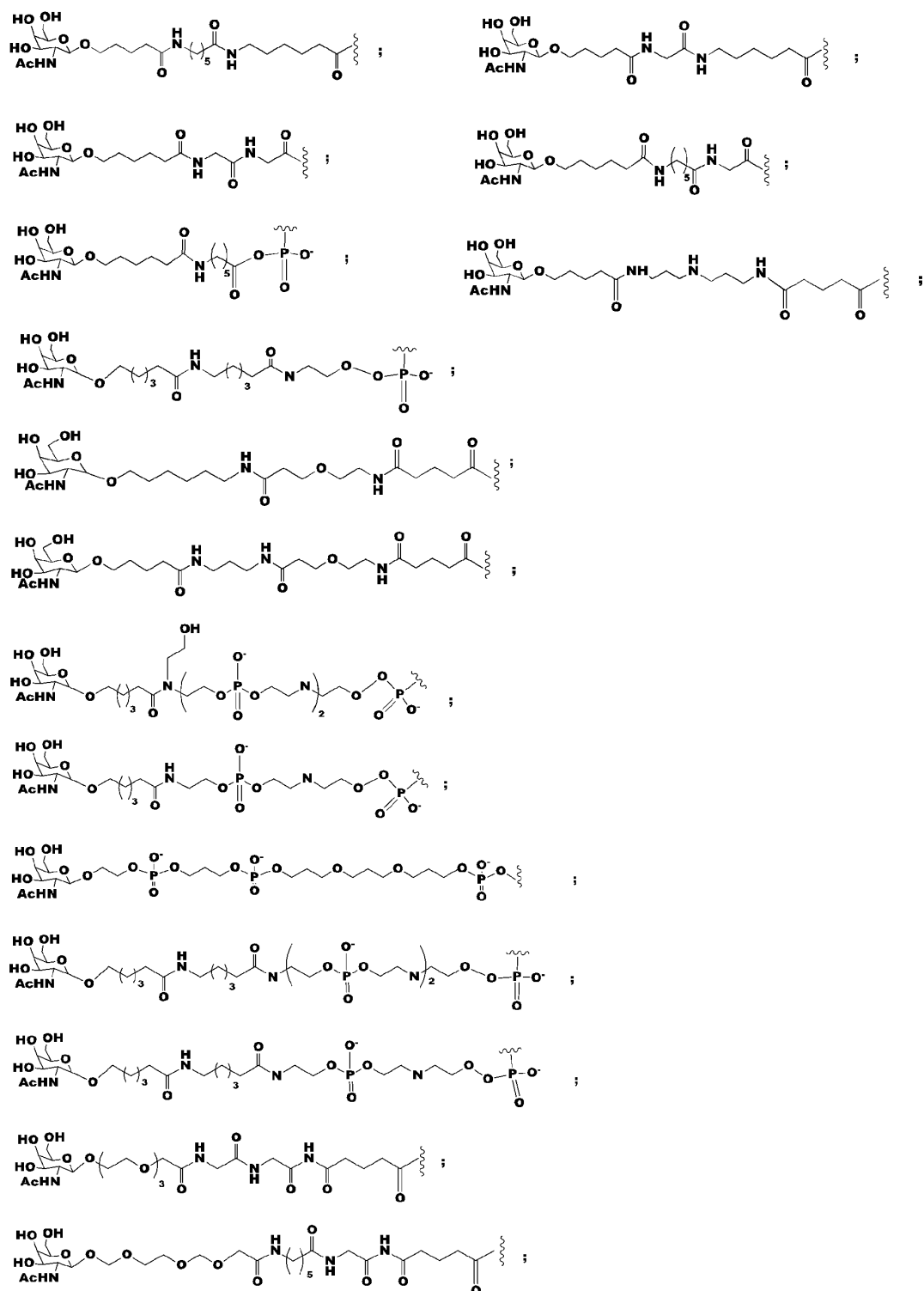


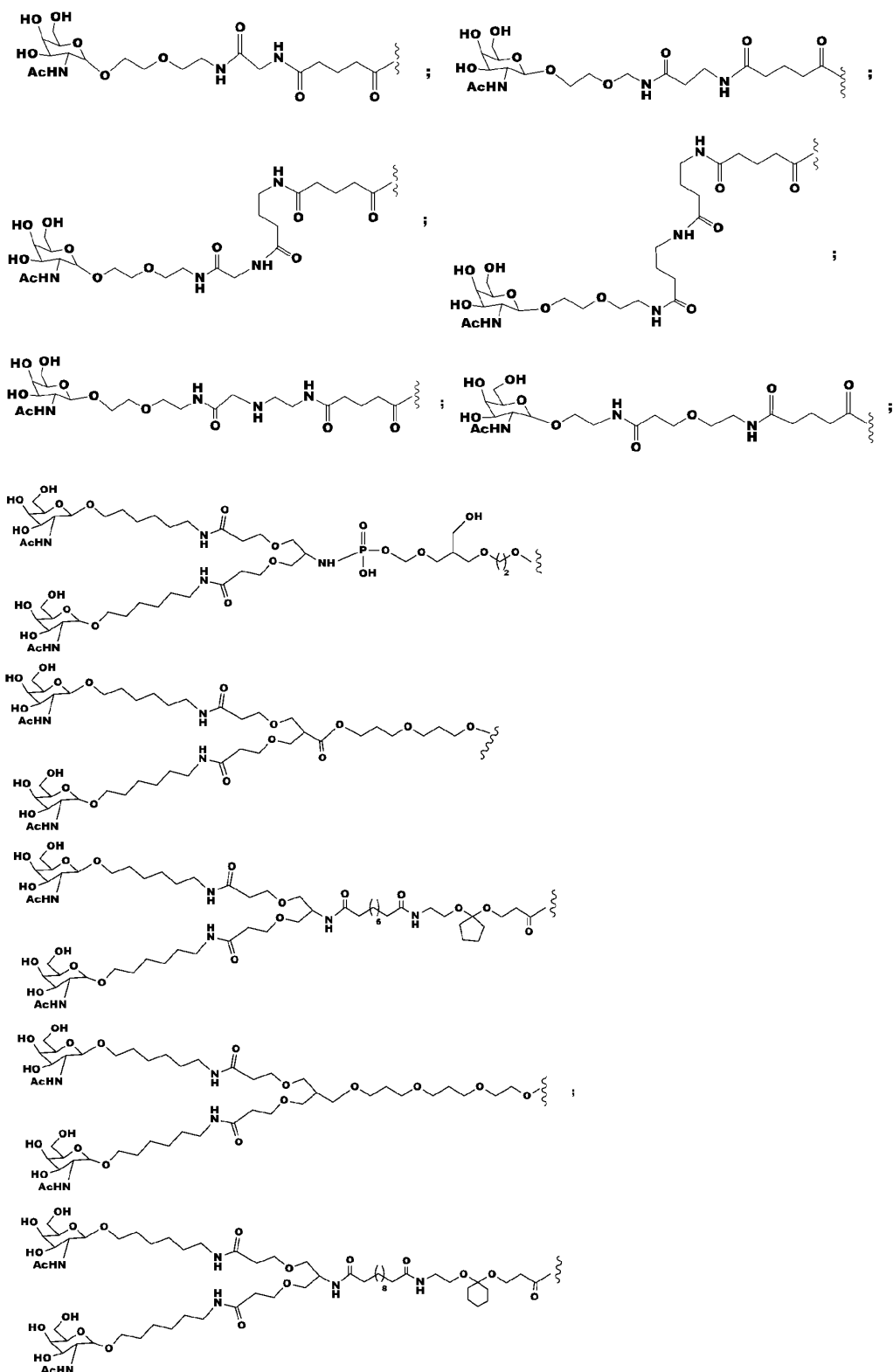
在某些实施方式中，所述连接链 D 选自以下结构：

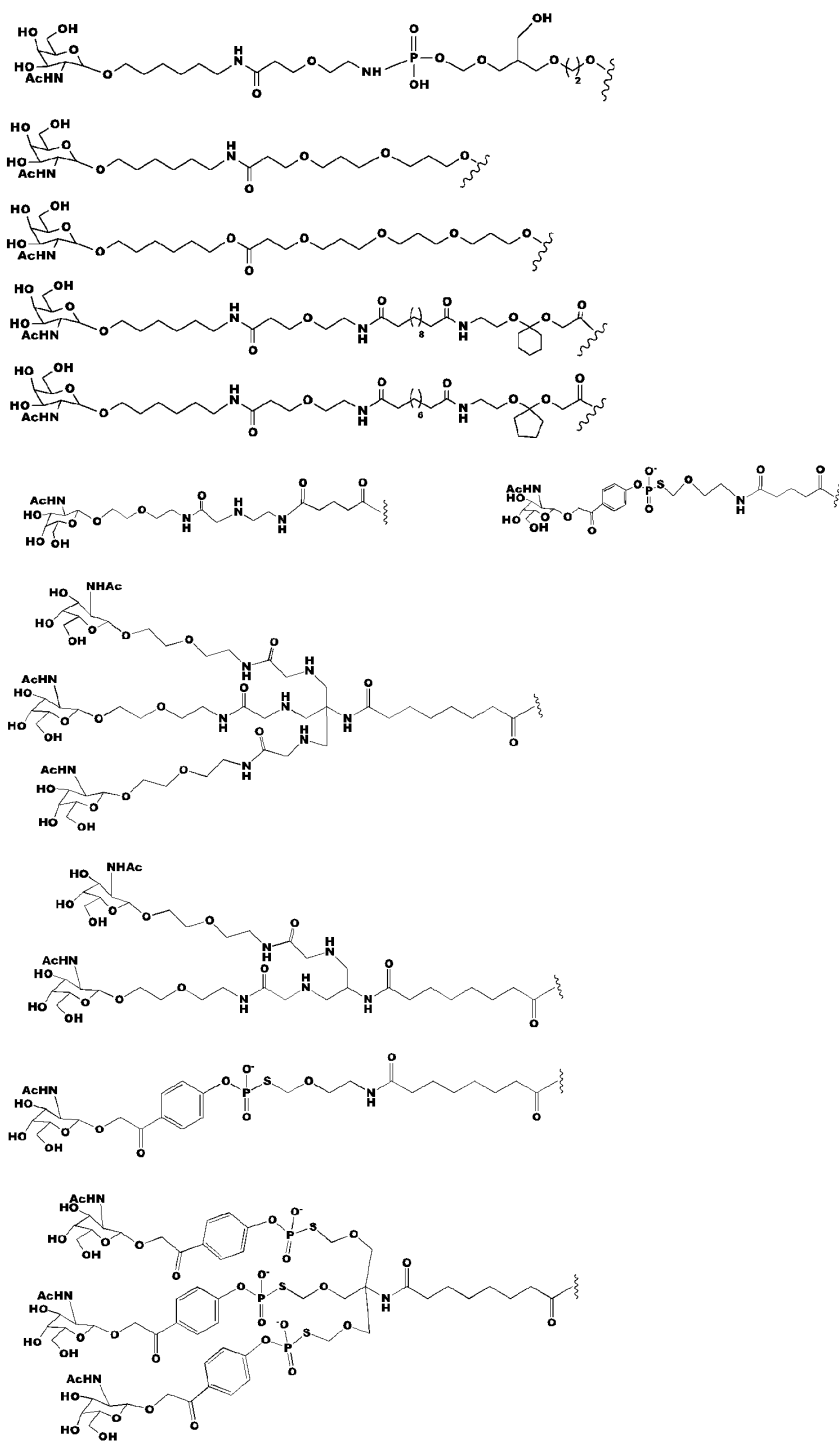


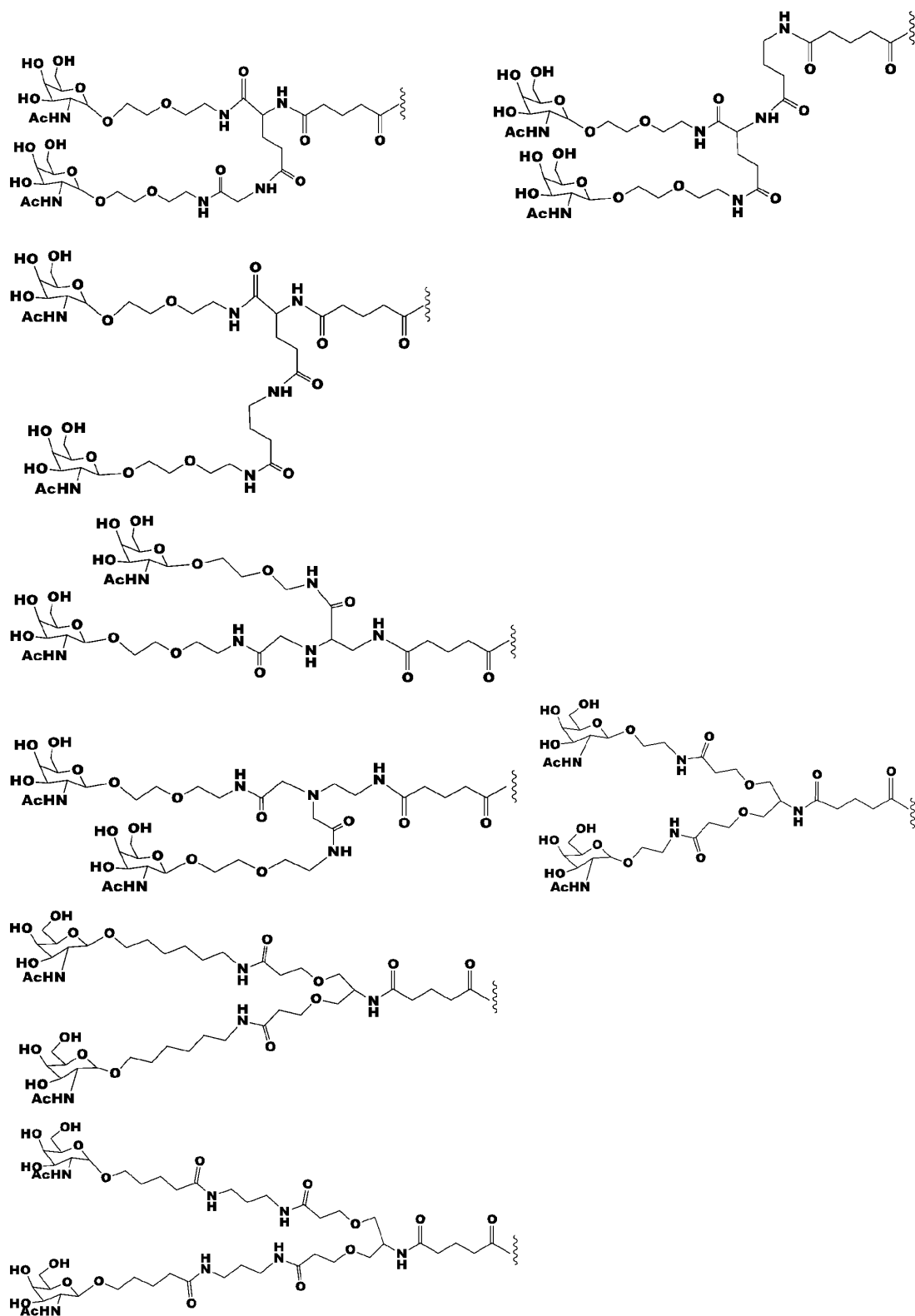
在某些实施方式中，所述 5'MVIP 结构中的 $(X-L)_n-B-D-$ 和 3'MVIP 结构中的 $(X-L)_m-B-D-$ 选自以下结构中的一种或多种：

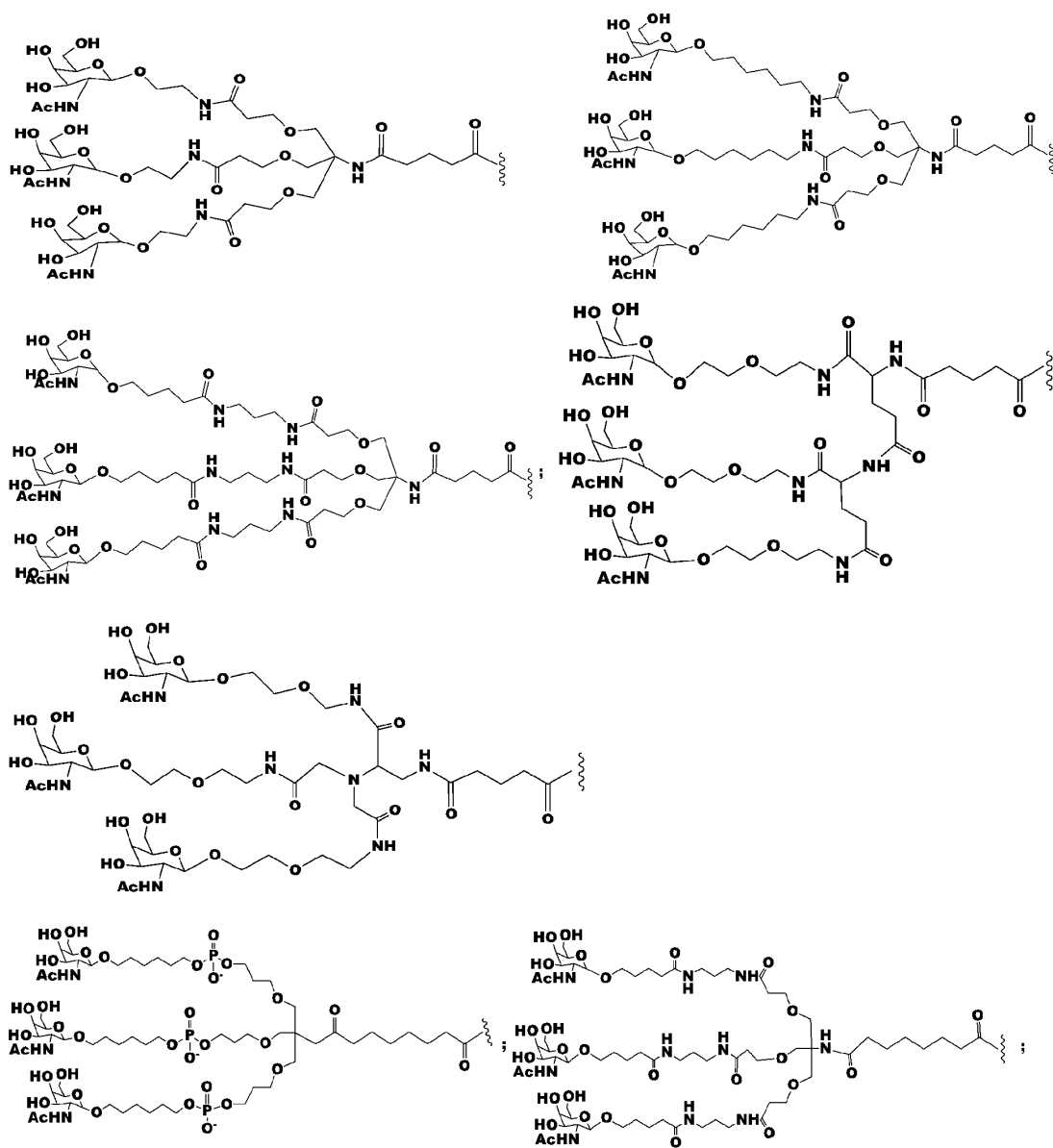


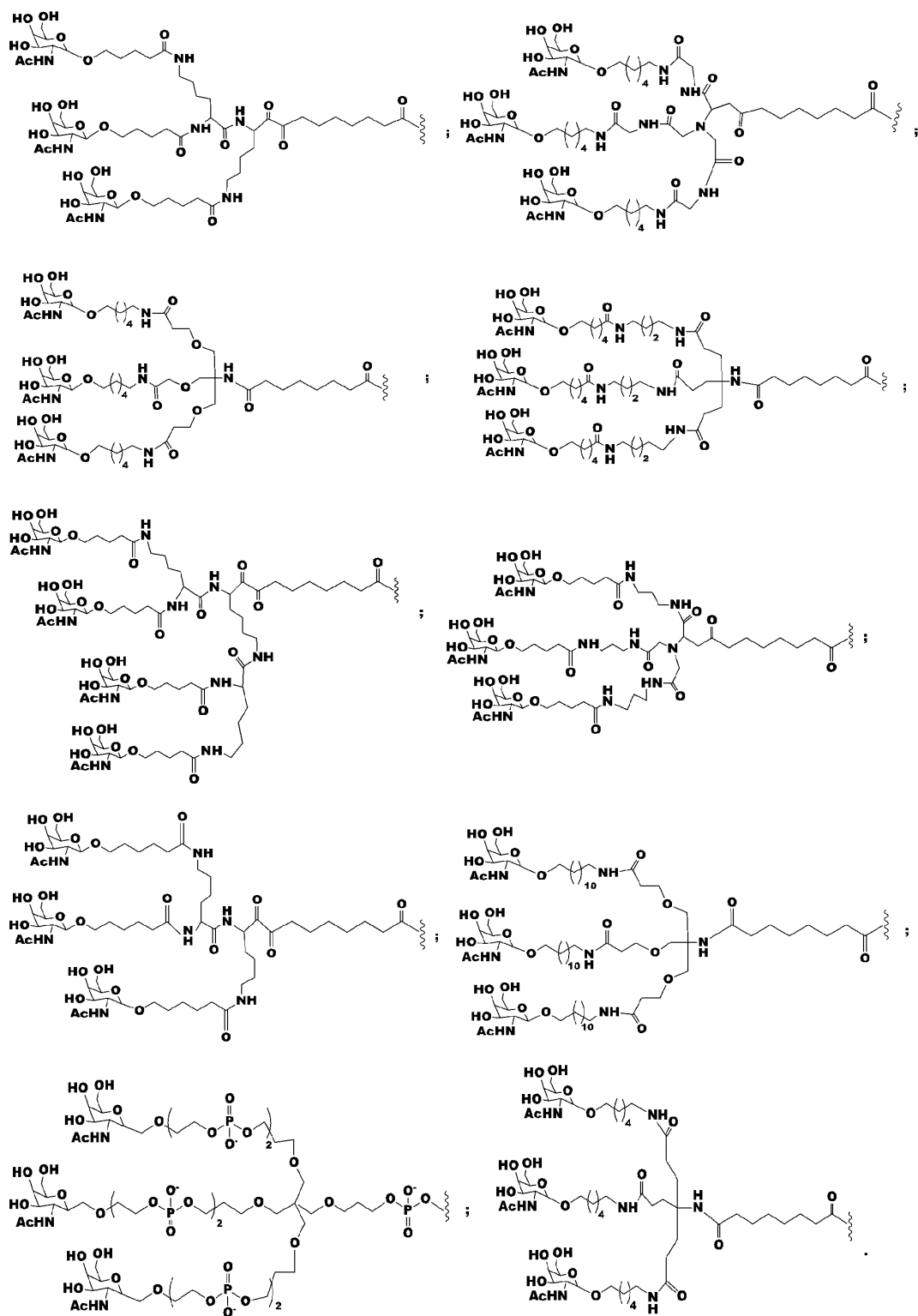


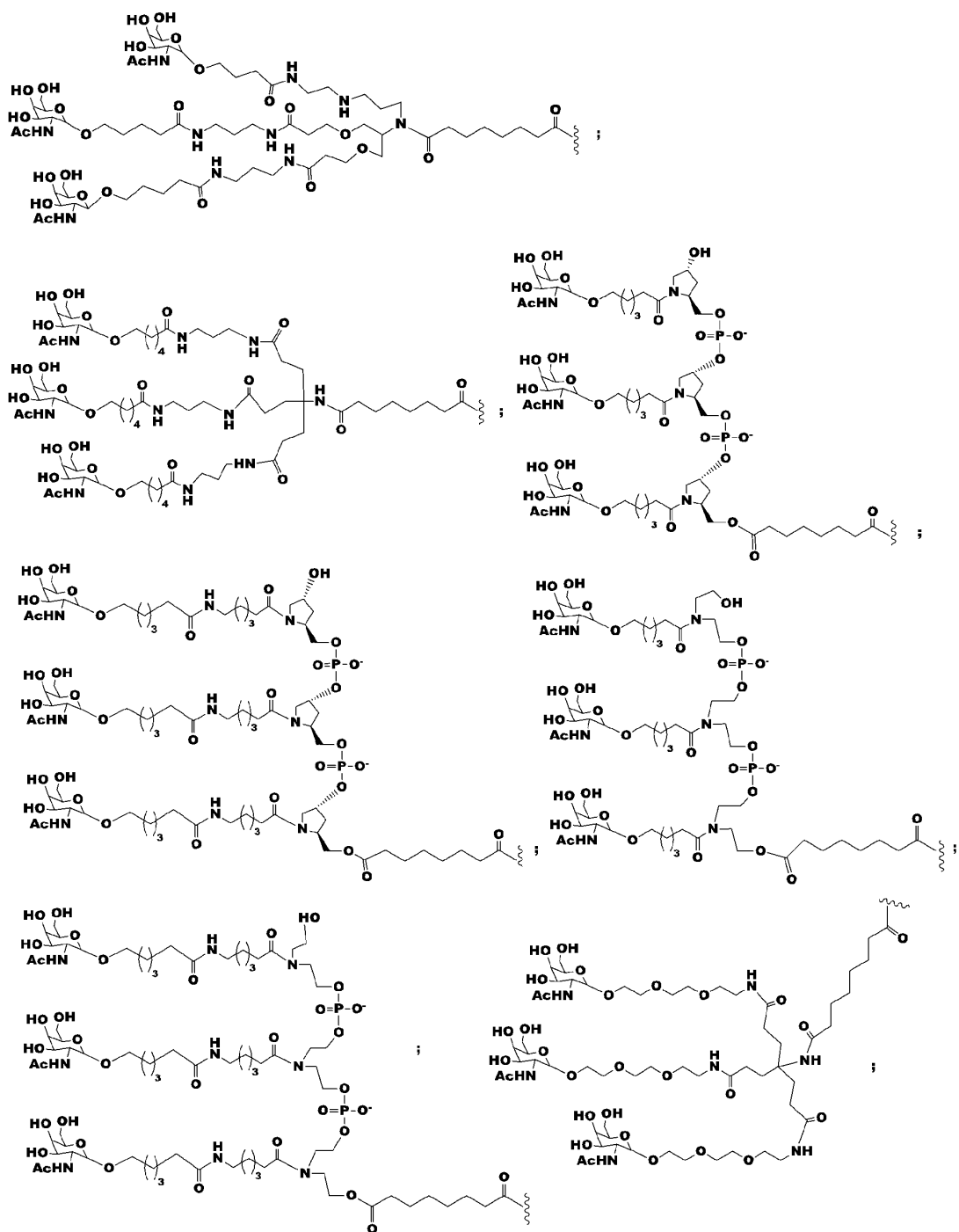


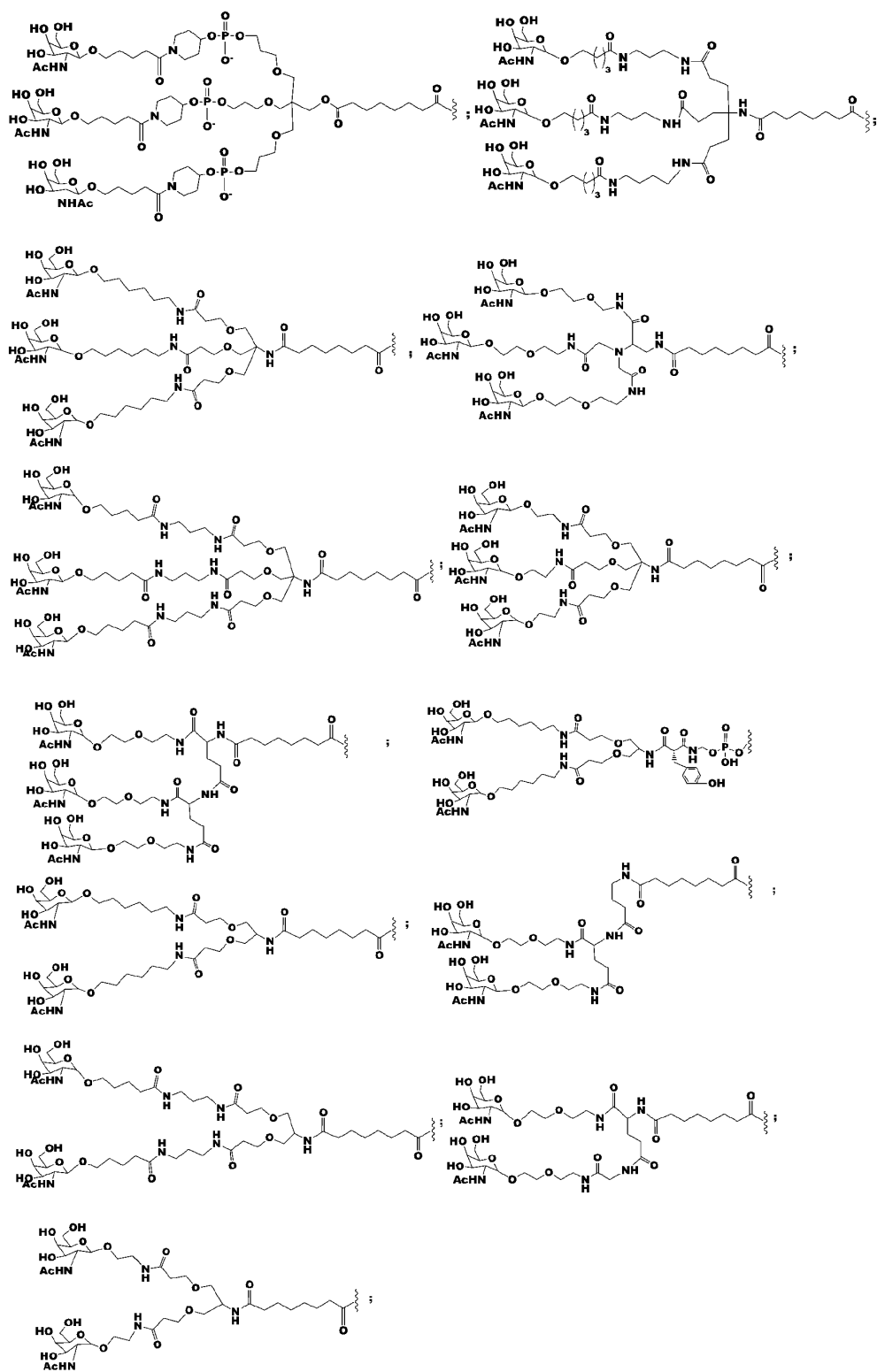


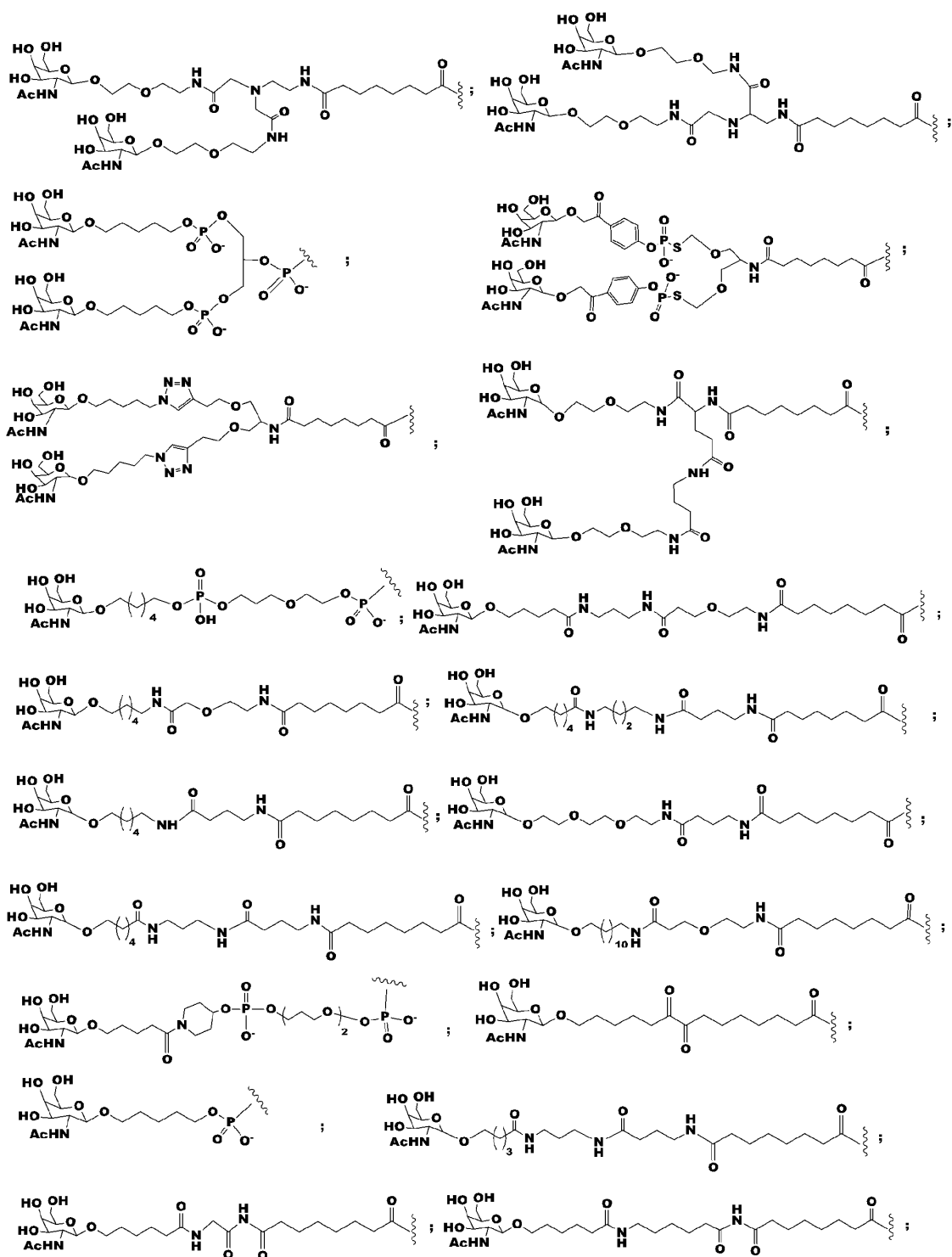


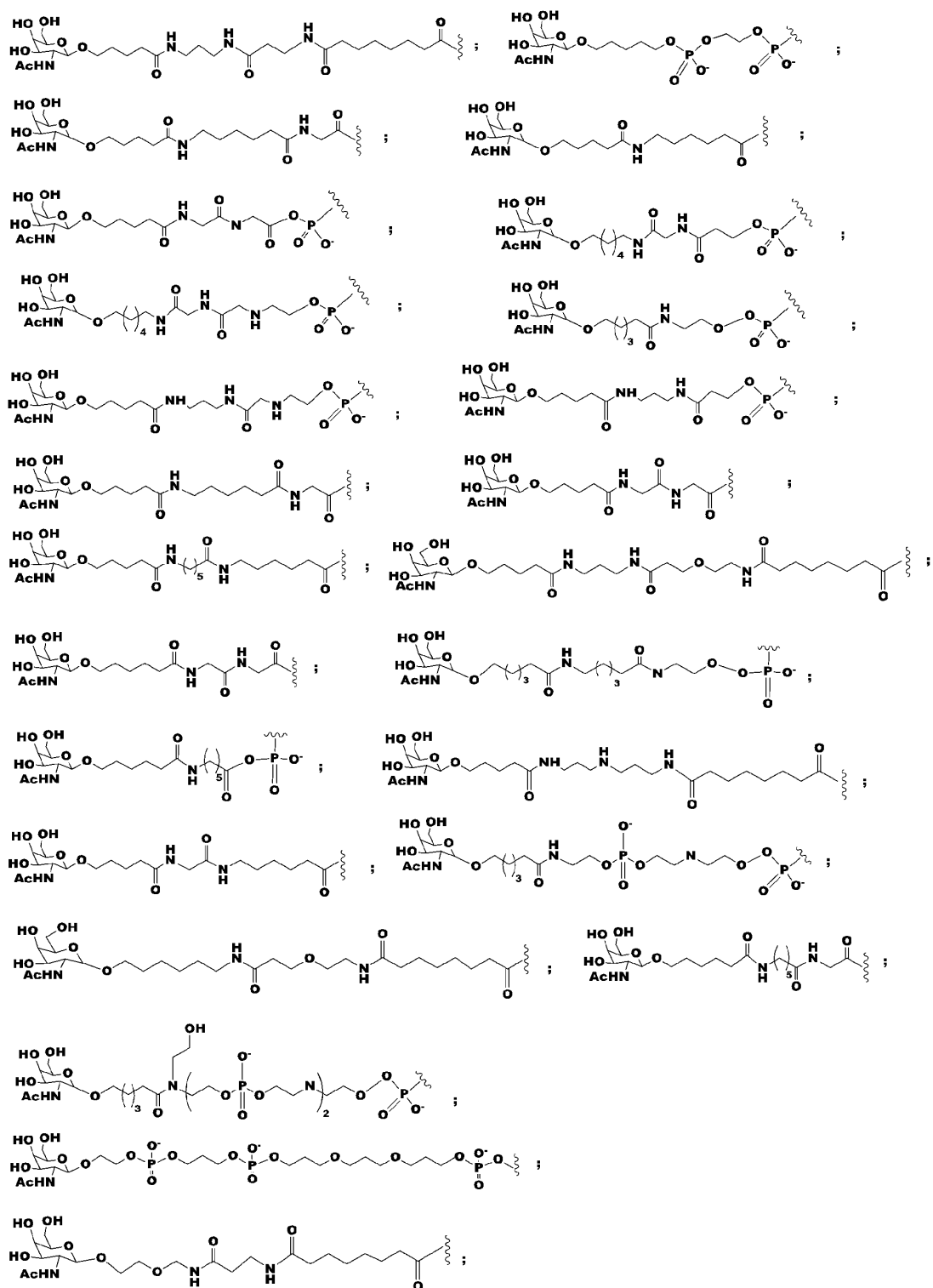


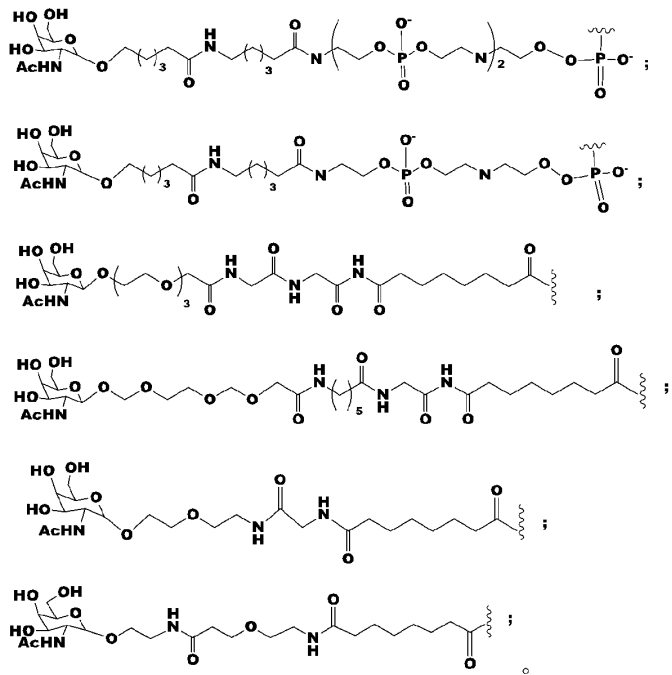












在某些实施方式中,所述X、L、B及D在5'MVIP与3'MVIP各自的内部或5'MVIP与3'MVIP之间相同或不同。

在某些实施方案中,所述5'MVIP结构中的(X-L)_n-B-D-选自表9所示的结构:

表9 5'MVIP 的(X-L)_n-B-D- 结构

序号	代码	结构式
1	5'YICdd-01	
2	5'YICd-01	
3	5'YICc-01	
4	5'YICa-01	
5	5'YICa-02	

序号	代码	结构式
6	5'YICa-03	
7	5'YICa-04	
8	5'YICa-05	
9	5'ERCa-01	
10	5'ERCa-02	
11	5'ERCa-03	
12	5'ERCa-04	

序号	代码	结构式
13	5'ERCa-05	
14	5'ERCdd-01	
15	5'ERCd-01	
16	5'ERCc-01	
17	5'SANCdd-01	
18	5'SANCd-01	

序号	代码	结构式
19	5'SANCc-01	
20	5'SANCa-01	
21	5'SANCa-02	
22	5'SANCa-03	

在某些实施方案中，5'MVIP 也可以不存在，这时候 m 可以为 2-4 的任意整数。

在某些实施方案中，所述 3'MVIP 结构中的 (X-L)_m-B-D- 选自表 10 中所示的结构：

表 10 3'MVIP 的 (X-L)_m-B-D- 结构

序号	代码	结构
1	3'SANCdd-01	
2	3'SANCd-01	
3	3'SANCC-01	
4	3'SANCa-01	

序号	代码	结构
5	3'SANCa-02	
6	3'SANCa-03	
7	3'ERCdd-01	
8	3'ERCd-01	
9	3'ERCc-01	
10	3'ERCa-01	

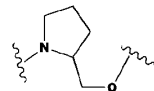
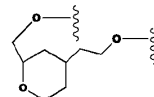
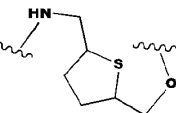
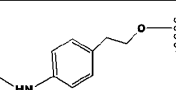
序号	代码	结构
11	3'ERCa-02	
12	3'ERCa-03	
13	3'ERCa-04	
14	3'ERCa-05	
15	3'YICa-01	
16	3'YICa-02	

序号	代码	结构
17	3'YICa-03	
18	3'YICa-04	
19	3'YICa-05	
20	3'YICdd-01	
21	3'YICd-01	
22	3'YICc-01	

在某些实施方案中，所述载体结构 5'MVIP 中的 (X-L)_n-B-D- 与 R₁ 的组合如表 11 所示。

表 11 5'MVIP 中 (X-L)_n-B-D- 与 R₁ 的组合

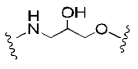
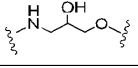
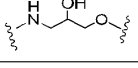
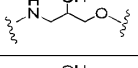
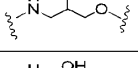
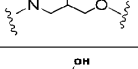
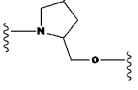
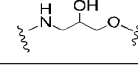
序号	(X-L) _n -B-D- 代码	R ₁	5'MVIP 代码
1	5'YICd-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP01
2	5'YICc-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP02
3	5'YICa-01	-O(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP03
4	5'YICa-02	-O(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP04
5	5'YICa-03	-S(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP05
6	5'YICa-04	-NH(CH ₂) ₆ S-	5'MVIP06
7	5'YICa-05	-NH(CH ₂) ₈ O-	5'MVIP07
8	5'YICr-06	-NH(CH ₂) ₈ O-	5'MVIP08
9	5'ERCd-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP09
10	5'ERCc-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP10
11	5'ERCa-01	-NH(CH ₂) ₅ CH(CH ₂ CH ₃)O-	5'MVIP11
12	5'ERCa-02	-O(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP12
13	5'ERCa-03	-S(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP13

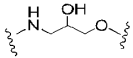
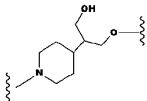
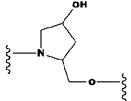
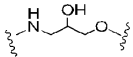
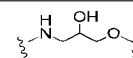
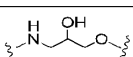
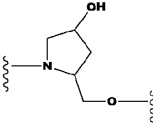
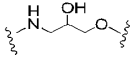
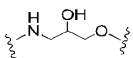
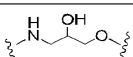
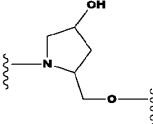
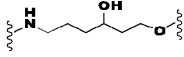
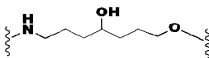
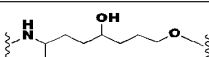
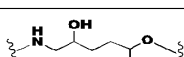
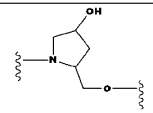
序号	(X-L) _n -B-D- 代码	R ₁	5'MVIP 代码
14	5'ERCa-04	-O(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP14
15	5'ERCa-05	-O(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP15
16	5'ERCr-06	-S(CH ₂) ₄ CH(CH ₃)O-	5'MVIP16
17	5'SANcd-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP17
18	5'SANcc-01	-NH(CH ₂) ₆ O-	5'MVIP18
19	5'ERCd-01		5'MVIP19
20	5'ERCd-01		5'MVIP20
21	5'YICd-01		5'MVIP21
22	5'SANcd-01		5'MVIP22

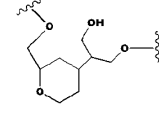
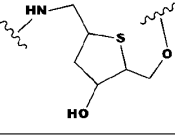
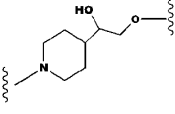
在某些实施方案中，3'MVIP 可以不存在，这时候 n 可以是 2-4 的任意整数。

在某些实施方案中，所述载体结构 3'MVIP 中的 (X-L)_m-B-D- 与 R₂ 组合如表 12 所示。

表 12 3'MVIP 的 (X-L)_m-B-D- 与 R₂ 组合

序号	(X-L) _m -B-D- 代码	R ₂	3'MVIP 代码
1	3'YICd-01		3'MVIP01
2	3'YICc-01		3'MVIP02
3	3'YICa-01		3'MVIP03
4	3'YICa-02		3'MVIP04
5	3'YICa-03		3'MVIP05
6	3'YICa-04		3'MVIP06
7	3'YICa-05		3'MVIP07
8	3'YICr-06		3'MVIP08

序号	(X-L) _m -B-D- 代码	R ₂	3'MVIP 代码
9	3'ERCd-01		3'MVIP09
10	3'ERCc-01		3'MVIP10
11	3'ERCa-01		3'MVIP11
12	3'ERCa-02		3'MVIP12
13	3'ERCa-03		3'MVIP13
14	3'ERCa-04		3'MVIP14
15	3'ERCa-05		3'MVIP15
16	3'ERCr-06		3'MVIP16
17	3'SANCd-01		3'MVIP17
18	3'SANCc-01		3'MVIP18
19	3'SANCa-01		3'MVIP19
20	3'ERCd-01		3'MVIP20
21	3'ERCd-01		3'MVIP21
22	3'ERCd-01		3'MVIP22
23	3'ERCd-01		3'MVIP23
24	3'ERCd-01		3'MVIP24

序号	(X-L) _m -B-D- 代码	R ₂	3'MVIP 代码
25	3'ERCd-01		3'MVIP25
26	3'ERCd-01		3'MVIP26
27	3'ERCd-01		3'MVIP27

在某些实施方式中,所述 5'MVIP 选自表 11 中 5'MVIP01 至 5'MVIP22 中的任一个或多个。
在某些实施方式中,所述 3'MVIP 选自表 12 中 3'MVIP01 至 3'MVIP27 中的任一个或多个。
在某些实施方式中,表 11 中的 5'MVIP 与表 12 中的 3'MVIP 任一个存在组合的可能性,其中 n+m=2、3、4、5 或 6。

在一些实施方案中,所述 RNA 抑制剂中的正义链可以选自下列表 13 中的序列。

表 13 与 5'MVIP09 偶联的正义链

正义链代码	正义链序列 5'→3'
S19301	5'MVIP09-GsAsGcfcAcfcGfUUAAGGACAAGsUsU
S19401	5'MVIP09-GsCsACfCGfUfUfAAGGACAAGUUsCsU
S19501	5'MVIP09-UsUsACAUGAfAfGfCACGCCACCsAsA
S19601	5'MVIP09-UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA
S19701	5'MVIP09-GsCsUUfCAfGfUfUCCCUGAAAGAsCsU
S19801	5'MVIP09-UsUsCCfCUfGfAfAAGACUACUGGsAsG
S19901	5'MVIP09-AsGsACUACUfGfGfAGCACCGUUsAsA
S20001	5'MVIP09-CsCsGUUAAGfGfAfCAAGUUCUCsUsG
S20101	5'MVIP09-CsUsGCfCCfCfUfGUAGGUUGCUsAsA
S20201	5'MVIP09-CsAsGUfAUfUfCfUCAGUGCUCUCsCsU
S20301	5'MVIP09-UsGsGCUGCCfUfGfAGACCUCAAsUsA
S20401	5'MVIP09-GsAsGCfUCfCfUfUGGGUCCUGCAAsU
S20501	5'MVIP09-CsCsUGAGGUfCfAfGACCAACUUsCsA
S20601	5'MVIP09-AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsC

在某些实施方案中,本申请所述的 RNA 抑制剂的正义链与表 13 中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸,或与表 13 中序列具有相同的至少 15、16、17、18、19、20、21 个连续核苷酸的序列。

在某些实施方案中,所述 RNA 抑制剂中的反义链可以选自下列表 14 中的序列。

表 14 与 3'MVIP09 偶联的反义链

反义链代码	反义链序列 5'→3'
AS19301	AsAsCUUGfUCCUUFaAfCGGUGCsUsC-3'MVIP09
AS19401	AsGsAACUfUGUCCfUUFaACGGUsGsC-3'MVIP09
AS19501	UsfUsGfGUfGGfCGUGCUfUCfAUGUsAsA-3'MVIP09
AS19601	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3'MVIP09
AS19701	AsGsUCUUFUCAGGfGAfACUGAAsGsC-3'MVIP09
AS19801	CsUsCCAGfUAGUCfUUfUCAGGGsAsA-3'MVIP09
AS19901	UsfUsAfACfGGfUGCUCCfAGfUAGUsCsU-3'MVIP09
AS20001	CsfAsGfAGfAAfCUUGUCfCUfUAACsGsG-3'MVIP09
AS20101	UsUsAAGCfAACCUfACfAGGGGCsAsG-3'MVIP09
AS20201	AsGsGAGAfGCACUfGAfGAAUACsUsG-3'MVIP09
AS20301	UsfAsUfUGfAGfGUCUCAfGGfCAGCsCsA-3'MVIP09
AS20401	AsUsUGCAfGGACCFaAGGAGCsUsC-3'MVIP09
AS20501	UsfGsAfAGfUUFGGUCUGfACfCUCAsGsG-3'MVIP09
AS20601	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCCCUUsUsU-3'MVIP09

在某些实施方案中，本申请所述的 RNA 抑制剂的反义链与表 14 中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，或与表 14 中序列具有相同的至少 15、16、17、18、19、20、21 个连续核苷酸的序列。

在一些体内试验实施方案中，本申请所述的 RNA 抑制剂选自表 15 中的序列。

表 15 含 5'MVIP09/3'MVIP09 组合的 RNA 抑制剂

RNA 抑制剂	正义链代码	反义链代码
Kylo-12-DS1041	S19301	AS19301
Kylo-12-DS1051	S19401	AS19401
Kylo-12-DS1071	S19501	AS19501
Kylo-12-DS1081	S19601	AS19601
Kylo-12-DS1091	S19701	AS19701
Kylo-12-DS1111	S19801	AS19801
Kylo-12-DS1131	S19901	AS19901
Kylo-12-DS1141	S20001	AS20001
Kylo-12-DS1181	S20101	AS20101
Kylo-12-DS1221	S20201	AS20201
Kylo-12-DS1241	S20301	AS20301
Kylo-12-DS1261	S20401	AS20401
Kylo-12-DS1311	S20501	AS20501
Kylo-12-DS1321	S20601	AS20601

在某些实施方案中，本申请所述的 RNA 抑制剂的正义链和反义链与表 15 中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，或与表 15 中序列具有相同的至少 15、16、17、18、19、20、21 个连续核苷酸的序列。

需要说明的是：表 13、14、15 的组合方式都不是穷举，本发明的序列可以连接任何结构的 MVIP，且不限连接位点和连接数量。连接位点不受限制是指：可以是连接在 5'端也可以连接在 3'端，也可以不连接在端部。连接数量不受限制是指：可以是连接一个或多个，数量不受限制。

在某些实施方案中,所述 RNA 抑制剂的反义链 UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA (SEQ ID NO: 382)的 5'端和/或 3'端与不同结构的 5'MVIP 和/或 3'MVIP 连接,所述反义链及其载体结构选自下表 16:

表 16 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的反义链

反义链代码	反义链序列 5'→3'
AS19601	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3'MVIP09
AS20701	5' MVIP17-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS20801	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP01
AS20901	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP17
AS21001	5' MVIP01-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP01
AS21101	5' MVIP09-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP09
AS21201	5' MVIP17-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP17
AS21301	5' MVIP01-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP17
AS21401	5' MVIP17-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP01
AS21501	5' MVIP01-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP09
AS21601	5' MVIP09-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP01
AS21701	5' MVIP09-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP17
AS21801	5' MVIP17-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP09
AS21901	5' MVIP12-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS22001	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP19
AS22101	5'MVIP16- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3'MVIP16
AS22201	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP17
AS22301	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP18
AS22401	5' MVIP03-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS22501	5' MVIP08-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS22601	5'MVIP16-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS22701	5'MVIP13-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3'MVIP06
AS22801	5'MVIP04-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3'MVIP06
AS22901	5' MVIP11-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23001	5' MVIP11-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP14
AS23101	5' MVIP15-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23201	5' MVIP02-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23301	5' MVIP05-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23401	5' MVIP06-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23501	5' MVIP07-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23601	5' MVIP10- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23701	5' MVIP14- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23801	5' MVIP18- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS23901	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP02
AS24001	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP03
AS24101	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP04

反义链代码	反义链序列 5'→3'
AS24201	5' MVIP04-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP04
AS24301	5' MVIP03-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP19
AS24401	5' MVIP18- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP18
AS24501	5' MVIP08- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP18
AS24601	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP05
AS24701	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP07
AS24801	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP10
AS24901	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP11
AS25001	5' MVIP11- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP11
AS25101	5' MVIP15- UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA-3' MVIP15
AS25201	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP06
AS25301	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP08
AS25401	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP12
AS25501	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP13
AS25601	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP14
AS25701	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP15
AS25801	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP16
AS25901	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP24
AS26001	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA -3' MVIP27
AS26101	5' MVIP19-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS26201	5' MVIP20-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS26301	5' MVIP21-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS26401	5' MVIP22-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS26501	5' MVIP01-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA
AS26601	5' MVIP09-UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAsGsA

在某些实施方案中，本申请所述的 RNA 抑制剂的反义链与表 16 中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，或与表 16 中序列具有相同的至少 15、16、17、18、19、20、21 个连续核苷酸的序列。

在某些实施方案中，与表 16 中 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的反义链可以是表 7-1 和表 7-2 中的序列与 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联得到。

在某些实施方案中，所述 RNA 抑制剂的正义链 UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA (SEQ ID NO: 412)的 5'端和/或 3'端与不同结构的 5'MVIP 和/或 3'MVIP 连接，所述正义链及其载体结构选自下表 17：

表 17 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的正义链

正义链代码	正义链序列 5'→3'
S19601	5'MVIP09-UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA
S20701	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA - 3'MVIP17
S20801	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA -3'MVIP09
S20901	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA-3'MVIP01
S21001	5'MVIP17- UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA
S21101	5'MVIP01- UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGUsUsA

正义链代码	正义链序列 5'→3'
S19601	5'MVIP09-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S21201	5'MVIP01-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP01
S21301	5'MVIP09-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP09
S21401	5'MVIP17-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP17
S21501	5'MVIP01-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP17
S21601	5'MVIP17-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP01
S21701	5'MVIP01-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP09
S21801	5'MVIP09-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP01
S21901	5'MVIP09-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP17
S22001	5'MVIP17-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP09
S22101	5'MVIP12-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S22201	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP19
S22301	5'MVIP16-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP16
S22401	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP17
S22501	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP18
S22601	5' MVP03-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S22701	5' MVP08-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S22801	5' MVP16-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S22901	5'MVIP13-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP06
S23001	5'MVIP04-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP06
S23101	5'MVIP11-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23201	5'MVIP11-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3'MVIP14
S23301	5'MVIP15-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23401	5'MVIP02-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23501	5'MVIP05-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23601	5'MVIP06-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23701	5'MVIP07-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23801	5'MVIP10-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S23901	5'MVIP14-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S24001	5'MVIP18-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S24101	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP02
S24201	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP03
S24301	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP04
S24401	5' MVP04-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP04
S24501	5' MVP03-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP19
S24601	5' MVP18-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP18
S24701	5' MVP08-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP18
S24801	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP05
S24901	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP07
S25001	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP10
S25101	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVP11

正义链代码	正义链序列 5'→3'
S19601	5'MVIP09-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S25201	5' MVIP11-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP11
S25301	5' MVIP15-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP15
S25401	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP06
S25501	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP08
S25601	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP12
S25701	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP13
S25801	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP14
S25901	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP15
S26001	U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A -3' MVIP16
S26101	5' MVIP19-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S26201	5' MVIP20-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S26301	5' MVIP21-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A
S26401	5' MVIP22-U _s C _s UCAGCUfUfCfAUGCAGGGU _s U _s A

在某些实施方案中，本申请所述的RNA抑制剂的正义链与表17中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，或与表17中序列具有相同的至少15、16、17、18、19、20、21个连续核苷酸的序列。

在某些实施方案中，所述RNA抑制剂的反义链AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC (SEQ ID NO: 970)的5'端和/或3'端与不同结构的5'MVIP 和/或3'MVIP 连接，所述反义链及其载体结构选自下表18：

表 18 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的反义链

反义链代码	反义链序列 5'→3'
Ky-12AS01	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS02	5'MVIP17-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS03	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP01
Ky-12AS04	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS05	5'MVIP01-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP01
Ky-12AS06	5'MVIP09-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS07	5'MVIP17-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS08	5'MVIP01-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS09	5'MVIP17-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP01
Ky-12AS10	5'MVIP01-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS11	5'MVIP09-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP01
Ky-12AS12	5'MVIP09-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS13	5'MVIP17-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS14	5'MVIP12-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS15	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP19
Ky-12AS16	5'MVIP16-AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP16

反义链代码	反义链序列 5'→3'
Ky-12AS17	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS18	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP18
Ky-12AS19	5'MVIP03-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS20	5'MVIP08-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS21	5'MVIP16-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS22	5'MVIP13-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP06
Ky-12AS23	5'MVIP04-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP06
Ky-12AS24	5'MVIP11-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS25	5'MVIP11-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP14
Ky-12AS26	5'MVIP15-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS27	5'MVIP02-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS28	5'MVIP05-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS29	5'MVIP06-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS30	5'MVIP07-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS31	5'MVIP10-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS32	5'MVIP14-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS33	5'MVIP18-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS34	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP02
Ky-12AS35	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP03
Ky-12AS36	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP04
Ky-12AS37	5'MVIP04-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP04
Ky-12AS38	5'MVIP03-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP19
Ky-12AS39	5'MVIP18-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP18
Ky-12AS40	5'MVIP08-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP18
Ky-12AS41	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP05
Ky-12AS42	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP07
Ky-12AS43	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP10
Ky-12AS44	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP11
Ky-12AS45	5'MVIP11-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP11
Ky-12AS46	5'MVIP15-AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP15
Ky-12AS47	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP06
Ky-12AS48	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP08
Ky-12AS49	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP12
Ky-12AS50	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP13
Ky-12AS51	AsfCsAfCUfGafGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP14

反义链代码	反义链序列 5'→3'
Ky-12AS52	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP15
Ky-12AS53	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP16
Ky-12AS54	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP24
Ky-12AS55	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP27
Ky-12AS56	5'MVIP19-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS57	5'MVIP20-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS58	5'MVIP21-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS59	5'MVIP22-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS60	5'MVIP01-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12AS61	5'MVIP09-AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC

在某些实施方案中，本申请所述的RNA抑制剂的反义链与表18中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，与表18中序列具有相同的至少15、16、17、18、19、20、21个连续核苷酸的序列。

需要说明的是，表18的组合方式都不是穷举，本发明的序列可以连接任何结构的MVIP，且不限连接位点和连接数量。连接位点不受限制是指：可以是连接在5'端也可以连接在3'端，也可以不连接在端部。连接数量不受限制是指：可以是连接一个或多个，数量不受限制。

在某些实施方案中，所述RNA抑制剂的正义链GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU (SEQ ID NO: 1033)的5'端和/或3'端与不同结构的5'MVIP和/或3'MVIP连接，所述正义链及其载体结构选自下表19：

表 19 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的正义链

正义链代码	正义链序列 5'→3'
Ky-12S01	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S02	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S03	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S04	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S05	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S06	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S07	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S08	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S09	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S10	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S11	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S12	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S13	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S14	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S15	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09

正义链代码	正义链序列 5'→3'
Ky-12S16	5'MVIP12-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S17	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP19
Ky-12S18	5'MVIP16-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP16
Ky-12S19	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S20	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP18
Ky-12S21	5'MVIP03-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S22	5'MVIP08-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S23	5'MVIP16-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S24	5'MVIP13-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP06
Ky-12S25	5'MVIP04-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP06
Ky-12S26	5'MVIP11-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S27	5'MVIP11-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP14
Ky-12S28	5'MVIP15-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S29	5'MVIP02-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S30	5'MVIP05-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S31	5'MVIP06-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S32	5'MVIP07-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S33	5'MVIP10-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S34	5'MVIP14-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S35	5'MVIP18-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S36	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP02
Ky-12S37	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP03
Ky-12S38	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP04
Ky-12S39	5'MVIP04-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP04
Ky-12S40	5'MVIP03-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP19
Ky-12S41	5'MVIP18-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP18
Ky-12S42	5'MVIP08-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP18
Ky-12S43	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP05
Ky-12S44	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP07
Ky-12S45	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP10
Ky-12S46	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP11
Ky-12S47	5'MVIP11-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP11
Ky-12S48	5'MVIP15-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP15
Ky-12S49	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP06
Ky-12S50	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP08

正义链代码	正义链序列 5'→3'
Ky-12S51	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP12
Ky-12S52	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP13
Ky-12S53	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP14
Ky-12S54	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP15
Ky-12S55	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP16
Ky-12S56	5'MVIP19-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S57	5'MVIP20-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S58	5'MVIP21-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S59	5'MVIP22-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU

在一些实施方式中，本申请所述的 RNA 抑制剂的正义链与表 19 中的各序列相差一个、两个或三个核苷酸，或与表 19 中序列具有相同的至少 15、16、17、18、19、20、21 个连续核苷酸的序列。

需要说明的是，表 19 的组合方式都不是穷举，本发明的序列可以连接任何结构的 MVIP，且不限连接位点和连接数量。连接位点不受限制是指：可以是连接在 5'端也可以连接在 3'端，也可以不连接在端部。连接数量不受限制是指：可以是连接一个或多个，数量不受限制。

在某些实施方案中，所述 RNA 抑制剂的正义链可以是以上举例的正义链的序列与任意的 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联得到。

在某些实施方案中，所述 RNA 抑制剂的正义链可以是以上举例的正义链的序列与任意的 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联得到。

在某些实施方案中，本申请保护范围内的序列可以在任何位置连接任何结构任何数量的 5'MVIP 或 3'MVIP 形成 RNA 抑制剂，这些 RNA 抑制剂均在本发明的保护范围内，均受本发明的启示。

中国专利 CN113171371B 中详细考察了 5'MVIP 和/或 3'MVIP 结构中 X、L、B、D、R₁ 和 R₂ 不同对 RNA 抑制剂活性效果影响，该专利全文通过引入的方式全部并入本说明书，当 X、L、B、D、R₁ 和 R₂ 之一不同时，相应的 5'MVIP 和/或 3'MVIP 中其它部分与 5'MVIP09/3'MVIP09 的相同。

当 X 分别为半乳糖、半乳糖胺、N-乙酰半乳糖胺及其衍生物时，在本发明提供的 RNA 抑制剂中，优选 N-乙酰半乳糖胺及其衍生物作为肝靶向特异性配体：

X 代码	X 结构
X1	
X2	
X3	
X4	
X5	

X 代码	X 结构
X6	

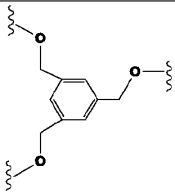
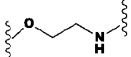
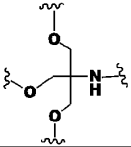
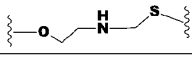
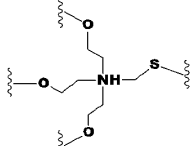
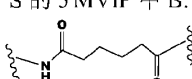
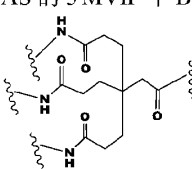
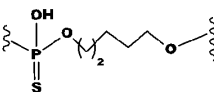
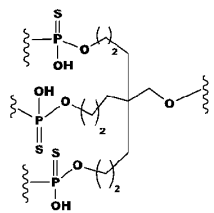
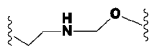
L 的长短对 RNA 抑制剂的作用效果影响较大，L 链不能太短也不能太长；当含有-NH-、C=O、O、S、酰胺基、磷酰基、硫代磷酰基、脂肪族碳环基如环己烷或者这些基团的组合时，或者在同一个 5'MVIP、3'MVIP 结构中或 5'MVIP 与 3'MVIP 彼此 L 结构不同、在碳链长为 C7-C18 这个范围，所得 RNA 抑制剂的活性相差不大。

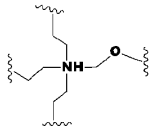
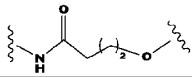
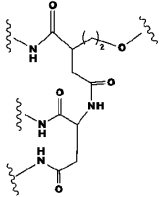
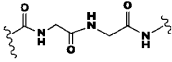
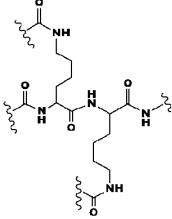
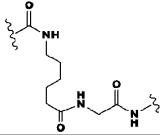
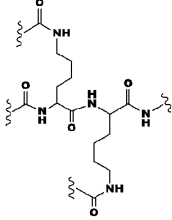
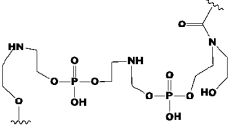
L 代码	L 结构
L1	
L2	
L3	
L4	
L5	
L6	
L7	
L8	
L9	
L10	
L11	S 的 5' MVIP 中 L: AS 的 3'MVIP 中 L:
L12	S 的 5' MVIP 中 L: AS 的 3'MVIP 中 L:

L 代码	L 结构
L13	S 的 5'MVIP 中 L : AS 的 3'MVIP 中 L :
L14	

除接头 B 结构改变外，而 X、L、D 及 R₁/R₂ 与组合 5'MVIP09/3'MVIP09 中的一致时，接头 B 中通式中的 A₁ 和 A₂ 各自独立地是 C、O、S、-NH-、羰基、酰胺基、磷酸基或硫代磷酸基，r 为 0-4 的任意整数，并且接头 B 在 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同时，所得 RNA 抑制剂活性相差不大。

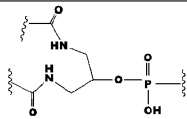
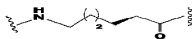
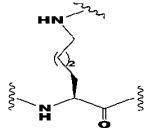
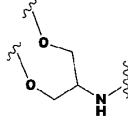
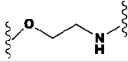
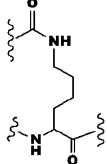
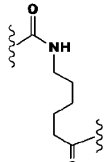
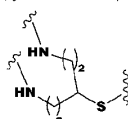
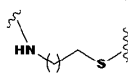
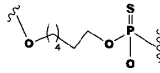
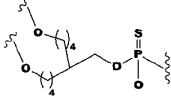
B 代码	B 结构
B1	
B2	
B3	
B4	
B5	
B6	

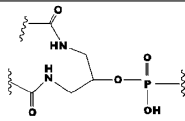
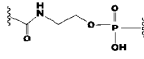
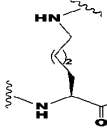
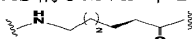
B 代码	B 结构
B7	
B8	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B9	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B10	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B11	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B12	S 的 5'MVIP 中 B: 

B 代码	B 结构
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B13	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B14	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B15	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B16	S 的 5'MVIP 中 B: 

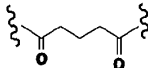
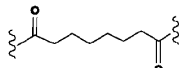
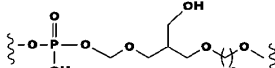
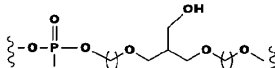
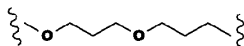
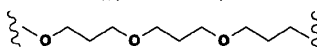
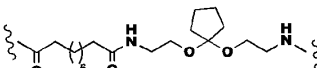
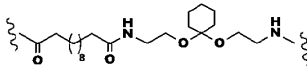
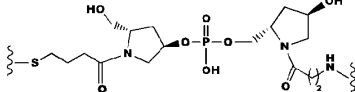
B 代码	B 结构
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B17	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B18	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B19	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B20	
B21	
B22	
B23	

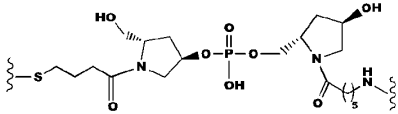
B 代码	B 结构
B24	
B25	
B26	
B27	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B28	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B29	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B30	S 的 5'MVIP 中 B:
	AS 的 3'MVIP 中 B:
B31	S 的 5'MVIP 中 B:

B 代码	B 结构
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B32	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B33	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B34	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B35	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B36	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 

B 代码	B 结构
B37	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 
B38	S 的 5'MVIP 中 B: 
	AS 的 3'MVIP 中 B: 

在 MVIP 结构及 RNA 抑制剂相同的情况下,不同的连接链 D 会对 RNA 抑制剂活性有影响,其中 D1、D2、D4 的效果接近且优于 D3。

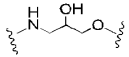
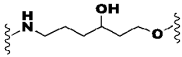
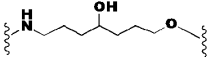
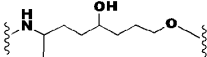
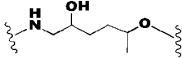
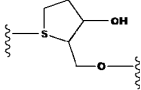
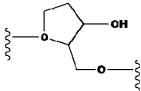
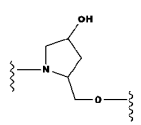
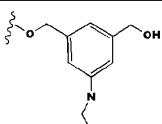
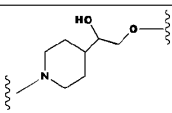
D 代码	D 结构
D1	S 的 5'MVIP 中 D: 
	AS 的 3'MVIP 中 D: 
D2	S 的 5'MVIP 中 D: 
	AS 的 3'MVIP 中 D: 
D3	S 的 5'MVIP 中 D: 
	AS 的 3'MVIP 中 D: 
D4	S 的 5'MVIP 中 D: 
	AS 的 3'MVIP 中 D: 
D5	S 的 5'MVIP 中 D: 
	AS 的 3'MVIP 中 D: 

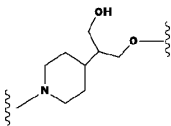
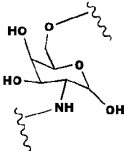
D 代码	D 结构
	

不同的转接点 R₁ 会对 RNA 抑制剂活性有影响，其中 R1-1 作为转接点的所得的 RNA 抑制剂活性最好。

R ₁ 代码	R ₁ 结构
R1-1	-NH(CH ₂) ₆ O-
R1-2	-O(CH ₂) ₆ O-
R1-3	-S(CH ₂) ₆ O-
R1-4	-NH(CH ₂) ₈ O-
R1-5	-NH(CH ₂) ₅ CH(CH ₂ CH ₃)O-
R1-6	-S(CH ₂) ₄ CH(CH ₃)O-

不同的转接点 R₂ 会对 RNA 抑制剂活性有影响，其中 R2-1 作为转接点时 RNA 抑制剂最佳。

R ₂ 代码	R ₂ 结构
R2-1	
R2-2	
R2-3	
R2-4	
R2-5	
R2-6	
R2-7	
R2-8	
R2-9	
R2-10	

R ₂ 代码	R ₂ 结构
R2-11	
R2-12	

在某些实施方案中，本发明所述的 RNA 抑制剂中的 $n+m$ 分别为 2、3、4、5 和 6。5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的位置包括反义链的 5'端和/或 3'端、正义链的 5'端和/或 3'端、反义链的 5'端和正义链的 3'端、正义链的 5'端和反义链的 3'端。由反义链和正义链碱基配对退火，其中 $n+m=2$ 、3、4、5 和 6，如表 20 所示：

表 20 5'MVIP 和 3'MVIP 与正义链和/或反义链偶联位置

载体结构		载体结构		$n+m$	载体结构与正义链和/或反义链偶联位置 (S:AS)
5'MVIP09	$n=2$	3'MVIP09	$m=2$	4	$n:m$
5'MVIP01	$n=1$	3' MVIP01	$m=1$	2	$n:m$
5'MVIP21	$n=1$	3' MVIP01	$m=1$	2	$n:m$
5'MVIP01	$n=1$	3' MVIP07	$m=1$	2	$n:m$
5'MVIP01/3'MVIP01	$n=1/m=1$	/	/	2	$nm:/$
3'MVIP01	$m=1$	5'MVIP01	$n=1$	2	$m:n$
3' MVIP07	$m=1$	5'MVIP21	$n=1$	2	$m:n$
5'MVIP01	$n=1$	3'MVIP09	$m=2$	3	$n:m$
5' MVIP08	$n=1$	3'MVIP15	$m=2$	3	$n:m$
5'MVIP09	$n=2$	3'MVIP01	$m=1$	3	$n:m$
5' MVIP19	$n=2$	3' MVIP07	$m=1$	3	$n:m$
5'MVIP01/3'MVIP09	$n=1/m=2$	/	/	3	$nm:/$
5'MVIP09/3'MVIP01	$n=2/m=1$	/	/	3	$nm:/$
3'MVIP09	$m=2$	5'MVIP01	$n=1$	3	$m:n$
3'MVIP11	$m=2$	5'MVIP06	$n=1$	3	$m:n$
3'MVIP01	$m=1$	5' MVIP20	$n=2$	3	$m:n$
3' MVIP07	$m=1$	5' MVIP19	$n=2$	3	$m:n$
5'MVIP01	$n=1$	3' MVIP17	$m=3$	4	$n:m$
5' MVIP21	$n=1$	3' MVIP17	$m=3$	4	$n:m$
5'MVIP17	$n=3$	3' MVIP01	$m=1$	4	$n:m$
5' MVIP22	$n=3$	3' MVIP07	$m=1$	4	$n:m$
5' MVIP20	$n=2$	3' MVIP10	$m=2$	4	$n:m$
5' MVIP19	$n=2$	3'MVIP15	$m=2$	4	$n:m$
5' MVIP10	$n=2$	3'MVIP12	$m=2$	4	$n:m$
5'MVIP09/3'MVIP09	$n=2/m=2$	/	/	4	$nm:/$
3'MVIP09	$m=2$	5' MVIP09	$n=2$	4	$m:n$
3'MVIP10	$m=2$	5' MVIP20	$n=2$	4	$m:n$

载体结构		载体结构		n+m	载体结构与正义链和/或反义链偶联位置(S:AS)
3'MVIP01	m=1	5' MVIP17	n=3	4	m:n
3'MVIP02	m=1	5' MVIP18	n=3	4	m:n
3'MVIP17	m=3	5' MVIP01	n=1	4	m:n
3'MVIP18	m=3	5' MVIP21	n=1	4	m:n
5'MVIP09	n=2	3' MVIP17	m=3	5	n:m
5'MVIP20	n=2	3' MVIP19	m=3	5	n:m
5'MVIP17	n=3	3'MVIP09	m=2	5	n:m
5'MVIP22	n=3	3'MVIP11	m=2	5	n:m
5'MVIP09/3'MVIP17	n=2/m=3	/	/	5	nm:/
5'MVIP17/3'MVIP09	n=3/m=2	/	/	5	nm:/
3'MVIP17	m=3	5' MVIP20	n=2	5	m:n
3'MVIP19	m=3	5' MVIP16	n=2	5	m:n
3'MVIP09	m=2	5' MVIP17	n=3	5	m:n
3' MVIP15	m=2	5' MVIP17	n=3	5	m:n
5'MVIP17	n=3	3' MVIP17	m=3	6	n:m
5' MVIP22	n=3	3' MVIP19	m=3	6	n:m
5'MVIP17/3'MVIP17	n=3/m=3	/		6	nm:/
3'MVIP17	m=3	5' MVIP17	n=3	6	m:n
3'MVIP18	m=3	5' MVIP22	n=3	6	m:n

在一些实施方式中，n和m各自独立地为0-4的任意整数，各自独立地优选为1-3的整数，且n+m=2-6的整数，优选n+m=2、3或4，更优选为4。

在某些实施方式中，所述 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的正义链和反义链选自下表 21：

表 21 5'MVIP 和/或 3'MVIP 偶联的正义链和反义链

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12AS62	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACsfGsG-3'MVIP09
Ky-12AS63	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACsfGsG-3'MVIP01
Ky-12AS64	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACsfGsG-3'MVIP17
Ky-12AS65	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGsG-3'MVIP09
Ky-12AS66	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGsG-3'MVIP01
Ky-12AS67	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGsG-3'MVIP17
Ky-12AS68	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGsfGsA-3'MVIP09
Ky-12AS69	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGsfGsA-3'MVIP01
Ky-12AS70	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGsfGsA-3'MVIP17
Ky-12AS71	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCsfUsU-3'MVIP09
Ky-12AS72	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCsfUsU-3'MVIP01
Ky-12AS73	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCsfUsU-3'MVIP17
Ky-12AS74	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCsfCsC-3'MVIP09
Ky-12AS75	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCsfCsC-3'MVIP01
Ky-12AS76	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCsfCsC-3'MVIP17
Ky-12AS77	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGCfAGfCCfACsGsG-3'MVIP09
Ky-12AS78	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGCfAGfCCfACsGsG-3'MVIP01
Ky-12AS79	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGCfAGfCCfACsGsG-3'MVIP17

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12AS80	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUsGsG-3'MVIP09
Ky-12AS81	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUsGsG-3'MVIP01
Ky-12AS82	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUsGsG-3'MVIP17
Ky-12AS83	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGsGsA-3'MVIP09
Ky-12AS84	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGsGsA-3'MVIP01
Ky-12AS85	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGsGsA-3'MVIP17
Ky-12AS86	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCsUsU-3'MVIP09
Ky-12AS87	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCsUsU-3'MVIP01
Ky-12AS88	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCsUsU-3'MVIP17
Ky-12AS89	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCsCsC-3'MVIP09
Ky-12AS90	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCsCsC-3'MVIP01
Ky-12AS91	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCsCsC-3'MVIP17
Ky-12AS01	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS03	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP01
Ky-12AS04	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS92	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCsUsC-3'MVIP09
Ky-12AS93	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCsUsC-3'MVIP01
Ky-12AS94	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCsUsC-3'MVIP17
Ky-12AS95	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCsUsU-3'MVIP09
Ky-12AS96	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12AS97	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCsUsU-3'MVIP17
Ky-12AS98	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACfGG-3'MVIP09
Ky-12AS99	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGG-3'MVIP09
Ky-12AS100	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGfGA-3'MVIP09
Ky-12AS101	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCfUU-3'MVIP09
Ky-12AS102	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCC-3'MVIP09
Ky-12AS103	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGCfAGfCCfACGG-3'MVIP09
Ky-12AS104	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUGG-3'MVIP09
Ky-12AS105	CsfAsGfGAfUGfGAfUAGGfCAfGGfUGGA-3'MVIP09
Ky-12AS106	GsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfCCUU-3'MVIP09
Ky-12AS107	GsfAsGfCAfCUfGAfGAAUfACfUGfUCCC-3'MVIP09
Ky-12AS108	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUC-3'MVIP09
Ky-12AS109	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUC-3'MVIP17
Ky-12AS110	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGCUC-3'MVIP09
Ky-12AS111	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCfUCUU-3'MVIP09
Ky-12AS112	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACfGsG-3'MVIP09
Ky-12AS113	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGsG-3'MVIP09
Ky-12AS114	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGfGsA-3'MVIP09
Ky-12AS115	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCfUsU-3'MVIP09
Ky-12AS116	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCsC-3'MVIP09
Ky-12AS117	UsfGsAfGGfUCfUCfAGGCfAGfCCfACGsG-3'MVIP09
Ky-12AS118	UsfGsGfAUfAGfGCfAGGUfGGfACfUUsfGsG-3'MVIP09

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12AS119	CsfAsGfGAtUGfGAtUAGGfCAfGGfUGGsA-3'MVIP09
Ky-12AS120	GsfCsAfCUfGAtGAtGAfUAACfUGfUCfCCUsU-3'MVIP09
Ky-12AS121	GsfAsGfCAfCUfGAtGAAUfACfUGfUCCsC-3'MVIP09
Ky-12AS122	AsfCsAfCUfGAtGAAUACfUGfUCfGcfUsC-3'MVIP09
Ky-12AS123	AsfCsAfCUfGAtGAAUACfUGfUCfGcfUsC-3'MVIP17
Ky-12AS124	AsfCsAfCUfGAtGAtGAfUAACfUGfUCfGCUsc-3'MVIP09
Ky-12AS125	AsfCsAfCUfGAtGAAUACfUGfUCfGcfUCUsU-3'MVIP09
Ky-12AS128	GsfCsAfCUfGAtGAAUACfUGfUCfCCfUUsUsU-3'MVIP09
Ky-12AS129	GsfCsAfCUfGAtGAAUACfUGfUCfCCfUUsUsU-3'MVIP17
Ky-12S60	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S61	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S62	5'MVIP17-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S63	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP17
Ky-12S64	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP09
Ky-12S65	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP01
Ky-12S66	5'MVIP09-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S67	5'MVIP01-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S68	5'MVIP17-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S69	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP17
Ky-12S70	5'MVIP01-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP09
Ky-12S71	5'MVIP09-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP01
Ky-12S72	5'MVIP09-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S73	5'MVIP01-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S74	5'MVIP17-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S75	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP17
Ky-12S76	5'MVIP01-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S77	5'MVIP09-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S78	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S79	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S80	5'MVIP17-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S81	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S82	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S83	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S84	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S85	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S86	5'MVIP17-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S87	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S88	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S89	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S90	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S91	5'MVIP09-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S92	5'MVIP01-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S93	5'MVIP17-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S94	GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP17
Ky-12S95	5'MVIP01-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP09
Ky-12S96	5'MVIP09-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP01
Ky-12S97	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S98	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S99	5'MVIP17-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S100	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP17
Ky-12S101	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP09
Ky-12S102	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP01
Ky-12S103	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP01
Ky-12S104	5'MVIP09-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S105	5'MVIP01-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S106	5'MVIP17-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S107	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP17
Ky-12S108	5'MVIP01-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S109	5'MVIP09-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S110	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S111	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S112	5'MVIP17-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S113	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S114	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S115	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S116	5'MVIP09-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S117	5'MVIP01-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S118	5'MVIP17-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S119	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S120	5'MVIP01-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S121	5'MVIP09-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S01	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S06	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S05	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S01	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S12	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S13	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S07	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S122	5'MVIP09-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S123	5'MVIP01-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S124	5'MVIP17-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S125	GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP17
Ky-12S126	5'MVIP01-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S127	5'MVIP09-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S128	5'MVIP01-GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S129	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S130	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
Ky-12S131	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
Ky-12S132	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP17
Ky-12S133	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP09
Ky-12S134	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP01
Ky-12S135	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP01
Ky-12S136	5'MVIP09-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S137	5'MVIP01-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S138	5'MVIP17-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S139	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP17
Ky-12S140	5'MVIP01-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP09
Ky-12S141	5'MVIP09-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsU-3'MVIP01
Ky-12S142	5'MVIP09-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S143	5'MVIP01-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S144	5'MVIP17-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S145	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP17
Ky-12S146	5'MVIP01-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP09
Ky-12S147	5'MVIP09-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP01
Ky-12S148	5'MVIP09-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S149	5'MVIP01-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S150	5'MVIP17-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S151	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGAsA-3'MVIP17
Ky-12S152	5'MVIP01-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S153	5'MVIP09-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S154	5'MVIP09-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S155	5'MVIP01-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S156	5'MVIP17-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S157	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCUsU-3'MVIP17
Ky-12S158	5'MVIP01-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S159	5'MVIP09-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S160	5'MVIP09-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S161	5'MVIP01-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S162	5'MVIP17-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S163	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCUsU-3'MVIP17
Ky-12S164	5'MVIP01-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S165	5'MVIP09-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S166	5'MVIP09-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsU
Ky-12S167	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S168	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S169	5'MVIP17-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC
Ky-12S170	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP17
Ky-12S171	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP09
Ky-12S172	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsC-3'MVIP01

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S173	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU-3'MVIP01
Ky-12S174	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU
Ky-12S175	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU
Ky-12S176	5'MVIP17-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU
Ky-12S177	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUCsU-3'MVIP17
Ky-12S178	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU-3'MVIP09
Ky-12S179	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAUsCsU-3'MVIP01
Ky-12S180	5'MVIP09-CsACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S181	5'MVIP01-CsACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S182	5'MVIP17-CsACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S183	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGAsA-3'MVIP17
Ky-12S184	5'MVIP01-CsACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGAsA-3'MVIP09
Ky-12S185	5'MVIP09-CsACCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGAsA-3'MVIP01
Ky-12S186	5'MVIP09-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S187	5'MVIP01-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S188	5'MVIP17-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU
Ky-12S189	GGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S190	5'MVIP01-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S191	5'MVIP09-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S192	5'MVIP09-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S193	5'MVIP01-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S194	5'MVIP17-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU
Ky-12S195	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP17
Ky-12S196	5'MVIP01-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP09
Ky-12S197	5'MVIP09-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsU-3'MVIP01
Ky-12S198	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S199	5'MVIP01-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S200	5'MVIP17-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S201	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUGsU-3'MVIP17
Ky-12S202	5'MVIP01-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S203	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S204	5'MVIP01-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S205	5'MVIP09-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S206	5'MVIP01-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S207	5'MVIP17-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S208	GsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUGsU-3'MVIP17
Ky-12S209	5'MVIP01-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09
Ky-12S210	5'MVIP09-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP01
Ky-12S211	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
Ky-12S212	5'MVIP01-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
Ky-12S213	5'MVIP17-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU
Ky-12S214	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGsU-3'MVIP17
Ky-12S215	5'MVIP01-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP09

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S216	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP01
Ky-12S217	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S218	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S219	5'MVIP17-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S220	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP17
Ky-12S221	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP09
Ky-12S222	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP01
Ky-12S223	5'MVIP09-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S224	5'MVIP01-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S225	5'MVIP17-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S226	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP17
Ky-12S227	5'MVIP01-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP09
Ky-12S228	5'MVIP09-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP01
Ky-12S229	5'MVIP09-CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S230	5'MVIP01-CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S231	5'MVIP17-CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S232	CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP17
Ky-12S233	5'MVIP01-CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S234	5'MVIP09-CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S235	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S236	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S237	5'MVIP17-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S238	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S239	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S240	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S241	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S242	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S243	5'MVIP17-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S244	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S245	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S246	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S247	5'MVIP09-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S248	5'MVIP01-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S249	5'MVIP17-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S250	GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP17
Ky-12S251	5'MVIP01-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP09
Ky-12S252	5'MVIP09-GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP01
Ky-12S253	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S254	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S255	5'MVIP17-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S256	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP17
Ky-12S257	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP09
Ky-12S258	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP01

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S259	5'MVIP09-CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S260	5'MVIP01-CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S261	5'MVIP17-CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA
Ky-12S262	CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP17
Ky-12S263	5'MVIP01-CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S264	5'MVIP09-CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S265	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S266	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S267	5'MVIP17-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S268	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S269	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S270	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S271	5'MVIP09-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S272	5'MVIP01-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S273	5'MVIP17-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S274	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S275	5'MVIP01-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S276	5'MVIP09-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S277	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S278	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S279	5'MVIP17-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S280	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP17
Ky-12S281	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S282	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S283	5'MVIP09-AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S284	5'MVIP01-AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S285	5'MVIP17-AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S286	AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP17
Ky-12S287	5'MVIP01-AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S288	5'MVIP09-AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S289	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S290	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S291	5'MVIP17-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S292	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA-3'MVIP17
Ky-12S293	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA-3'MVIP09
Ky-12S294	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA-3'MVIP01
Ky-12S295	5'MVIP09-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S296	5'MVIP01-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S297	5'MVIP17-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S298	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP17
Ky-12S299	5'MVIP01-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP09
Ky-12S300	5'MVIP09-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP01
Ky-12S301	5'MVIP09-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S302	5'MVIP01-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S303	5'MVIP17-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S304	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP17
Ky-12S305	5'MVIP01-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP09
Ky-12S306	5'MVIP09-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP01
Ky-12S307	5'MVIP09-CsGCCUGCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S308	5'MVIP01-CsGCCUGCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S309	5'MVIP17-CGCCUGCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S310	CsGsCCUGCCfUfAfUCCAUCUGAsA-3'MVIP17
Ky-12S311	5'MVIP01-CsGCCUGCCfUfAfUCCAUCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S312	5'MVIP09-CsGCCUGCCfUfAfUCCAUCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S313	5'MVIP09-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S314	5'MVIP01-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S315	5'MVIP17-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S316	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGCUsA-3'MVIP17
Ky-12S317	5'MVIP01-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S318	5'MVIP09-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S319	5'MVIP01-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S320	5'MVIP09-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S321	5'MVIP01-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S322	5'MVIP17-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S323	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUCUsA-3'MVIP17
Ky-12S324	5'MVIP01-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S325	5'MVIP09-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S326	5'MVIP09-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S327	5'MVIP01-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S328	5'MVIP17-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA
Ky-12S329	GsUsGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsA-3'MVIP17
Ky-12S330	5'MVIP01-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP09
Ky-12S331	5'MVIP09-GsUGGCUfGCfCfUfGAGACCUCAsAsA-3'MVIP01
Ky-12S332	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S333	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S334	5'MVIP17-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA
Ky-12S335	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP17
Ky-12S336	5'MVIP01-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP09
Ky-12S337	5'MVIP09-AsAGUCCfACfCfUfGCCUAUCCAsUsA-3'MVIP01
Ky-12S338	5'MVIP09-CsGCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S339	5'MVIP01-CsGCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S340	5'MVIP17-CsGCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGsAsA
Ky-12S341	CsGsCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGAsA-3'MVIP17
Ky-12S342	5'MVIP01-CsGCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGsAsA-3'MVIP09
Ky-12S343	5'MVIP09-CsGCCUGfCCfUfAfUCCAUCUGsAsA-3'MVIP01
Ky-12S344	5'MVIP09-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S345	5'MVIP01-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S346	5'MVIP17-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA
Ky-12S347	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCUsA-3'MVIP17
Ky-12S348	5'MVIP01-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S349	5'MVIP09-GsGGACAfGUfAfUfUCUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S350	5'MVIP09-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S351	5'MVIP01-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S352	5'MVIP17-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA
Ky-12S353	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCUsA-3'MVIP17
Ky-12S354	5'MVIP01-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S355	5'MVIP09-GsACAGUfAUfUfCfUCAGUGCUCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S356	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S357	5'MVIP01-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S358	5'MVIP17-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S359	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUGsA-3'MVIP17
Ky-12S360	5'MVIP01-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S361	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S362	5'MVIP09-AsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S363	5'MVIP01-AsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S364	5'MVIP17-AsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA
Ky-12S365	AsAsGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUGsA-3'MVIP17
Ky-12S366	5'MVIP01-AsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S367	5'MVIP09-AsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S368	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S369	5'MVIP01-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S370	5'MVIP17-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA
Ky-12S371	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGsA-3'MVIP17
Ky-12S372	5'MVIP01-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA-3'MVIP09
Ky-12S373	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsA-3'MVIP01
Ky-12S374	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S375	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S376	5'MVIP17-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S377	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP17
Ky-12S378	5'MVIP01-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP09
Ky-12S379	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP01
Ky-12S380	5'MVIP09-GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA
Ky-12S381	5'MVIP01-GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA
Ky-12S382	5'MVIP17-GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA
Ky-12S383	GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA-3'MVIP17
Ky-12S384	5'MVIP01-GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA-3'MVIP09
Ky-12S385	5'MVIP09-GsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCsCsA-3'MVIP01
Ky-12S386	5'MVIP09-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCcUsA
Ky-12S387	5'MVIP01-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCcUsA

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S388	5'MVIP17-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA
Ky-12S389	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S390	5'MVIP01-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S391	5'MVIP09-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S392	5'MVIP01-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S393	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S394	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S395	5'MVIP17-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S396	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP17
Ky-12S397	5'MVIP01-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S398	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S399	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA
Ky-12S400	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA
Ky-12S401	5'MVIP17-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA
Ky-12S402	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S403	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S404	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S405	5'MVIP09-GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S406	5'MVIP01-GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S407	5'MVIP17-GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA
Ky-12S408	GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP17
Ky-12S409	5'MVIP01-GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP09
Ky-12S410	5'MVIP09-GsTsGGCUfGCfCfUfGAGACCUcCsA-3'MVIP01
Ky-12S411	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA
Ky-12S412	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA
Ky-12S413	5'MVIP17-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA
Ky-12S414	AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA-3'MVIP17
Ky-12S415	5'MVIP01-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA-3'MVIP09
Ky-12S416	5'MVIP09-AsAsGUCCfACfCfUfGCCUAUCcCsA-3'MVIP01
Ky-12S417	5'MVIP09-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA
Ky-12S418	5'MVIP01-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA
Ky-12S419	5'MVIP17-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA
Ky-12S420	CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S421	5'MVIP01-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S422	5'MVIP09-CsAsCCUGfCCfUfAfUCCAUCCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S423	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S424	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S425	5'MVIP17-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA
Ky-12S426	GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP17
Ky-12S427	5'MVIP01-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP09
Ky-12S428	5'MVIP09-GsGsGACAfGUfAfUfUCUCAGUsGsA-3'MVIP01
Ky-12S429	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA
Ky-12S430	5'MVIP01-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCsUsA

正义链/反义链代码	正义链/反义链序列 5'→3'
Ky-12S431	5'MVIP17-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsA
Ky-12S432	GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP17
Ky-12S433	5'MVIP01-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP09
Ky-12S434	5'MVIP09-GsAsCAGUfAUfUfCfUCAGUGCsUsA-3'MVIP01
Ky-12S435	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S436	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S437	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S438	GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP09
Ky-12S439	GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP17
Ky-12S440	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP09
Ky-12S441	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP01
Ky-12S442	5'MVIP09-GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S443	5'MVIP01-GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S444	5'MVIP17-GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU
Ky-12S445	GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP09
Ky-12S446	GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP17
Ky-12S447	5'MVIP01-GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP09
Ky-12S448	5'MVIP09-GsCsGCGAfCAfGfUfAUUUCTAsGsU-3'MVIP01
Ky-12S449	5'MVIP09-GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA
Ky-12S450	5'MVIP01-GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA
Ky-12S451	5'MVIP17-GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA
Ky-12S452	GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA-3'MVIP09
Ky-12S453	GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA-3'MVIP17
Ky-12S454	5'MVIP01-GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA-3'MVIP09
Ky-12S455	5'MVIP09-GsCsGCGACAfGfUfAUUUCTAsGsA-3'MVIP01
Ky-12S456	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S457	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU
Ky-12S458	5'MVIP01-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGUsGsU-3'MVIP09

在一些实施方式中，所述RNA抑制剂选自表22-1、表22-2，其中的正义链和/或反义链与表22-1和表22-2中的各序列相差1个、2个或3个核苷酸，或与表22-1、表22-2中的序列具有相同的至少连续15个核苷酸的序列：

表 22-1 RNA 抑制剂

RNA 抑制剂	正义链 5'→3'	反义链 5'→3'
Ky-12-DS2 3001	5'MVIP09-GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCA sAsU	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACsfGsG -3'MVIP09
Ky-12-DS2 5001	5'MVIP09-AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCA sUsC	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUUsfGs G-3'MVIP09
Ky-12-DS2 5401	5'MVIP09-CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUG sAsA	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUGsfGs A-3'MVIP09
Ky-12-DS2 9701	5'MVIP09-GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUG CsUsU	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfCCsfUsU -3'MVIP09

RNA 抑制 剂	正义链 5'→3'	反义链 5'→3'
Ky-12-DS2 9801	5'MVIP09-GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUC sUsU	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCsfCsC -3'MVIP09
Ky-12-DS3 1701	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP09
Ky-12-DS3 1702	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsUsC -3'MVIP09
Ky-12-DS3 1703	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCfUCs UsU-3'MVIP09
Ky-12-DS3 1704	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsG sU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP09
Ky-12-DS3 1705	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP17
Ky-12-DS3 1706	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU-3'MVIP01	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12-DS3 1707	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU-3'MVIP09	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12-DS3 1708	5'MVIP09-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU-3'MVIP01	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12-DS3 1709	5'MVIP01-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsG sU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP01
Ky-12-DS3 1710	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP 09	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP09
Ky-12-DS3 1711	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsG sU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12-DS3 1712	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsGsU-3'MVIP 17	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC
Ky-12-DS3 1713	5'MVIP17-GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAsG sU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsC -3'MVIP01
Ky-12-DS3 3001	5'MVIP09-AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCsfUsU -3'MVIP09
Ky-12-DS3 3002	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCfUsU- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 3003	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGs U	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCfUsU- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 3004	5'MVIP01-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCfUsU- 3'MVIP17
Ky-12-DS3 3005	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfGAAUACfUGfUCfGCfUsU- 3'MVIP09
Ky-12-DS2 3002	5'MVIP09-GsUGGCUGCfCfUfGAGACCUCAs AsU	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfACfGsG- 3'MVIP09
Ky-12-DS2 5002	5'MVIP09-AsAGUCCACfCfUfGCCUAUCCAs UsC	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfUfGsG- 3'MVIP09

RNA 抑制 剂	正义链 5'→3'	反义链 5'→3'
Ky-12-DS2 5402	5'MVIP09-CsACCUGCCfUfAfUCCAUCCUGs AsA	CsfAsGfGfUfGfGAUAGGfCAfGGfUGfGsA- 3'MVIP09
Ky-12-DS2 9702	5'MVIP09-GsGGACAGUfAfUfUCUCAGUGC sUsU	GsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCfCCfUsU- 3'MVIP09
Ky-12-DS2 9802	5'MVIP09-GsACAGUAUfUfCfUCAGUGCUCs UsU	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfUCfCsC- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 1714	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCfGCfUsC- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 1715	5'MVIP09-GsAGCGAfCAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfAfGfAUACfUGfUCfGCUsC- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 1716	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCfGCfUCU sU-3'MVIP09
Ky-12-DS3 1717	5'MVIP09-GsAGCGACAfGfUfAUUCUCAsGs U	AsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCfGCfUsC- 3'MVIP09
Ky-12-DS3 3006	5'MVIP09-AsAGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	AsfCsAfCUfGfAfGAAUACfUGfUCfGCfUCU sU-3'MVIP09

表 22-2 RNA 抑制剂

单链 代码	载体结构		单链代 码	载体结构		双链代码	n ⁺ m	载体结构与 siRNA 偶联 位置(S:AS)
S196	5'MVIP09	n=2	AS196	3'MVIP09	m=2	Kylo-12-DS1081	4	n:m
S211	5'MVIP01	n=1	AS208	3' MVIP01	m=1	Kylo-12-DS131	2	n:m
S263	5'MVIP21	n=1	AS208	3' MVIP01	m=1	Kylo-12-DS132	2	n:m
S211	5'MVIP01	n=1	AS247	3' MVIP07	m=1	Kylo-12-DS133	2	n:m
S212	5'MVIP01/3'MVIP01	n=1/m= 1	AS108	/	/	Kylo-12-DS134	2	nm:/
S209	3'MVIP01	m=1	AS265	5'MVIP01	n=1	Kylo-12-DS135	2	m:n
S249	3' MVIP07	m=1	AS263	5'MVIP21	n=1	Kylo-12-DS136	2	m:n
S211	5'MVIP01	n=1	AS196	3'MVIP09	m=2	Kylo-12-DS137	3	n:m
S227	5' MVIP08	n=1	AS257	3'MVIP15	m=2	Kylo-12-DS138	3	n:m
S196	5'MVIP09	n=2	AS208	3'MVIP01	m=1	Kylo-12-DS139	3	n:m
S261	5' MVIP19	n=2	AS247	3' MVIP07	m=1	Kylo-12-DS140	3	n:m
S217	5'MVIP01/3'MVIP09	n=1/m= 2	AS108	/	/	Kylo-12-DS141	3	nm:/
S218	5'MVIP09/3'MVIP01	n=2/m= 1	AS108	/	/	Kylo-12-DS142	3	nm:/
S208	3'MVIP09	m=2	AS265	5'MVIP01	n=1	Kylo-12-DS143	3	m:n
S251	3'MVIP11	m=2	AS234	5'MVIP06	n=1	Kylo-12-DS144	3	m:n
S209	3'MVIP01	m=1	AS262	5' MVIP20	n=2	Kylo-12-DS145	3	m:n
S249	3' MVIP07	m=1	AS261	5' MVIP19	n=2	Kylo-12-DS146	3	m:n
S231	5'MVIP01	n=1	AS209	3' MVIP17	m=3	Kylo-12-DS147	4	n:m
S263	5' MVIP21	n=1	AS209	3' MVIP17	m=3	Kylo-12-DS148	4	n:m
S210	5'MVIP17	n=3	AS208	3' MVIP01	m=1	Kylo-12-DS149	4	n:m
S264	5' MVIP22	n=3	AS247	3' MVIP07	m=1	Kylo-12-DS150	4	n:m
S262	5' MVIP20	n=2	AS248	3' MVIP10	m=2	Kylo-12-DS151	4	n:m

单链代码	载体结构		单链代码	载体结构		双链代码	n+m	载体结构与 siRNA 偶联位置(S:AS)
S261	5' MVIP19	n=2	AS257	3'MVIP15	m=2	Kylo-12-DS152	4	n:m
S238	5' MVIP10	n=2	AS254	3'MVIP12	m=2	Kylo-12-DS153	4	n:m
S213	5'MVIP09/3'MVIP09	n=2/m=2	AS108	/	/	Kylo-12-DS154	4	nm:/
S208	3'MVIP09	m=2	AS266	5' MVIP09	n=2	Kylo-12-DS155	4	m:n
S250	3'MVIP10	m=2	AS262	5' MVIP20	n=2	Kylo-12-DS156	4	m:n
S209	3'MVIP01	m=1	AS207	5' MVIP17	n=3	Kylo-12-DS157	4	m:n
S241	3'MVIP02	m=1	AS238	5' MVIP18	n=3	Kylo-12-DS158	4	m:n
S207	3'MVIP17	m=3	AS265	5' MVIP01	n=1	Kylo-12-DS159	4	m:n
S225	3'MVIP18	m=3	AS263	5' MVIP21	n=1	Kylo-12-DS160	4	m:n
S196	5'MVIP09	n=2	AS209	3' MVIP17	m=3	Kylo-12-DS161	5	n:m
S262	5'MVIP20	n=2	AS220	3' MVIP19	m=3	Kylo-12-DS162	5	n:m
S210	5'MVIP17	n=3	AS196	3'MVIP09	m=2	Kylo-12-DS163	5	n:m
S264	5'MVIP22	n=3	AS249	3'MVIP11	m=2	Kylo-12-DS164	5	n:m
S219	5'MVIP09/3'MVIP17	n=2/m=3	AS108	/	/	Kylo-12-DS165	5	nm:/
S220	5'MVIP17/3'MVIP09	n=3/m=2	AS108	/	/	Kylo-12-DS166	5	nm:/
S207	3'MVIP17	m=3	AS262	5' MVIP20	n=2	Kylo-12-DS167	5	m:n
S222	3'MVIP19	m=3	AS226	5' MVIP16	n=2	Kylo-12-DS168	5	m:n
S208	3'MVIP09	m=2	AS207	5' MVIP17	n=3	Kylo-12-DS169	5	m:n
S259	3' MVIP15	m=2	AS207	5' MVIP17	n=3	Kylo-12-DS170	5	m:n
S210	5'MVIP17	n=3	AS209	3' MVIP17	m=3	Kylo-12-DS171	6	n:m
S264	5' MVIP22	n=3	AS220	3' MVIP19	m=3	Kylo-12-DS172	6	n:m
S214	5'MVIP17/3'MVIP17	n=3/m=3	AS108	/	/	Kylo-12-DS173	6	nm:/
S207	3'MVIP17	m=3	AS207	5' MVIP17	n=3	Kylo-12-DS174	6	m:n
S225	3'MVIP18	m=3	AS264	5' MVIP22	n=3	Kylo-12-DS175	6	m:n

在某些实施方案中，本申请所述的RNA抑制剂或其药学上可接受的盐优选以钠盐、三乙胺盐或其它可药用盐的形式制备或合成。

在某些实施方案中，所述RNA抑制剂或其药学上可接受的盐更优选为其钠盐或三乙胺盐。本申请还提供了一种包含上述RNA抑制剂或其药学上可接受的盐的药物组合物。

在一个实施方式中，本发明还提供了一种包含上述RNA抑制剂或其药学上可接受的盐和药学上可接受的药用辅料的药物组合物。包含RNA抑制剂的药物组合物可用于预防和/或治疗与含APOC3的水平升高相关的疾病，例如，肝源性疾病、炎性、心脑血管和代谢疾病，其中，心脑血管疾病包括高脂血症、中风、动脉粥样硬化、血栓形成、冠心病、主动脉瓣狭窄、高甘油三酯血症(HTG)、严重高甘油三酯血症(sHTG)或家族性乳糜微粒血症综合征(FCS)。这类药物组合物依据递送模式配制。一个实例方案为配制用于以肠胃外递送全身性施用的组合物，例如，皮下(SC)、肌肉(IM)或静脉内(IV)递送。本申请的药物组合物可以足以抑制APOC3基因表达的剂量施用。

药学上可接受的“辅料”或“赋形剂”是用于递送一种或多种核酸至动物的药学上可接受的溶剂、悬浮剂或任何其他药学上惰性的媒介物。赋形剂可为液体或固体，并根据计划的施用方式进行选择，以在与核酸及给定药物组合物中的其他组分组合时提供所需的体积、稠度等。RNA抑制剂可以靶向特定组织(例如，肝细胞)的方式递送。

在某些实施方式中，所述药物组合物，其还进一步包含递送媒介物(如纳米颗粒、树状聚合

物、聚合物、脂质体或阳离子递送系统)。

在某些实施方式中,所述递送媒介物包括脂质体。

在某些实施方式中,所述递送媒介物包括纳米脂质,其能够与核酸分子形成脂质体-核酸纳米颗粒。

在某些实施方式中,所述递送媒介物包括两性脂质化合物 M10C1。

本发明提供的药物组合物包括(但不限于)溶液、乳液和包含脂质体的制剂。这些组合物可由多种组分产生,包括(但不限于)预形成液体、自乳化固体和自乳化半固体。制剂包括靶向肝脏的那些。可以单位剂型方便地存在的本申请药物制剂可依据制药业公知的常规技术制备。这类技术包括将活性成分与药用辅料或赋形剂结合的步骤。

用途

另一方面,本申请进一步提供了一种减少细胞或组织中 APOC3 mRNA 或蛋白质表达的方法,其包括使细胞或组织与有效量的前述的抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐,和/或前述的药物组合物接触。

适合使用本申请方法处理的细胞可为任何表达 APOC3 基因的细胞,例如,肝脏细胞、脑细胞、胆囊细胞、心脏细胞或肾脏细胞,但优选为肝脏细胞。适合用于本申请方法的细胞可为哺乳动物细胞,当与表达 APOC3 基因的细胞接触时, RNA 抑制剂抑制 APOC3 基因(例如,人类、灵长类、非灵长类或大鼠 APOC3 基因)的表达至少约 50%,例如可通过 PCR 或基于分支 DNA(bDNA)的方法,或由基于蛋白质的方法,如免疫荧光分析法,蛋白质印迹法或流式细胞分析技术测定的。

在某些实施方式中,所述组织是肝脏组织。

本发明所用术语“抑制”可与“减少”、“降低”、“沉默”、“下调”、“压制”及其他类似术语交换使用,且包括任何抑制水平。APOC3 基因的表达可依据与 APOC3 基因表达相关的任何变量的水平或水平变化来评价,例如, APOC3 mRNA 水平或 APOC3 蛋白水平。这一水平可在单个细胞中或细胞群中(包括例如,源自受试者的样品)中分析。可通过与 APOC3 表达相关的一种或多种变量与对照水平比较的绝对或相对水平的下降来评价抑制。对照水平可为本领域上采用的任何类型的对照水平,例如,给药前基线水平或从未处理或接受对照(如例如,仅缓冲剂对照或无活性剂对照)处理的类似受试者、细胞或样本测得的水平。

APOC3 基因表达的抑制可通过其中 APOC3 基因被转录且已处理(例如,通过一个或多个细胞与本申请的 RNA 抑制剂接触,或通过施用本申请的 RNA 抑制剂于其中存在该细胞的受试者)使得抑制 APOC3 基因表达的第一细胞或细胞群(这类细胞可例如存在于源自受试者的样品中)表达的 mRNA 量与基本上与该第一细胞或细胞群相同但未如此处理的第二细胞或细胞群(未用 RNA 抑制剂处理或未用靶向目的基因的 RNA 抑制剂处理的对照细胞)相比的降低来表现。在优选的实施方式中,抑制通过实施例 2 提供的方法使用 siRNA 合适的浓度在高表达 APOC3 的细胞系中评价,并将被干预细胞中的 mRNA 水平表示为非干预对照细胞中 mRNA 水平的百分比。

在其他实施方式中, APOC3 基因表达的抑制可通过功能上与 APOC3 基因表达相关的参数的降低来评价,例如,受试者血液或血清中的 APOC3 蛋白水平。APOC3 基因沉默可在任何表达 APOC3 的细胞(内源性或来自表达构建体的外源性)中且通过本领域已知的任何分析法测定。

APOC3 蛋白质表达的抑制可由细胞或细胞群或受试者样品表达的 APOC3 蛋白水平(例如,源自受试者的血液样品中的蛋白质水平)的降低来表现。如上所述,对于 mRNA 抑制的评价,处理细胞或细胞群的蛋白质表达水平的抑制可类似地表示为对照细胞或细胞群的蛋白质水平的百分比,或受试者样品(例如,血液或其衍生的血清)中的蛋白质水平的变化。

可用于评价 APOC3 基因抑制的对照组细胞、细胞群或受试者样品包括未与本申请 RNA 抑制剂接触的细胞、细胞群或受试者样品。例如,对照细胞、细胞群或受试者样品可源自于用 RNA 抑制剂治疗前的单个受试者(例如,人类或动物受试者)或适当匹配的群体对照。

细胞或细胞群表达的 APOC3 mRNA 水平可采用本领域已知用于评价 mRNA 表达的任何方

法测定。例如, qRT-PCR, 评价基因表达的降低。可通过本领域中已知的任何方法, 例如, ELISA, 评价蛋白质产生的降低。在某些实施方式中, 穿刺肝脏活检样品用作监测 APOC3 基因或蛋白质表达降低的组织材料。其他实施方式中, 血液样品用作监测 APOC3 蛋白质表达降低的受试者样品。

另一方面, 本申请进一步提供了前述的抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 或前述的药物组合物在制备药物中的用途, 所述药物用于预防和/或治疗疾病或病症或者降低疾病或病症的风险。

在某些实施方式中, 所述疾病或病症包括与 APOC3 相关的疾病或病症。

在某些实施方式中, 所述疾病或病症选自动脉粥样硬化、血管病变、心肌梗塞、心绞痛、中风、肾疾病、肾衰竭、肥胖、葡萄糖耐受不良、2 型糖尿病(非胰岛素依赖型糖尿病)和代谢综合征中。

又一方面, 本申请进一步还提供了一种预防和/或治疗疾病或病症的方法, 所述方法包括向有此需要的受试者施用有效量的前述的抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 和/或前述的药物组合物。

本申请的体内方法可包括对受试者施用包含 RNA 抑制剂的组合物, 其中该 RNA 抑制剂包括与接受施用 RNA 抑制剂的哺乳动物的 APOC3 基因的 RNA 转录物的至少一部分互补的核苷酸序列。组合物可采用本领域已知的任何方式施用, 包括(但不限于): 经口、腹膜内或肠胃外途径, 包括颅内(例如, 脑室内、脑实质内和鞘内)、静脉内、肌内、皮下、透皮、气道(气雾剂)、经鼻、直肠和局部(包括颊内及舌下)施用。在某些实施方式中, 药物组合物通过静脉内输注或注射施用。在某些实施方式中, 组合物通过皮下注射施用。在某些实施方式中, 该组合物通过肌肉注射施用。

本申请的 RNA 抑制剂还可作为“游离 RNA 抑制剂”施用。游离 RNA 抑制剂是在没有药物组合物的存在下施用。裸 RNA 抑制剂可在合适缓冲液中。缓冲液可包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐或磷酸盐, 或其任何组合。在一个实施方式中, 缓冲液为磷酸盐缓冲盐水(PBS)。可以调整包含 RNA 抑制剂的缓冲液的 pH 和渗透压, 以便适合施用于受试者。

或者, 本申请的 RNA 抑制剂可作为药物组合物施用, 如脂质体制剂。

本申请的药物组合物可以足以抑制 APOC3 基因表达的剂量施用。在一些实施例中, 本申请的 RNA 抑制剂的合适剂量在每天每千克接受受试者体重约 0.001 至约 1000.0 mg 的范围内; 在一些实施例中, 本申请的 RNA 抑制剂的合适剂量在每天每千克体重约 1 至 50 mg 的范围内; 在一些实施例中, 本申请的 RNA 抑制剂的合适剂量在约 0.1 mg/kg 至约 10.0 mg/kg 的范围内, 例如约 0.3 mg/kg 至约 3.0 mg/kg 的范围内。

在一个实施方式中, 该方法包括施用本发明所述的药物组合物, 使得降低靶 APOC3 基因表达, 如每剂约 1、2、3、4、5、6、1-6、1-3 或 3-6 个月。在某些实施方式中, 该组合物每 3-6 个月施用一次。

在某些实施方式中, 在初始治疗方案后, 以较少的频率施用治疗。重复剂量方案可包括规律地施用治疗量的 RNA 抑制剂, 如每月 1 次至每年 1 次。在某些实施方式中, RNA 抑制剂约每月 1 次至约每 3 个月 1 次施用, 或约每 3 个月 1 次至约每 6 个月 1 次施用。

在初始治疗方案后, 可以较低的频率施用治疗。可依据疾病严重性确定治疗持续时间。

在其他实施方式中, 单一剂量的药物组合物可以为长效的, 使得剂量以不超过 1、2、3 或 4 个月的间隔施用。在本申请的一些实施方式中, 本申请的药物组合物的单一剂量约每月施用一次。在本申请的其他实施方式中, 本申请药物组合物的单一剂量按季(即约每 3 个月)施用。在本申请的其他实施方式中, 本申请药物组合物的单一剂量每年施用 2 次(即约每 6 个月一次)。

本领域技术人员应理解, 某些因素可影响有效治疗受试者所需的剂量和施用时间, 包括(但不限于): 受试者中存在的突变、之前的治疗、受试者的一般健康或年龄和存在的其他疾病。此外, 按照需要以预防和/或治疗有效量的药物组合物治疗受试者可包括单次治疗或一系列治疗。

在某些实施方式中，其进一步包括测定来自所述受试者的样品中的 APOC3 水平。
例如，其进一步包括测定来自所述受试者血液样品、血清样品或尿液样品中的 APOC3 水平。

在某些实施方式中，该方法进一步包括对所述受试者施用用于治疗高脂血症的另外的治疗剂。

例如，该另外的治疗剂可以选自他汀类药物，如阿托伐他汀、瑞舒伐他汀等；胆固醇吸收抑制剂如依折麦布；PCSK9 抑制剂。

另一方面，本申请进一步提供了一种细胞，其包含前述的抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐。

再一方面，本申请进一步提供了一种药盒，其包含前述的抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐，或者前所述的药物组合物。

不欲被任何理论所限，下文中的实施例仅仅是为了阐释本申请的 RNA 抑制剂、制备方法和用途等，而不适用于限制本申请发明的范围。

实施例

说明：

DMSO 的中文名称为二甲基亚砜；

DMF 的中文名称为 N,N-二甲基甲酰胺；

HOBt 的中文名称为 1-羟基苯并三氮唑；

HBTU 的中文名称为 O-苯并三氮唑-四甲基脒六氟磷酸酯；

DIPEA(DIEA)的中文名称为 N,N-二异丙基乙胺；

DCM 的中文名称为二氯甲烷；

DMAP 的中文名称为 4-二甲氨基吡啶；

DMT-CL 的中文名称为 4,4'-二甲氧基三苯基氯甲烷；

MeOH 的中文名称为甲醇；

TBTU 的中文名称为 O-苯并三氮唑-N,N,N',N'-四甲基脒四氟硼酸；

○ 的名称为固相载体，如大孔氨基树脂(Resin)。

实施例 1 RNA 抑制剂的合成

未偶联载体结构的正义链和反义链是利用标准的固相亚磷酰胺法，使用固相合成仪合成的。正义链与对应的反义链互补退火制备得到 RNA 抑制剂。

固相亚磷酰胺法基本步骤包括：

- 1)脱保护：脱掉起始单体 Solid Support 羟基保护基(DMTTr)；
- 2)偶联：加上第一个亚磷酰胺单体，通过 3'至 5'方向发生偶联反应；
- 3)氧化：将所得的核苷亚磷酸酯氧化成更稳定的核苷磷酸酯(即三价磷氧化成五价磷)；
- 4)封闭：将前步骤失败核苷酸序列 5'-OH 加帽封死，使其不再进一步参与反应；重复上述步骤，直至最后一个亚磷酰胺单体的接入；然后用甲胺水溶液和氨水裂解 Solid Support 与起始单体之间酯键，并将所得核苷酸序列上的各个碱基与磷酸上的保护基脱掉；经 HPLC 分离纯化后，过滤除菌，冻干得到相应的正义链或反义链。

RNA 抑制剂的合成工艺描述：

将正义链和反义链冻干粉分别复溶、等摩尔混合，加入注射用水适量，投入适量的 TRIS 缓冲溶液。轻晃约 1~2min，使溶液混合均匀。将水浴锅升温至 92℃~95℃。将上述反应液置水浴锅中加热 3min~5min，轻晃使溶液受热均匀。自然冷却至室温。得到无色或微黄色透明液体，取样送检，测浓度。

实施例 2-1 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因表达试验 1

本实施例的 RNA 抑制剂(DS52~ DS102)由实施例 1 所述的方法制备得到。将 RNA 抑制剂水溶液和 DOTMA 的有机溶液混合形成不溶于水的沉淀，沉淀分离干燥后溶于氯仿，进一步和其他脂质氯仿溶液混合，其他脂质包括 M10C1 和 PEG600-胆固醇。混合物真空离心蒸发干燥过夜，得到纳米脂质包裹的 RNA 抑制剂，其中 DOTMA、M10C1 和 PEG600-胆固醇与 RNA 抑制剂的重量配比为 1~1.6，1.5~2.5 和 2.5~3.5。

用含 10%胎牛血清的 DMEM 配制相应浓度的纳米脂质包裹的 RNA 抑制剂样品溶液。以 10⁵ 细胞密度接种 HepG 2 细胞，10%胎牛血清 DMEM 培养基，37℃，5%CO₂，培养 24h 后，加 10nM 的样品干预，孵育 72h 后，收集细胞样品，往收集完毕的细胞样品中加入 1 mL Ezol 裂解液，漩涡震荡混匀。加入 0.2 mL 三氯甲烷，剧烈摇动 10 s，室温放置 1 分钟。4℃，12,000 x g 离心 15 min。将上清水相转移至另一新的无 RNA 酶离心管中，并加入等体积的 100%乙醇。吸取全部样品，加入带有 2 mL 收集管的 mini-spin 离心柱。8,000×g，室温离心 15 s，弃尽流穿液。将剩余的样品转移至离心柱，重复上一步骤。往离心柱中加入 700 μL WB，轻盖盖子，8,000×g，室温离心 15 s，弃尽流穿液，重复上一步骤，用 500 μL WB 洗涤离心柱两次。通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平。与未干预的 HepG 2 细胞上清对比，标定样品干预组的 APOC3 mRNA 相对表达水平。

数据分析 $\Delta\Delta Ct$ 法(Ct 差值比较法):

看家基因 GAPDH 在所有细胞中均表达，其产物是维持细胞生存所必须，且在细胞中的表达量或基因组的拷贝数恒定，受环境影响小，因此引用 GAPDH 作为内参基因。qRT-PCR 后，内参的 CT 值同时会被记录，被称为 $Ct(GAPDH)$ ，样品的 CT 值，被称为 $Ct(样品)$ 。

$\Delta Ct(样品) = Ct(样品) - Ct(GAPDH)$

$\Delta Ct(对照) = Ct(对照) - Ct(GAPDH)$

$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(样品) - \Delta Ct(对照)$

基因的相对表达水平 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$

所得试验结果见下表 23。

表 23 RNA 抑制剂干预后 HepG2 细胞中 APOC3 mRNA 的水平

RNA 抑制剂	CT 值		APOC3-GAPDH	相对表达水平	
	GAPDH	APOC3		$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
DS52	25.06	36.73	11.67	0.040949794	0.059042056
	25.01	36.81	11.8	0.03742121	
	25.04	35.44	10.4	0.098755164	
DS53	21.47	32.2	10.73	0.07856334	0.06000476
	21.4	32.61	11.21	0.05632815	
	21.3	32.83	11.53	0.04512279	
DS54	23.13	33.31	10.18	0.11502346	0.0984873
	23.25	33.67	10.42	0.09739557	
	22.73	33.38	10.65	0.08304286	
DS55	20.53	33.19	12.66	0.02061731	0.01934869
	20.82	33.26	12.44	0.02401367	
	20.85	34.13	13.28	0.01341508	
DS56	19.97	31.99	12.02	0.03212856	0.03902712
	19.9	31.43	11.53	0.04512279	
	19.84	31.55	11.71	0.03983002	
DS57	24.35	34.31	9.96	0.13397168	0.20733798
	24.44	33.55	9.11	0.24148408	
	24.31	33.39	9.08	0.24655818	
DS58	20.28	31.4	11.12	0.05995401	0.06233004

RNA 抑制剂	CT 值		APOC3-GAPDH	相对表达水平	
	GAPDH	APOC3		$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
	20.33	31.22		0.07031616	
DS59	20.22	31.42	11.2	0.05671995	
	22.01	30.22	8.21	0.45062523	
	22.11	30.08	7.97	0.53218509	0.54905108
	22.56	30.21	7.65	0.66434291	
DS60	22.22	32.2	9.98	0.13212726	0.12281597
	22.07	32.32	10.25	0.10942972	
	21.97	32.01	10.04	0.12674493	
DS61	23.66	29.66	6	2.08493152	2.10135682
	23.66	29.72	6.06	2	
	23.6	29.51	5.91	2.21913894	
DS62	21.19	32.95	11.76	0.03847326	0.03523392
	21.26	33.24	11.98	0.03303181	
	21.22	33.15	11.93	0.03419668	
DS63	20.83	31.03	10.2	0.11343989	0.11783809
	21.03	31.42	10.39	0.09944206	
	21.32	31.21	9.89	0.14063231	
DS64	22.04	31.39	9.35	0.20447551	0.21274677
	22.09	31.24	9.15	0.23488069	
	21.96	31.35	9.39	0.19888412	
DS65	26.65	34.7	8.05	0.50347778	0.4294787
	26.65	34.74	8.09	0.48971015	
	26.63	35.45	8.82	0.29524817	
DS66	20.5	31.66	11.16	0.0241807	0.02752831
	20.56	31.53	10.97	0.02758447	
	20.52	31.33	10.81	0.03081977	
DS67	20.19	31.06	10.87	0.0295643	0.02970701
	20.24	30.98	10.74	0.03235203	
	20.24	31.23	10.99	0.02720471	
DS68	19.35	31.59	12.24	0.01143817	0.01242943
	19.36	31.36	12	0.01350839	
	19.29	31.37	12.08	0.01277972	
DS69	22.1	33.31	11.21	0.02335702	0.02969232
	22.15	32.69	10.54	0.03716272	
	22.25	33.17	10.92	0.02855723	
DS70	19.32	32.88	13.56	0.00458139	0.00418037
	19.33	32.77	13.44	0.00497875	
	19.3	33.48	14.18	0.00298098	
DS71	21.66	32.75	11.09	0.02538289	0.02743428
	21.59	32.5	10.91	0.02875586	
	21.64	32.58	10.94	0.02816408	
DS72	20.83	32.4	11.57	0.01819896	0.0167851
	20.88	32.57	11.69	0.01674646	
	20.95	32.76	11.81	0.01540989	
DS73	20.09	31	10.91	0.02875586	0.0321474
	20.38	31.06	10.68	0.03372588	
	20.56	31.23	10.67	0.03396046	
DS74	22.53	31.38	8.85	0.11990801	0.14334036

RNA 抑制剂	CT 值		APOC3-GAPDH	相对表达水平	
	GAPDH	APOC3		$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
	22.51	31.04		0.14968484	
DS75	22.47	30.9	8.43	0.16042824	
	21.4	31.59	10.19	0.04736614	
	21.47	32.06	10.59	0.03589682	0.04188562
	21.38	31.73	10.35	0.04239389	
DS76	24.82	30.54	5.72	1.04971668	1.0337533
	24.76	30.75	5.99	0.87055056	
	24.82	30.37	5.55	1.18099266	
DS77	24.95	34.52	9.57	0.07279585	0.09858007
	25.11	34.52	9.41	0.08133387	
	25.09	33.7	8.61	0.14161049	
DS78	27.42	36.86	9.44	0.07966004	0.08846432
	27.47	36.4	8.93	0.11343989	
	27.42	37	9.58	0.07229301	
DS79	23.29	34.53	11.24	0.02287634	0.04030962
	23.19	33.71	10.52	0.03768149	
	23.14	32.98	9.84	0.06037102	
DS80	26.25	36.44	10.19	0.13869618	0.17461278
	26.18	35.8	9.62	0.20589775	
	26.07	35.89	9.82	0.17924441	
DS81	23.34	33.68	10.34	0.125	0.1427191
	23.46	33.73	10.27	0.13121459	
	23.35	33.23	9.88	0.17194273	
DS82	26.77	38.02	11.25	0.06652314	0.05729203
	26.77	38.12	11.35	0.06206828	
	26.65	38.52	11.87	0.04328467	
DS83	25.69	37.66	11.97	0.04038603	0.04889128
	25.73	37.36	11.63	0.05111888	
	25.81	37.33	11.52	0.05516894	
DS84	25.01	33.7	8.69	0.39229205	0.36010911
	24.87	33.79	8.92	0.33448189	
	24.81	33.65	8.84	0.35355339	
DS85	24.79	34.31	9.52	0.22067429	0.20805055
	24.79	34.4	9.61	0.20732989	
	24.71	34.4	9.69	0.19614602	
DS86	26.21	36.31	10.1	0.14762408	0.1700243
	26.25	35.93	9.68	0.19751033	
	26.21	36.15	9.94	0.16493849	
DS87	23.5	34.78	11.28	0.06515411	0.06397548
	23.54	34.83	11.29	0.06470406	
	23.78	35.13	11.35	0.06206828	
DS88	27.83	33.68	5.85	2.80888975	2.69058589
	27.33	33.41	6.08	2.39495741	
	27.72	33.54	5.82	2.8679105	
DS89	28.04	37.2	9.16	0.28322097	0.42813277
	28.01	36.42	8.41	0.476319	
	28.04	36.31	8.27	0.52485834	
DS90	24.08	33.39	9.31	0.25525303	0.23639568

RNA 抑制剂	CT 值		APOC3-GAPDH	相对表达水平	
	GAPDH	APOC3		$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
DS91	24.09	33.53	9.44	0.23325825	0.16009295
	24.13	33.65	9.52	0.22067429	
	26.34	36.75	10.41	0.11907975	
	26.49	36.25	9.76	0.18685616	
	26.51	36.37	9.86	0.17434296	
DS92	23.55	34.18	10.63	0.10223776	0.09572549
	23.45	34.52	11.07	0.07536299	
	23.35	33.88	10.53	0.10942972	
DS93	28.25	38.07	9.82	0.17924441	0.18518687
	28.36	39.4	11.04	0.07694653	
	28.26	37.34	9.08	0.29936968	
DS94	24.52	35.54	11.02	0.0476956	0.06091932
	24.57	35.16	10.59	0.06425711	
	24.41	34.86	10.45	0.07080524	
DS95	21.05	33.27	12.22	0.02076072	0.01817949
	21.01	33.45	12.44	0.01782443	
	21.04	33.64	12.6	0.01595331	
DS96	26.81	38.08	11.27	0.04010706	0.06210346
	26.9	37.36	10.46	0.07031616	
	26.82	37.17	10.35	0.07588718	
DS97	25.26	35.26	10	0.09672281	0.10383615
	25.33	35.51	10.18	0.08537752	
	25.6	35.18	9.58	0.12940812	
DS98	27.65	37.03	9.38	0.14865089	0.16856626
	27.66	36.89	9.23	0.16493849	
	27.57	36.58	9.01	0.1921094	
DS99	30.82	38.29	7.47	0.55864357	1.5028866
	30.65	37.37	6.72	0.93952275	
	30.81	35.85	5.04	3.01049349	
DS100	24.46	34.53	10.07	0.09214183	0.09505216
	24.43	34.58	10.15	0.08717148	
	24.58	34.45	9.87	0.10584316	
DS101	24.97	34.69	9.72	0.11744034	0.10968828
	25.01	35	9.99	0.09739557	
	25.15	34.91	9.76	0.11422893	
DS102	26.75	37.24	10.49	0.06886907	0.08281502
	26.52	36.08	9.56	0.13121459	
	26.42	37.42	11	0.04836141	

所得试验结果显示,由表 6 中 RNA 抑制剂,在不同浓度下对 HepG2 细胞中 APOC3 mRNA 表达水平呈现出不同程度的抑制效果,其中 DS52-58、DS60、DS62-64、DS66-75、DS77-87 和 DS90-98 以及 DS100-102 对 HepG2 细胞中 APOC3 mRNA 表达水平的抑制效果显著。

实施例 2-2 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因表达试验 2

本实施例的 RNA 抑制剂的序列选自表 5,由实施例 1 所述方法制备得到。将 RNA 抑制剂接种 HepG2 细胞到 96 孔细胞板,铺板同时将 siRNA 化合物用转染试剂转染进入细胞,siRNA 测试浓度点为 1 nM 和 0.1nM,在 37 °C,5% CO₂ 培养箱中过夜培养,平行测定 3 复孔。同时设置对照组。

qPCR 检测靶标基因 mRNA 表达水平:转染 48h 后,提取 RNA,靶标 cDNA 将通过 qPCR 进行检测,同时检测 GAPDH cDNA 作为内部对照进行平行检测。在 384 孔中加入 8 μ L 配置好的 qPCR 反应液和 2 μ L 样本 cDNA。qPCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 加热 10 min, 然后进入循环模式, 95 $^{\circ}$ C 加热 15 sec, 随后 60 $^{\circ}$ C 1 min, 共 40 个循环。与未干预的 HepG 2 细胞上清对比, 标定样品干预组的 APOC3 mRNA 的相对表达水平, 三次测验取 APOC3 相对表达水平平均值。1 nM 和 0.1nM 所得试验结果见下表 24 和表 25。

表 24 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因效果 (1nM)

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS69	0.44	0.01
Ky-12-DS70	0.58	0.01
Ky-12-DS71	0.75	0.01
Ky-12-DS72	0.67	0.01
Ky-12-DS73	0.78	0.04
Ky-12-DS74	0.50	0.04
Ky-12-DS75	0.64	0.02
Ky-12-DS76	0.76	0.02
Ky-12-DS77	0.88	0.01
Ky-12-DS78	0.79	0.02
Ky-12-DS79	0.67	0.01
Ky-12-DS80	0.45	0.07
Ky-12-DS81	0.39	0.04
Ky-12-DS82	0.59	0.01
Ky-12-DS83	0.68	0.03
Ky-12-DS84	0.70	0.01
Ky-12-DS85	0.90	0.09
Ky-12-DS86	0.51	0.07
Ky-12-DS87	0.53	0.05
Ky-12-DS88	0.77	0.09
Ky-12-DS89	0.51	0.05
Ky-12-DS90	0.83	0.03
Ky-12-DS91	0.84	0.08
Ky-12-DS92	0.86	0.07
Ky-12-DS93	0.87	0.06
Ky-12-DS94	0.89	0.06
Ky-12-DS95	0.75	0.08
Ky-12-DS96	0.65	0.03
Ky-12-DS97	0.84	0.05
Ky-12-DS98	0.88	0.08
Ky-12-DS99	0.78	0.10
Ky-12-DS100	0.77	0.02
Ky-12-DS101	0.75	0.02
Ky-12-DS102	0.82	0.09
Ky-12-DS103	0.90	0.09
Ky-12-DS104	0.59	0.04

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS105	0.56	0.04
Ky-12-DS106	0.64	0.09
Ky-12-DS107	0.58	0.10
Ky-12-DS108	0.49	0.02
Ky-12-DS109	0.94	0.07
Ky-12-DS110	0.59	0.09
Ky-12-DS111	0.37	0.05
Ky-12-DS112	0.89	0.01
Ky-12-DS113	0.69	0.01
Ky-12-DS114	0.67	0.10
Ky-12-DS115	0.65	0.02
Ky-12-DS116	0.90	0.06
Ky-12-DS117	0.94	0.04
Ky-12-DS118	0.55	0.05
Ky-12-DS119	0.59	0.04
Ky-12-DS120	0.62	0.02
Ky-12-DS121	0.96	0.01
Ky-12-DS122	0.94	0.07
Ky-12-DS123	0.77	0.06
Ky-12-DS124	0.71	0.06
Ky-12-DS125	0.80	0.03
Ky-12-DS126	0.52	0.06
Ky-12-DS127	0.94	0.03
Ky-12-DS128	0.67	0.04
Ky-12-DS129	0.52	0.08
Ky-12-DS130	0.74	0.06
Ky-12-DS131	0.92	0.02
Ky-12-DS132	0.51	0.02
Ky-12-DS133	0.23	0.09
Ky-12-DS134	0.50	0.01
Ky-12-DS135	0.78	0.09
Ky-12-DS136	0.73	0.10
Ky-12-DS137	0.62	0.09
Ky-12-DS138	0.53	0.01
Ky-12-DS139	0.85	0.04
Ky-12-DS140	0.80	0.09
Ky-12-DS141	0.34	0.02
Ky-12-DS142	0.80	0.03
Ky-12-DS143	0.66	0.03
Ky-12-DS144	0.98	0.09
Ky-12-DS145	1.00	0.04
Ky-12-DS146	0.86	0.08
Ky-12-DS147	0.95	0.07

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS148	0.70	0.07
Ky-12-DS149	0.53	0.02
Ky-12-DS150	0.70	0.06
Ky-12-DS151	0.97	0.03
Ky-12-DS152	0.85	0.09
Ky-12-DS153	0.65	0.05
Ky-12-DS154	0.94	0.01
Ky-12-DS155	0.97	0.08
Ky-12-DS156	0.47	0.03
Ky-12-DS157	0.56	0.02
Ky-12-DS158	0.61	0.02
Ky-12-DS159	0.56	0.02
Ky-12-DS160	0.83	0.10
Ky-12-DS161	0.93	0.06
Ky-12-DS162	0.78	0.04
Ky-12-DS163	0.30	0.01
Ky-12-DS164	0.23	0.05
Ky-12-DS165	0.55	0.11
Ky-12-DS166	0.48	0.02
Ky-12-DS167	0.54	0.07
Ky-12-DS168	0.79	0.07
Ky-12-DS169	0.78	0.03
Ky-12-DS170	0.41	0.08
Ky-12-DS171	0.46	0.05
Ky-12-DS172	0.76	0.02
Ky-12-DS173	0.60	0.08
Ky-12-DS174	0.49	0.03
Ky-12-DS175	0.97	0.06
Ky-12-DS176	0.29	0.05
Ky-12-DS177	0.83	0.07
Ky-12-DS178	0.60	0.02
Ky-12-DS179	0.40	0.02
Ky-12-DS180	0.34	0.06
Ky-12-DS181	0.54	0.06
Ky-12-DS182	0.62	0.07
Ky-12-DS183	0.60	0.02
Ky-12-DS184	0.45	0.04
Ky-12-DS185	0.69	0.02
Ky-12-DS186	0.46	0.03
Ky-12-DS187	0.51	0.01
Ky-12-DS188	0.51	0.04
Ky-12-DS189	0.42	0.09
Ky-12-DS190	0.57	0.12

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS191	0.41	0.08
Ky-12-DS192	0.61	0.06
Ky-12-DS193	0.53	0.02
Ky-12-DS194	0.67	0.09
Ky-12-DS195	0.46	0.04
Ky-12-DS196	0.47	0.05
Ky-12-DS197	0.41	0.05
Ky-12-DS198	0.52	0.03
Ky-12-DS199	0.45	0.07
Ky-12-DS200	0.95	0.08
Ky-12-DS201	0.56	0.02
Ky-12-DS202	0.50	0.08
Ky-12-DS203	0.61	0.07
Ky-12-DS204	0.94	0.07
Ky-12-DS205	1.00	0.08
Ky-12-DS206	0.96	0.03
Ky-12-DS207	0.96	0.10
Ky-12-DS208	0.51	0.03
Ky-12-DS209	0.72	0.09
Ky-12-DS210	0.84	0.02
Ky-12-DS211	0.76	0.02
Ky-12-DS212	0.97	0.02
Ky-12-DS213	0.89	0.01
Ky-12-DS214	0.52	0.09
Ky-12-DS215	0.60	0.10
Ky-12-DS216	0.50	0.03
Ky-12-DS217	0.94	0.05
Ky-12-DS218	0.57	0.05
Ky-12-DS219	0.54	0.04
Ky-12-DS220	0.68	0.05
Ky-12-DS221	0.68	0.01
Ky-12-DS222	0.70	0.09
Ky-12-DS223	0.58	0.03
Ky-12-DS224	0.68	0.09
Ky-12-DS225	0.80	0.09
Ky-12-DS226	0.83	0.06
Ky-12-DS227	0.57	0.11
Ky-12-DS228	0.75	0.11
Ky-12-DS229	1.00	0.07
Ky-12-DS230	0.16	0.04
Ky-12-DS231	0.46	0.06
Ky-12-DS232	0.70	0.07
Ky-12-DS233	0.94	0.06

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS234	0.63	0.02
Ky-12-DS235	0.94	0.07
Ky-12-DS236	0.66	0.03
Ky-12-DS237	0.86	0.08
Ky-12-DS238	0.52	0.01
Ky-12-DS239	0.66	0.02
Ky-12-DS240	0.80	0.01
Ky-12-DS241	0.23	0.01
Ky-12-DS242	0.47	0.02
Ky-12-DS243	0.95	0.05
Ky-12-DS244	0.98	0.04
Ky-12-DS245	0.95	0.11
Ky-12-DS246	0.32	0.03
Ky-12-DS247	0.29	0.07
Ky-12-DS248	0.36	0.08
Ky-12-DS249	0.59	0.05
Ky-12-DS250	0.14	0.11
Ky-12-DS251	0.35	0.03
Ky-12-DS252	0.77	0.05
Ky-12-DS253	0.39	0.06
Ky-12-DS254	0.12	0.02
Ky-12-DS255	0.49	0.11
Ky-12-DS256	0.20	0.07
Ky-12-DS257	0.67	0.02
Ky-12-DS258	0.53	0.04
Ky-12-DS259	0.42	0.03
Ky-12-DS260	0.51	0.10
Ky-12-DS261	0.43	0.02
Ky-12-DS262	0.52	0.07
Ky-12-DS263	0.53	0.09
Ky-12-DS264	0.94	0.09
Ky-12-DS265	0.85	0.07
Ky-12-DS266	0.73	0.03
Ky-12-DS267	0.47	0.06
Ky-12-DS268	0.63	0.03
Ky-12-DS269	0.34	0.05
Ky-12-DS270	0.52	0.10
Ky-12-DS271	0.69	0.06
Ky-12-DS272	0.63	0.07
Ky-12-DS273	0.91	0.03
Ky-12-DS274	0.89	0.03
Ky-12-DS275	0.79	0.05
Ky-12-DS276	0.66	0.10

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS277	0.88	0.09
Ky-12-DS278	0.64	0.04
Ky-12-DS279	0.78	0.04
Ky-12-DS280	0.67	0.08
Ky-12-DS281	0.47	0.07
Ky-12-DS282	0.79	0.03
Ky-12-DS283	0.57	0.03
Ky-12-DS284	0.76	0.09
Ky-12-DS285	0.45	0.04
Ky-12-DS286	0.78	0.02
Ky-12-DS287	0.76	0.04
Ky-12-DS288	0.48	0.06
Ky-12-DS289	0.78	0.03
Ky-12-DS290	0.58	0.05
Ky-12-DS291	0.63	0.02
Ky-12-DS292	0.98	0.04
Ky-12-DS293	0.82	0.09
Ky-12-DS294	0.90	0.05
Ky-12-DS295	0.82	0.05
Ky-12-DS296	0.46	0.11
Ky-12-DS297	0.19	0.05
Ky-12-DS298	0.14	0.07
Ky-12-DS299	0.58	0.05
Ky-12-DS300	0.50	0.08
Ky-12-DS301	0.98	0.05
Ky-12-DS302	0.25	0.05
Ky-12-DS303	0.94	0.08
Ky-12-DS304	0.59	0.08
Ky-12-DS305	0.58	0.01
Ky-12-DS306	0.62	0.05
Ky-12-DS307	0.95	0.02
Ky-12-DS308	0.89	0.02
Ky-12-DS309	0.79	0.04
Ky-12-DS310	0.48	0.08
Ky-12-DS311	0.90	0.02
Ky-12-DS312	0.55	0.10
Ky-12-DS313	0.36	0.05
Ky-12-DS314	0.40	0.04
Ky-12-DS315	0.37	0.04
Ky-12-DS316	0.45	0.02
Ky-12-DS317	0.10	0.05
Ky-12-DS318	0.44	0.01
Ky-12-DS319	0.53	0.10

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS320	0.56	0.04
Ky-12-DS321	0.53	0.02
Ky-12-DS322	0.70	0.02
Ky-12-DS323	0.66	0.03
Ky-12-DS324	0.66	0.06
Ky-12-DS325	0.73	0.02
Ky-12-DS326	0.78	0.09
Ky-12-DS327	0.54	0.05
Ky-12-DS328	0.50	0.01
Ky-12-DS329	0.41	0.06
Ky-12-DS330	0.12	0.02

表 25 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因效果 (0.1nM)

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS74	0.91	0.05
Ky-12-DS80	0.76	0.01
Ky-12-DS81	0.70	0.05
Ky-12-DS86	0.93	0.07
Ky-12-DS89	0.89	0.06
Ky-12-DS107	0.85	0.01
Ky-12-DS108	0.81	0.03
Ky-12-DS111	0.81	0.02
Ky-12-DS118	0.80	0.07
Ky-12-DS119	0.97	0.02
Ky-12-DS126	0.79	0.08
Ky-12-DS132	0.96	0.07
Ky-12-DS133	0.70	0.01
Ky-12-DS134	0.90	0.05
Ky-12-DS141	0.65	0.09
Ky-12-DS156	0.97	0.06
Ky-12-DS157	0.96	0.07
Ky-12-DS163	0.75	0.11
Ky-12-DS164	0.97	0.01
Ky-12-DS166	0.95	0.01
Ky-12-DS167	0.87	0.10
Ky-12-DS170	0.80	0.06
Ky-12-DS171	0.79	0.10
Ky-12-DS174	0.91	0.09
Ky-12-DS176	0.96	0.09
Ky-12-DS179	0.89	0.03
Ky-12-DS180	0.89	0.04

RNA 抑制剂	相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ 均值)	SD
Ky-12-DS184	0.76	0.08
Ky-12-DS185	0.95	0.07
Ky-12-DS186	0.95	0.06
Ky-12-DS187	0.53	0.08
Ky-12-DS188	0.61	0.06
Ky-12-DS189	0.73	0.05
Ky-12-DS190	0.96	0.05
Ky-12-DS192	0.83	0.04
Ky-12-DS195	1.16	0.08
Ky-12-DS196	0.74	0.03
Ky-12-DS197	0.51	0.04
Ky-12-DS199	0.96	0.09
Ky-12-DS201	0.73	0.07
Ky-12-DS202	0.68	0.02
Ky-12-DS216	0.60	0.07
Ky-12-DS223	0.97	0.03
Ky-12-DS230	0.33	0.05
Ky-12-DS231	0.90	0.06
Ky-12-DS241	0.44	0.02
Ky-12-DS242	0.53	0.08
Ky-12-DS246	0.52	0.03
Ky-12-DS247	0.32	0.10
Ky-12-DS248	0.55	0.04
Ky-12-DS250	0.31	0.06
Ky-12-DS251	0.66	0.05
Ky-12-DS253	0.36	0.01
Ky-12-DS254	0.25	0.02
Ky-12-DS255	0.55	0.09
Ky-12-DS256	0.53	0.04
Ky-12-DS259	0.56	0.05
Ky-12-DS261	0.87	0.08
Ky-12-DS267	0.64	0.09
Ky-12-DS269	0.78	0.04
Ky-12-DS284	0.76	0.02
Ky-12-DS285	0.88	0.02
Ky-12-DS286	1.23	0.07
Ky-12-DS287	0.88	0.08
Ky-12-DS288	0.92	0.03
Ky-12-DS289	0.89	0.07
Ky-12-DS290	0.69	0.03
Ky-12-DS291	0.72	0.01

RNA 抑制剂	相对表达水平 (2 ^{-ΔΔCt} 均值)	SD
Ky-12-DS292	0.86	0.07
Ky-12-DS293	0.83	0.07
Ky-12-DS294	0.59	0.03
Ky-12-DS295	0.91	0.10
Ky-12-DS296	0.76	0.04
Ky-12-DS297	0.29	0.07
Ky-12-DS298	0.28	0.05
Ky-12-DS299	0.69	0.09
Ky-12-DS300	0.96	0.02
Ky-12-DS301	0.86	0.09
Ky-12-DS302	0.95	0.03
Ky-12-DS303	0.87	0.01
Ky-12-DS304	0.85	0.09
Ky-12-DS305	0.97	0.00
Ky-12-DS306	0.60	0.03
Ky-12-DS307	0.83	0.05
Ky-12-DS308	0.57	0.02
Ky-12-DS309	0.80	0.05
Ky-12-DS310	0.76	0.07
Ky-12-DS313	0.49	0.05
Ky-12-DS314	0.50	0.05
Ky-12-DS315	0.50	0.04
Ky-12-DS316	0.55	0.04
Ky-12-DS317	0.26	0.04
Ky-12-DS318	0.56	0.03
Ky-12-DS319	0.59	0.09
Ky-12-DS320	0.62	0.06
Ky-12-DS321	0.62	0.05
Ky-12-DS322	0.62	0.06
Ky-12-DS323	0.66	0.03
Ky-12-DS324	0.69	0.17
Ky-12-DS325	0.74	0.06
Ky-12-DS326	0.78	0.02
Ky-12-DS327	0.79	0.03
Ky-12-DS328	0.83	0.07
Ky-12-DS329	0.84	0.03
Ky-12-DS330	0.31	0.02

优选出 RNA 抑制剂 Ky-12-DS230、Ky-12-DS250、Ky-12-DS254、Ky-12-DS297、Ky-12-DS298、Ky-12-DS317、Ky-12-DS330 作 EC₅₀ 值研究，实验结果如表 26。

表 26 EC₅₀ 值

RNA 抑制剂	HepG 2 细胞	Huh-7 细胞
	EC ₅₀ (nM)	EC ₅₀ (nM)
Ky-12-DS230	0.052	0.005
Ky-12-DS250	0.020	0.003
Ky-12-DS254	0.034	0.020
Ky-12-DS297	0.020	0.002
Ky-12-DS298	0.027	0.003
Ky-12-DS317	0.022	0.001
Ky-12-DS330	0.093	0.005

实施例 3 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因表达试验 2

本实施例的序列选自表 8。正义链和反义链序列中进行糖基 2'位甲氧基化或氟代修饰，正义链和反义链修饰后的序列分别见表 6-1 和表 7-1。选取表 6-1 和表 7-1 中对应的序列退火合成 RNA 抑制剂。

取按实施例 1 所述的方法制备得到的 RNA 抑制剂。将 RNA 抑制剂转染进入 HepG 2 细胞，考察 RNA 抑制剂在浓度 1.0 nM 下对细胞的干预效果，通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平。与未干预的 HepG 2 细胞上清对比，标定样品干预组的 APOC3 mRNA 相对表达水平。所得试验结果见表 27。

表 27 RNA 抑制剂干预后 HepG2 细胞中 APOC3 mRNA 的水平

RNA 抑制剂	GAPDH	APOC3	APOC3-GAPDH	2 ⁻ ΔΔCt	平均值
DS103	21.22	31.59	10.37	2.143547	1.818354
	21.18	31.57	10.39	2.114036	
	21.04	32.25	11.21	1.197479	
DS104	19.18	31.87	12.69	0.429283	0.43886
	19.32	31.61	12.29	0.566442	
	19.06	32.17	13.11	0.320856	
DS105	18.9	31.66	12.76	0.408951	0.366182
	18.79	32.01	13.22	0.297302	
	18.97	31.79	12.82	0.392292	
DS106	19.41	31.54	12.13	0.632878	0.590938
	19.56	32.16	12.6	0.456916	
	19.52	31.54	12.02	0.68302	
DS107	18.45	30.72	12.27	0.574349	0.442755
	18.38	31.08	12.7	0.426317	
	18.21	31.29	13.08	0.327598	
DS108	18.52	31.21	12.69	0.429283	0.426716
	18.78	31.23	12.45	0.50698	
	19.04	32.05	13.01	0.343885	
DS109	18.75	31.11	12.36	0.539614	0.416712
	18.26	31.15	12.89	0.373712	
	18.41	31.45	13.04	0.336808	
DS110	17.62	30.25	12.63	0.447513	0.549706
	17.25	30.04	12.79	0.400535	
	18.26	30.05	11.79	0.80107	
DS111	17.27	29.9	12.63	0.447513	0.407824
	17.18	29.8	12.62	0.450625	
	17.05	30.14	13.09	0.325335	

RNA 抑制剂	GAPDH	APOC3	APOC3-GAPDH	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
DS112	18.87	31.26	12.39	0.528509	0.768558
	19.26	30.79	11.53	0.959264	
	19.32	31.08	11.76	0.817902	
	18.17	29.64	11.47	1	
	18.23	29.97	11.74	0.82932	
DS113	18.66	31.06	12.4	0.479632	0.468569
	18.51	30.72	12.21	0.547147	
	18.49	31.23	12.74	0.378929	
DS114	18.51	31.38	12.87	0.346277	0.302763
	18.67	31.45	12.78	0.368567	
	18.23	31.94	13.71	0.193446	
DS115	18.66	30.83	12.17	0.562529	0.576077
	18.61	30.92	12.31	0.510506	
	18.58	30.53	11.95	0.655197	
DS116	18.65	29.42	10.77	1.484524	1.295607
	18.43	29.68	11.25	1.06437	
	18.4	29.32	10.92	1.337928	
DS117	18.53	29.42	10.89	1.36604	1.028067
	18.37	29.98	11.61	0.82932	
	18.39	29.9	11.51	0.888843	
DS118	17.97	30.68	12.71	0.386891	0.4461
	18.05	30.67	12.62	0.411796	
	18.56	30.79	12.23	0.539614	
DS119	19.55	31.09	11.54	0.870551	0.587075
	18.72	30.97	12.25	0.532185	
	18.8	31.62	12.82	0.358489	
DS120	18.44	30.79	12.35	0.496546	0.592164
	18.31	30.8	12.49	0.450625	
	18.75	30.36	11.61	0.82932	
DS122	18.38	31.36	12.98	0.320856	0.229129
	18.15	31.5	13.35	0.248273	
	17.78	32.2	14.42	0.118257	
DS123	20.19	31.08	10.89	1.36604	1.335014
	20.3	31.08	10.78	1.474269	
	20.44	31.56	11.12	1.164734	
DS124	18.65	30.81	12.16	0.429283	0.436352
	18.71	30.55	11.84	0.535887	
	18.58	31.06	12.48	0.343885	
DS125	19.39	30.01	10.62	1.248331	1.396799
	19.57	29.78	10.21	1.658639	
	19.32	29.9	10.58	1.283426	
DS126	20.26	31.57	11.31	0.773782	0.712237
	20.21	31.5	11.29	0.784584	
	20.33	32.06	11.73	0.578344	
DS127	18.05	31.16	13.11	0.222211	0.262199
	18.32	30.74	12.42	0.358489	
	18.02	31.24	13.22	0.205898	
DS128	19.98	31.35	11.37	0.742262	0.708325

RNA 抑制剂	GAPDH	APOC3	APOC3-GAPDH	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
DS129	19.77	31.16	11.39	0.732043	0.600899
	19.74	31.3	11.56	0.650671	
	19.37	31.2	11.83	0.539614	
	19.58	31.11	11.53	0.664343	
	19.84	31.52	11.68	0.598739	
DS130	19.92	31.12	11.2	0.835088	0.582446
	19.18	31.17	11.99	0.482968	
	19.35	31.51	12.16	0.429283	
DS131	18.78	31.86	13.08	0.22688	0.346228
	18.72	31.25	12.53	0.332171	
	19.15	31.15	12	0.479632	
DS132	18.93	32.21	13.28	0.19751	0.188774
	18.65	32.26	13.61	0.157127	
	18.65	31.83	13.18	0.211686	

优选出 RNA 抑制剂：DS104-105、DS107-109、DS111、DS113-114、DS118、DS122、DS124、DS127、DS131 和 DS132 作进一步的活性研究。

实施例 4 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因表达试验 3

本实施例的序列选自表 8。正义链和反义链序列中进行糖基 2'位甲氧基化或氟代修饰，正义链和反义链修饰后的序列分别见表 6-1 和表 7-1。表 6-1 和表 7-1 中对应的序列退火合成 RNA 抑制剂。考察 RNA 抑制剂在低浓度 0.1 nM 下对细胞中 APOC3 干预效果。取按实施例 1 所述的方法制备得到的 RNA 抑制剂。将 RNA 抑制剂转染进入 HepG 2 细胞，通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平。与未干预的 HepG 2 细胞上清对比，标定样品干预组的 APOC3 mRNA 相对表达量。所得试验结果见表 28。

表 28

RNA 抑制剂	GAPDH	APOC3	APOC3-GAPDH	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
DS104	15.88	30.31	14.43	0.939522749	1.043193741
	16.27	30.21	13.94	1.319507911	
	15.77	30.31	14.54	0.870550563	
DS105	15.64	30.4	14.76	0.747424624	0.675779913
	15.49	30.53	15.04	0.615572207	
	15.47	30.4	14.93	0.664342907	
DS107	15.2	30.42	15.22	0.543367431	0.607211557
	15.66	30.54	14.88	0.687770909	
	15.52	30.62	15.1	0.590496331	
DS108	15.3	31.36	16.06	0.303548721	0.269799651
	15.84	32.03	16.19	0.277392368	
	16.01	32.48	16.47	0.228457863	
DS109	15.81	30.86	15.05	0.611320139	0.617098626
	15.55	30.61	15.06	0.607097442	
	15.35	30.35	15	0.632878297	
DS111	14.62	29.75	15.13	0.578344092	0.656424156
	14.66	29.58	14.92	0.668963777	
	14.92	29.73	14.81	0.721964598	
DS113	15.3	30.77	15.47	0.456915725	0.521149998
	15.35	30.49	15.14	0.574349177	
	15.34	30.59	15.25	0.532185091	
DS114	14.99	31.04	16.05	0.305660069	0.304330291

RNA 抑制剂	GAPDH	APOC3	APOC3-GAPDH	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	平均值
	15.23	31.25	16.02	0.312082637	
	15.29	31.39	16.1	0.295248165	
	16.17	31.04	14.87	0.692554734	
DS118	15.84	31.07	15.23	0.539614118	0.823958851
	15.85	29.88	14.03	1.2397077	
	15.23	29.8	14.57	0.852634892	
DS122	15.35	30.6	15.25	0.532185091	0.770469348
	15.98	30.43	14.45	0.926588062	
	14.84	31.13	16.29	0.258816231	
DS124	14.95	31.05	16.1	0.295248165	0.280412995
	15.17	31.31	16.14	0.287174589	
	15.22	30.14	14.92	0.668963777	
DS127	15.81	30.51	14.7	0.77916458	0.71356103
	15.72	30.59	14.87	0.692554734	
	15.5	31.36	15.86	0.348685917	
DS131	15.37	30.94	15.57	0.426317446	0.35881844
	15.34	31.41	16.07	0.301451957	
	15.5	32.05	16.55	0.216134308	
DS132	15.48	31.92	16.44	0.233258248	0.242261641
	15.44	31.63	16.19	0.277392368	

结果：进一步优选出 DS107、DS108、DS113、DS114、DS124、DS131 和 DS132 进入下一步 EC₅₀ 检测。

实施例 5 RNA 抑制剂体外抑制 APOC3 基因表达试验

本实施例检测 DS107、DS108、DS113、DS114、DS124、DS131 和 DS132 的 EC₅₀ 值。

将 RNA 抑制剂转染进入 HepG 2 细胞,考察 RNA 抑制剂在浓度 10 nM、5 nM、2 nM、1 nM、0.5 nM、0.1 nM、0.05 nM 和 0.01 nM 下对细胞中 APOC3 基因干预效果,通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平,计算 EC₅₀,所得试验结果见表 29。

表 29 RNA 抑制剂 EC₅₀ 值

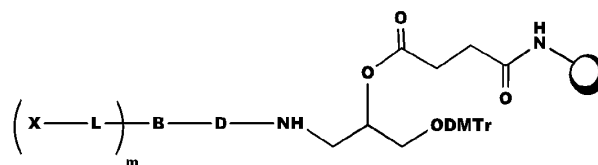
RNA 抑制剂	Absolute EC ₅₀ (nM)
DS107	0.035
DS108	<0.01
DS113	<0.01
DS114	0.029
DS124	0.042
DS131	0.018
DS132	0.019

优选出 DS107、DS108、DS113、DS114、DS124、DS131 和 DS132 进入下一步与 5'MVIP/3'MVIP 连接。

实施例 6 5'MVIP 和 3'MVIP 化合物的合成

当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 3'端偶联有载体结构 3'MVIP 时,3'MVIP 的 solid support 作为固相合成的起始单体。当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 5'端偶联有载体结构 5'MVIP 时,5'MVIP 亚磷酸胺单体作为固相合成的最后一个单体。

当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 3'端偶联有 3'MVIP 时,3'MVIP 的 solid support 作为固相合成的起始单体,3'MVIP 的 solid support 通式如下:



m 为 1-4 时,通式中接头 B 部分别支化 1 至 4 次,以获得对应的 3'MVIP 的 Solid Support。

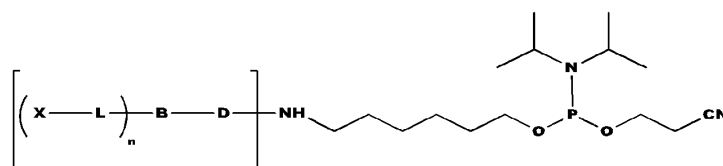
例如,当 m 为 1 时,所得的 Solid Support 作为 RNA 抑制剂

Kylo-12-DS134~Kylo-12-DS136、Kylo-12-DS142、Kylo-12-DS145、Kylo-12-DS146、Kylo-12-DS157、Kylo-12-DS158 的正义链和 Kylo-12-DS131~Kylo-12-DS133、Kylo-12-DS139、Kylo-12-DS140、Kylo-12-DS149、Kylo-12-DS150 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中反义链固相合成的起始单体;

当 m 为 2 时,所得的 Solid Support 作为 RNA 抑制剂 Kylo-12-DS141、Kylo-12-DS143、Kylo-12-DS144、Kylo-12-DS154~Kylo-12-DS156、Kylo-12-DS166、Kylo-12-DS169、Kylo-12-DS170 的正义链和 Kylo-12-DS1081、Kylo-12-DS137、Kylo-12-DS138、Kylo-12-DS151~Kylo-12-DS153、Kylo-12-DS163、Kylo-12-DS164 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的反义链的固相合成起始单体;

当 m 为 3 时,所得的 Solid Support 作为 RNA 抑制剂 Kylo-12-DS159、Kylo-12-DS160、Kylo-12-DS165、Kylo-12-DS167、Kylo-12-DS168、Kylo-12-DS174、Kylo-12-DS175 的正义链和 Kylo-12-DS147、Kylo-12-DS148、Kylo-12-DS161、Kylo-12-DS162、Kylo-12-DS171、Kylo-12-DS172 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的反义链固相合成起始单体。

当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 5'端有 5'MVIP 时,5'MVIP 亚磷酰胺单体作为正义链或反义链固相合成的最后一个亚磷酰胺单体。5'MVIP 亚磷酰胺单体通式如下:



n 为 1-4 时,通式中接头 B 部分别支化 1 至 4 次,以获得对应的 5'MVIP 亚磷酰胺单体。

例如,当 n 为 1 时,所得的 5'MVIP 亚磷酰胺单体作为 RNA 抑制剂 Kylo-12-DS131~Kylo-12-DS134、Kylo-12-DS137、Kylo-12-DS138、Kylo-12-DS141、Kylo-12-DS147 和 Kylo-12-DS148 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的正义链和 Kylo-12-DS135、Kylo-12-DS136、Kylo-12-DS143、Kylo-12-DS144、Kylo-12-DS159、Kylo-12-DS160 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的反义链固相合成的最后一个单体;

当 n 等于 2 时,所得的 5'MVIP 亚磷酰胺单体作为 Kylo-12-DS1081、Kylo-12-DS139、Kylo-12-DS140、Kylo-12-DS142、Kylo-12-DS151~Kylo-12-DS154、Kylo-12-DS161、Kylo-12-DS162、Kylo-12-DS165 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的正义链和 Kylo-12-DS145、Kylo-12-DS146、Kylo-12-DS155、Kylo-12-DS156、Kylo-12-DS167、Kylo-12-DS168 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的反义链固相合成的最后一个单体。

当 n 等于 3 时,所得的带 3 个肝靶向特异性配体 X 的 5'MVIP 亚磷酰胺单体可作为 Kylo-12-DS149、Kylo-12-DS150、Kylo-12-DS163、Kylo-12-DS164、Kylo-12-DS166、Kylo-12-DS171~Kylo-12-DS173 及本发明所述的其他 RNA 抑制剂中的正义链和 Kylo-12-DS157、Kylo-12-DS158、Kylo-12-DS169、Kylo-12-DS170、Kylo-12-DS174、Kylo-12-DS175 及本说明书提及的其他 RNA 抑制剂中的反义链固相合成的最后一个单体。

以上仅示例性列举出一些 RNA 抑制剂,本发明中所述的但未列举出来的 RNA 抑制剂都适用于这个规则,即当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 3'端偶联有载体结构 3'MVIP 时,

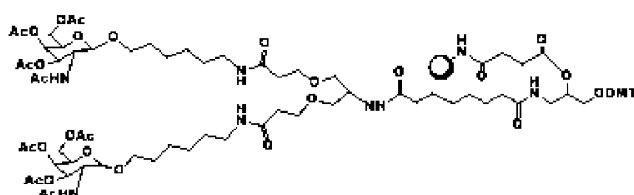
3'MVIP 的 solid support 作为固相合成的起始单体。当本申请的 RNA 抑制剂的正义链或反义链的 5'端偶联有载体结构 5'MVIP 时, 5'MVIP 亚磷酸胺单体作为固相合成的最后一个单体。

所述的这些 RNA 抑制剂的正义链和反义链在进行亚磷酸胺固相合成之前, 需要先化学合成相应的 3'MVIP Solid Support 和 5'MVIP 亚磷酸胺单体。

本实施例仅示例性提供了本发明所述的 RNA 抑制剂的几种 3'MVIP Solid Support 和 5'MVIP 亚磷酸胺单体化学合成过程, 本领域技术人员可以容易的合成没有列举出来的其他的 3'MVIP Solid Support 和 5'MVIP 亚磷酸胺单体, 合成工艺过程描述如下:

4.1 3'MVIP 的 Solid Support 的合成

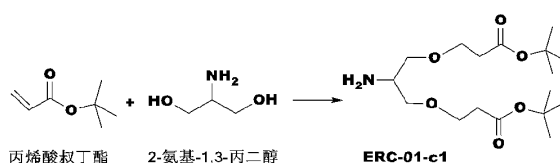
4.1.1 3'MVIP09 的 Solid Support 的合成



3'MVIP09 的 Solid Support

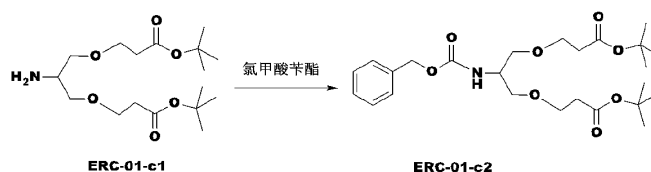
合成过程描述:

4.1.1.1 ERC-01-c1 的合成



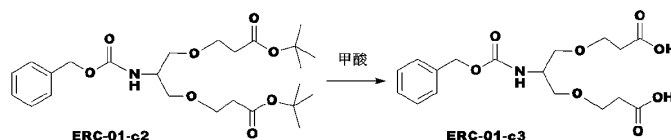
称取 2-氨基-1,3-丙二醇(5.0g, 54.9mmol)加入 DMSO 50mL, 氢氧化钠溶液(1g/mL)5mL, 降温到 0°C, 滴加丙烯酸叔丁酯(20mL, 137.8mmol)2 小时加完, 室温反应 48h, 加石油醚(100mL), 饱和食盐水洗 2 次, 有机层干燥。过层析柱(洗脱液: 乙酸乙酯:石油醚=25%-75%), 上柱加 0.05% 的三乙胺, 得无色油状物 6.2g。

4.1.1.2 ERC-01-c2 的合成



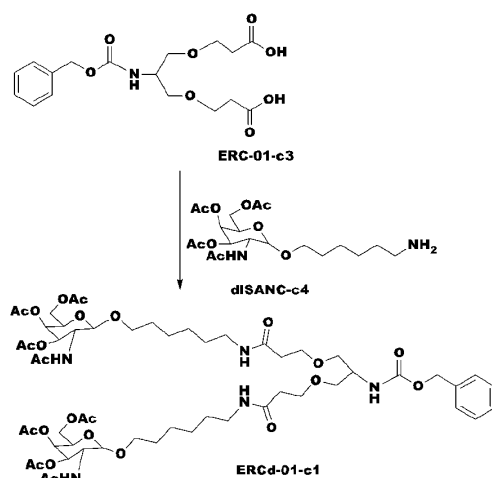
称取 ERC-01-c1(6.2g, 17.9mmol), 加二氯甲烷 50mL, 碳酸钠溶液(25%)23mL, 室温滴加氯甲酸苄酯(8.2mL, 57.4mmol), 2 小时滴加完, 室温反应过夜, 饱和食盐水洗涤 3 次, 无水硫酸钠干燥, 蒸干溶剂, 过层析柱(乙酸乙酯:石油醚=5%-30%)得油状物 4.0g。

4.1.1.3 ERC-01-c3 的合成



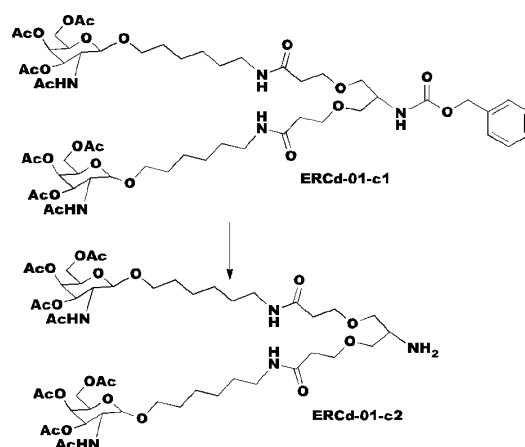
取 ERC-01-c2(4.0g, 8.3mmol)加甲酸 12mL, 室温反应过夜, 减压蒸干溶剂, 得产品 2.8g。

4.1.1.4 ERCd-01-c1 的合成



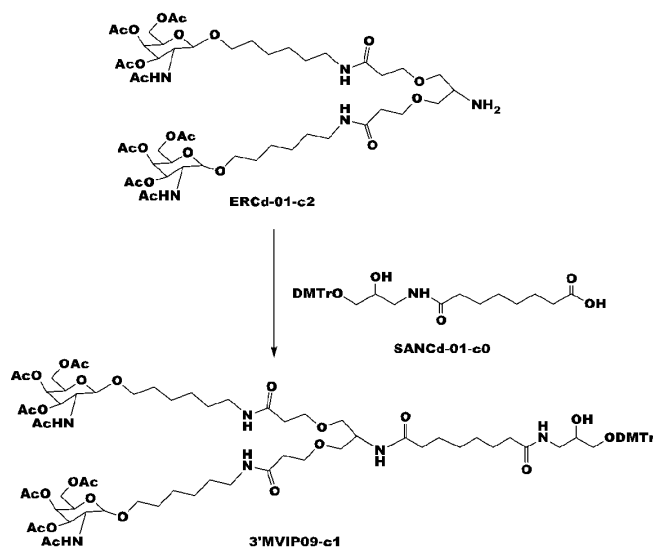
将化合物 ERC-01-c3(1.11g, 3.0mmol)和 dISANC-c4(3.6g, 8.04mmol)加到 DMF(60 mL)中, 然后加入 HOBt(2.24g)和 HBTU(3.36g), 然后缓慢加入 DIEA(4.16mL)。反应液室温下搅拌反应 3 小时。然后加入水, 水层用二氯甲烷萃取(2x10mL)。合并有机层, 然后依次用饱和碳酸氢钠(80 mL)、水(2x60 mL)、饱和食盐水(60mL)洗。用无水硫酸钠干燥, 减压蒸干, 用硅胶柱层析纯化(洗脱液: 3-15 % MeOH in DCM)。得淡黄色固 3.24g。

4.1.1.5 ERCd-01-c2 的合成



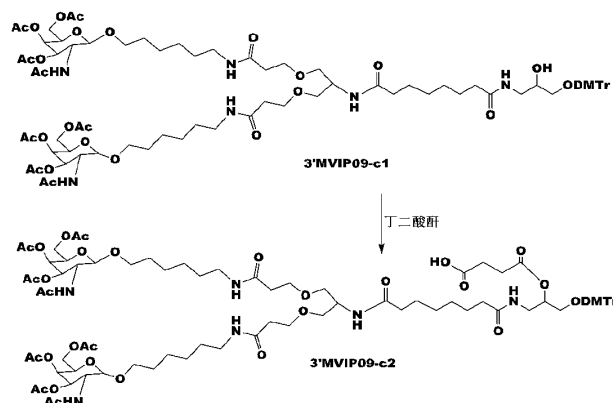
ERCd-01-c1(3.24g, 2.6mmol)用甲醇(60mL)溶解, 加入 10%钯碳(0.3g), 乙酸(2.0mL)。然后常压下加氢, 反应过夜。反应液用硅藻土过滤, 滤液减压蒸干, 得油状物 ERCd-01-c2 2.9g。

4.1.1.6 3'MVIP09-c1 的合成



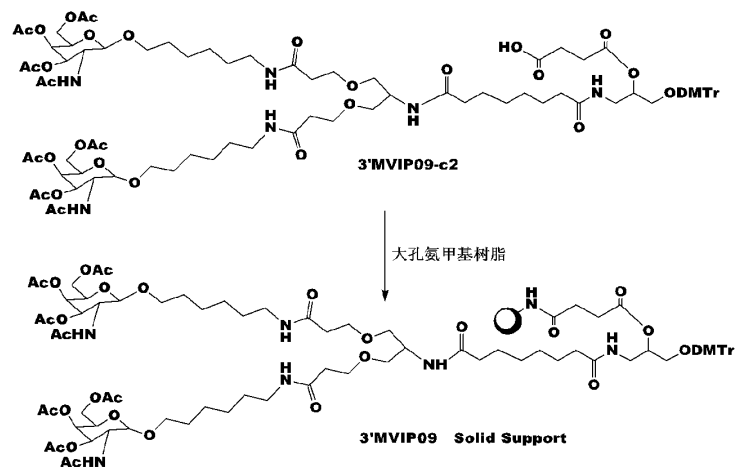
向反应瓶内依次加入 SANCd-01-c0(0.824g, 1.5mmol)和 ERCd-01-c2(1.09g, 1.0mmol), 再加入 10mL 的 DCM, 搅拌溶解, 再依次加入 TBTU(0.963g)和 DIPEA(0.517g), 反应过夜, 加水, 用 DCM 萃取, 有机相再用饱和食盐水洗涤, 干燥、过滤、浓缩, 最后过硅胶柱进行纯化, 得产品 1.3g。

4.1.1.7 3'MVIP09-c2 的合成



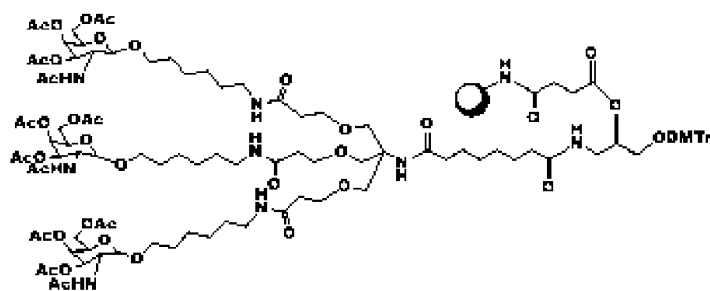
向反应瓶内依次加入 3'MVIP09-c1(1.62g, 1 μ mol)和 10mL 的 DCM, 室温搅拌溶解, 再依次加入 DMAP(0.366g)和丁二酸酐(0.2g, 3 μ mol), 室温搅拌反应, TLC 分析, 反应合格浓缩掉 DCM, 加水, 用 DCM 萃取, 有机相再用饱和食盐水洗涤, 有机相经无水硫酸钠干燥、过滤、浓缩, 最后过硅胶柱进行纯化, 得到产品为 1.55g。

4.1.1.8 3'MVIP09 的 Solid Support 合成



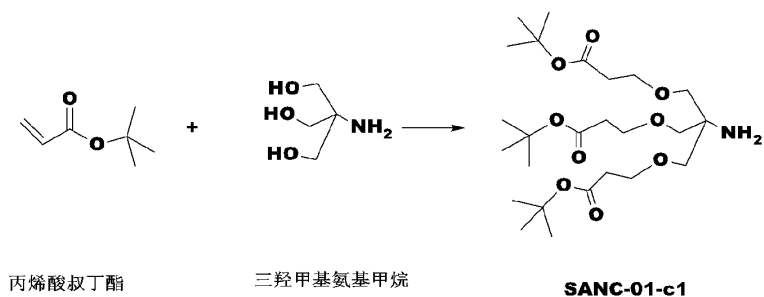
向反应瓶内依次加入 3'MVIP09-c2(0.86g, 0.5 μ mol)和 10mL DMF, 溶解, 再依次加入 HBTU(0.19g)、DIPEA(0.194g)和大孔氨基树脂(2.0g), 摇床 24h, 过滤, 树脂用 10%甲醇/DCM 洗涤, 再用 25%醋酸/吡啶进行封端, 取代度 150 μ mol/g。

4.1.2 3'MVIP17 的 Solid Support 的合成



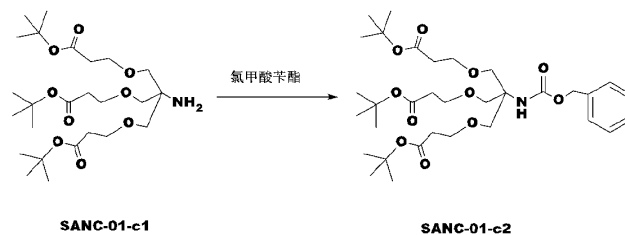
3'MVIP17 Solid Support

4.1.2.1 SANC-01-c1 的合成



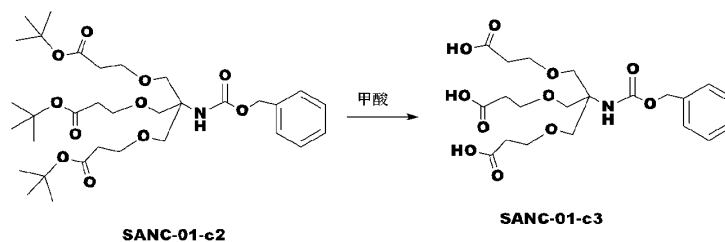
合成步骤参照 4.1.1.1. ERC-01-c1 的合成。

4.1.2.2 SANC-01-c2 的合成



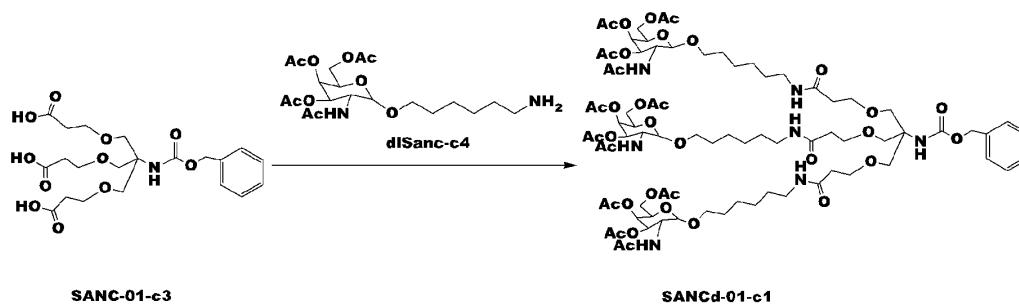
合成步骤参照 4.1.1.2. ERC-01-c2 的合成。

4.1.2.3 SANC-01-c3 的合成



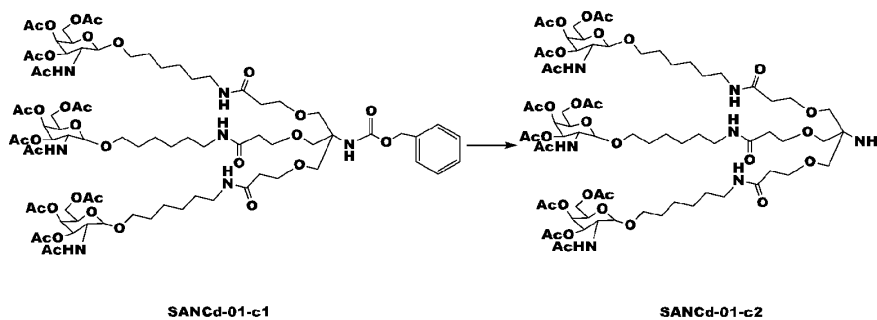
合成步骤参照 4.1.1.3. ERC-01-c3 的合成。

4.1.2.4 SANCd-01-c1 的合成



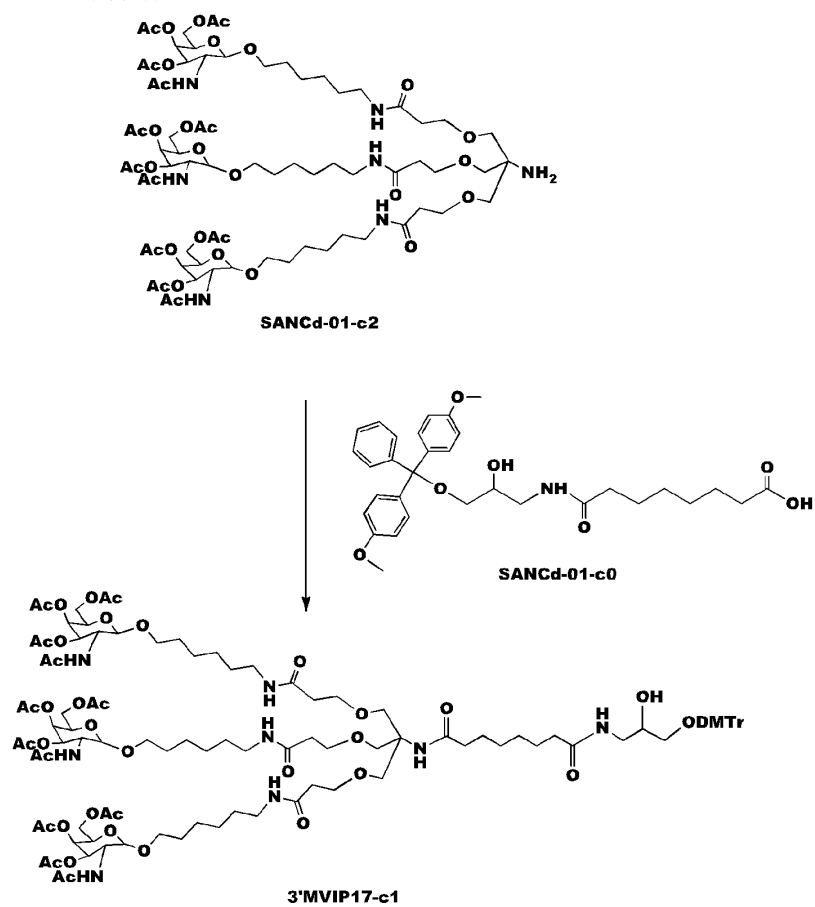
合成步骤参照 4.1.1.4. ERCd-01-c1 的合成。

4.1.2.5 SANCd-01-c2 的合成



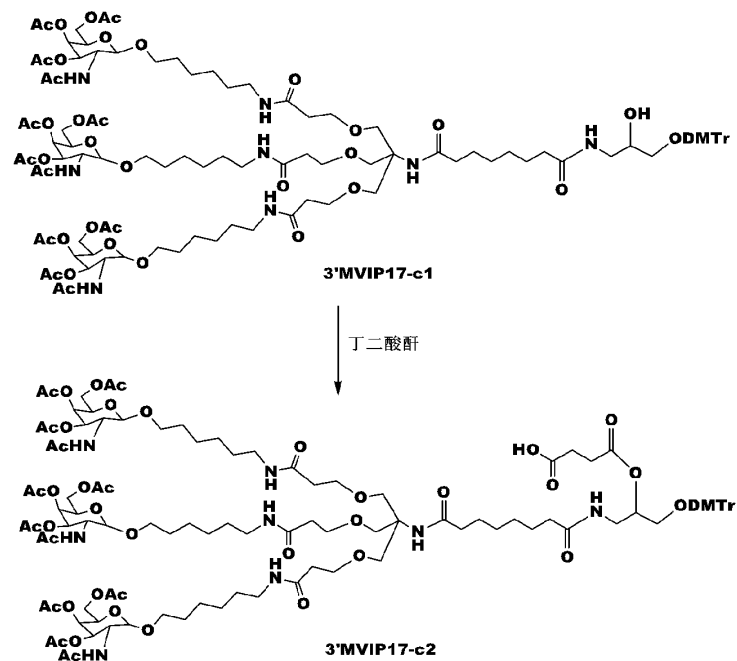
合成步骤参照 4.1.1.5. ERCd-01-c2 的合成。

4.1.2.6 3'MVIP17-c1 的合成



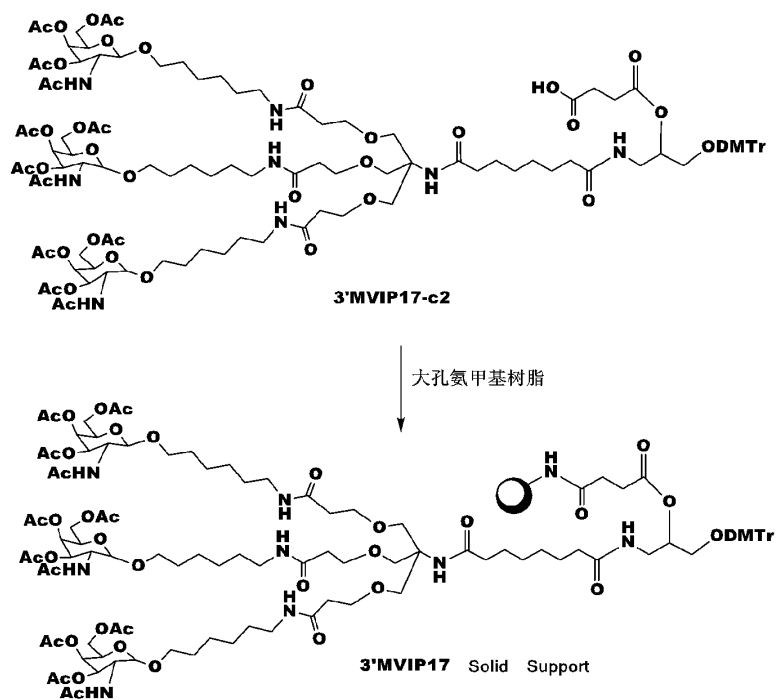
合成步骤参照 4.1.1.6. 3'MVIP09-c1 的合成，合成得到 3'MVIP17-c1。

4.1.2.7 3'MVIP17-c2 的合成



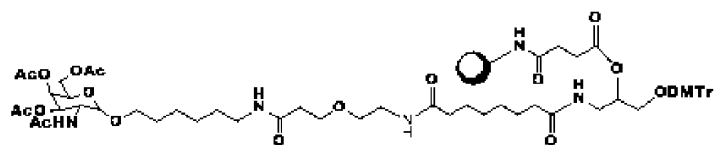
合成步骤参照 4.1.1.7. 3'MVIP09-c2 的合成。

4.1.2.8 3'MVIP17 的 Solid Support 合成



合成步骤参照 4.1.1.8 3'MVIP09 的 Solid Support 合成。

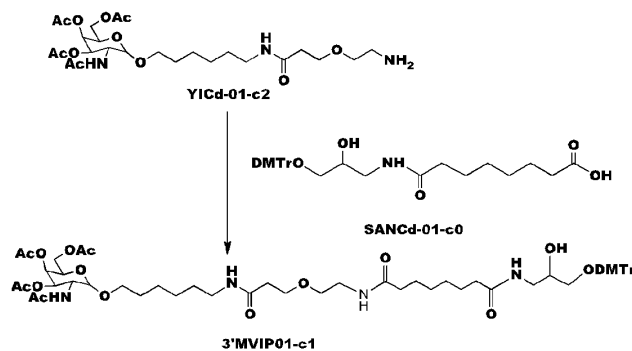
4.1.3 3'MVIP01 的 Solid Support 的合成:



3'MVIP01 Solid Support

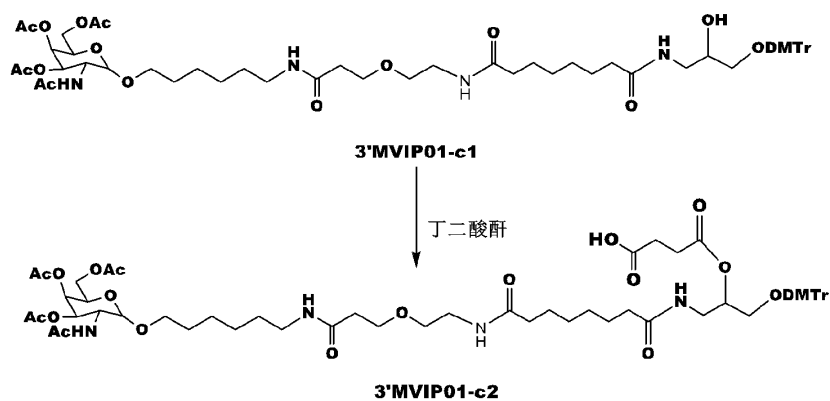
合成过程描述:

4.1.3.1 3'MVIP01-c1 的合成



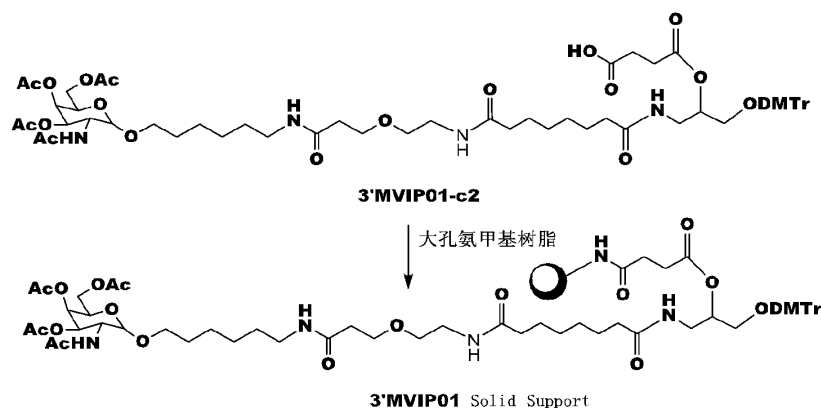
合成步骤参照 4.1.1.6. 3'MVIP09-c1 的合成。

4.1.3.2 3'MVIP01-c2 的合成



合成步骤参照 5.1.1.7. 3'MVIP09-c2 的合成。

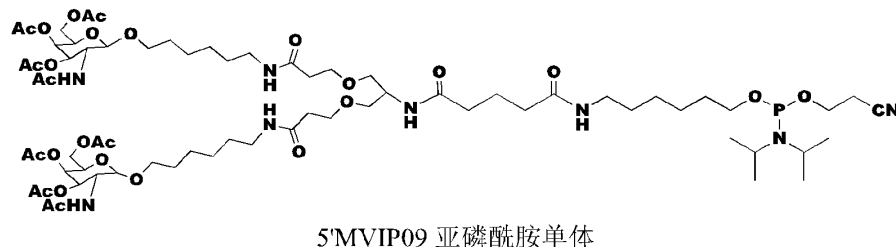
4.1.3.3 3'MVIP01 的 Solid Support 合成



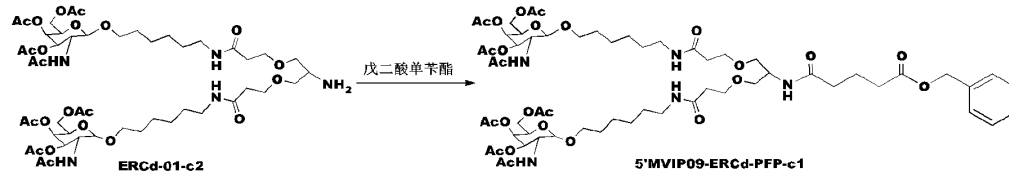
合成步骤参照 4.1.1.8. 3'MVIP09 的 Solid Support 合成。

4.2. 5'MVIP 亚磷酰胺单体的合成

4.2.1 5'MVIP09 亚磷酰胺单体的合成:

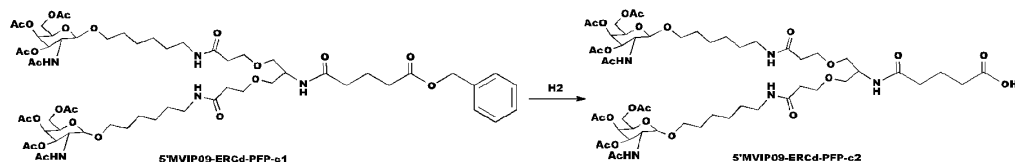


4.2.1.1 5'MVIP09-ERCd-PFP-c1 的合成



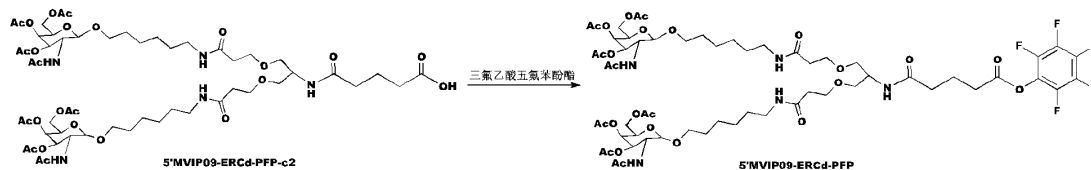
称量 ERCd-01-c2 (2.18g, 2.0mmol)溶于 DMF(50mL), 加戊二酸单苄酯(0.53g, 2.4mmol)、DIPEA(0.78g)与 TBTU(0.84g), 室温搅拌过夜, 加水淬灭(50mL), DCM(30mL*3)萃取, 10%柠檬酸(50mL*3)、饱和碳酸氢钠 50mL 和吡啶 100mL 洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋蒸, 过柱纯化得产品 5'MVIP09-ERCd-PFP-c1 (2.15g)。

4.2.1.2 5'MVIP09-ERCd-PFP-c2 的合成



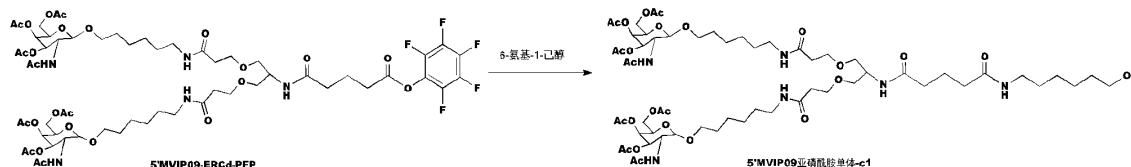
称量 5'MVIP09-ERCd-PFP-c1 (2.15g, 1.66mmol)和 10%钯碳(0.21g), 加甲醇(50mL), 室温搅拌加氢过夜, 反应结束后硅藻土过滤钯碳, 旋蒸得 5'MVIP09-ERCd-PFP-c2 粗品(1.9g)。

4.2.1.3 5'MVIP09-ERCd-PFP 的合成



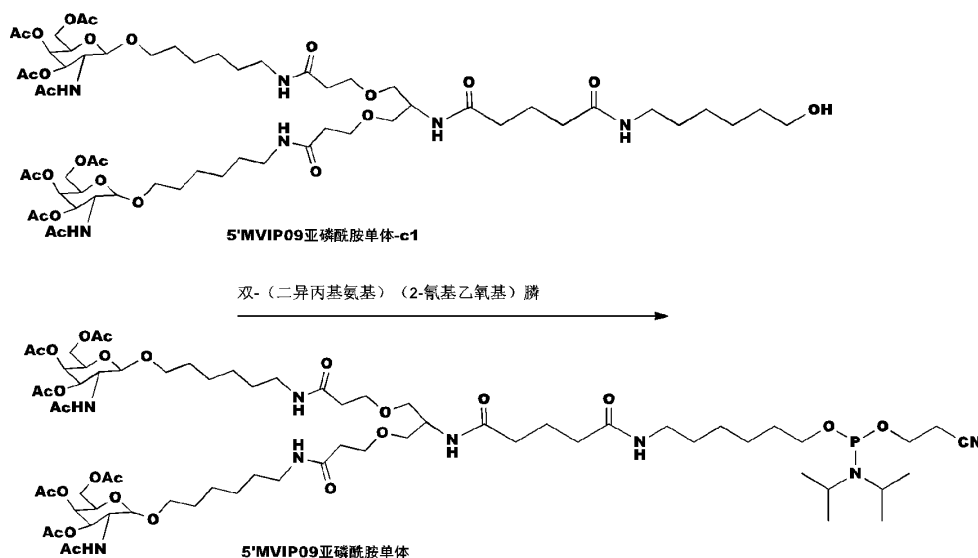
称量 5'MVIP09-ERCd-PFP-c2 粗品(1.9g, 1.58mmol)溶于 DCM(60mL), 加 DIPEA(1.33g), 冷却, 加三氟乙酸五氟苯酚酯(2.21g, 7.9mmol), 室温搅拌反应 2h 后旋蒸, 再溶于 DCM(60mL), 饱和碳酸氢钠(30mL*3)、10%柠檬酸(30mL*1)、饱和食盐水(50mL*1)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤, 旋蒸得 5'MVIP09-ERCd-PFP 粗品(2.35g), 抽干后无纯化直接用于下一步反应。

4.2.1.4 5'MVIP09 亚磷酰胺单体-c1 的合成



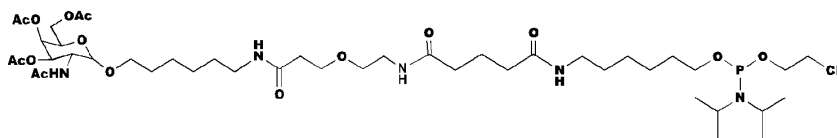
5'MVIP09-ERCd-PFP 粗品(2.35g, 1.58mmol)溶于 DCM(60mL), 加 DIPEA(0.82g, 6.32mmol)、6-氨基-1-己醇(0.37g, 3.16mmol), 室温搅拌反应过夜。加 10%柠檬酸(30mL), DCM(30mL*3)萃取, 饱和食盐水(50mL)洗涤, 无水硫酸钠干燥, 过滤、旋蒸, 过柱纯化得产品 5'MVIP09 单体-c1 (1.73g)。

4.2.1.5 5'MVIP09 亚磷酰胺单体



称量 5'MVIP09 亚磷酰胺单体-c1(1.3g, 1.0mmol)溶于乙腈(30mL), 加入二异丙胺三氮唑(0.22g), 冰浴下滴加双-(二异丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦(0.36g, 1.2mmol), 室温反应 4h, HPLC 中控, 反应合格后, 浓缩过柱纯化得到产品 5'MVIP09 单体(1.2g)。

4.2.2 5'MVIP01 亚磷酰胺单体的合成:



5'MVIP01 亚磷酸胺单体

5'MVIP01 的亚磷酸胺单体称量 YICd-01-c2 (1.12g, 2.0mmol), 剩余操作参照 4.2.1.1.~4.2.1.5。

实施例 7 5'MVIP09 /3'MVIP 09 偶联不同的 siRNA 的 RNA 抑制剂的合成

反义链及其载体结构合成描述：用氩气吹扫试剂瓶至少 2 min。向试剂瓶中依次加入亚磷酸胺单体和乙腈，拧紧瓶盖后，震荡直至目测固体全溶。然后加入 3A 分子筛，静置 8 h 以上待用。用氩气吹扫试剂瓶至少 2 min。向试剂瓶中依次加入氢化黄原素和干燥的吡啶，拧紧瓶盖后，震荡直至目测固体全溶，暂存待用。确认在室温 20~30°C 环境条件下进行以下操作：称取 3'MVIP 载体，加入到试剂瓶中，再加入乙腈，震荡混合均匀。将载体转移至合成柱内，并用乙腈将试剂瓶中残余的载体淋洗转移至合成柱内。淋洗完毕后加乙腈充满合成柱，记录使用乙腈的用量。按仪器操作安装固定合成柱。

将上述配制的单体溶液、CAP A、CAP B、氧化剂、硫代试剂、活化剂、脱帽剂以及乙腈，连接至 AKTA PILOT100 对应的管路，确保管路插入试剂瓶底。

合成方法设置完毕后，仪器各项工作准备就绪，点击运行，开始合成。在线观察记录每个 detritylation 峰面积。在合成过程中根据脱保护试剂实际使用量，进行补加操作。

合成结束后，氩气吹扫合成柱≥2 h，按操作规程卸载合成柱。向合成柱内固相载体转移至反应瓶，加入甲胺水溶液和氨水，将反应瓶放入摇床中，35°C，2-3 小时。将溶液过滤至圆底烧瓶中，再使用 50%乙醇水溶液洗涤残留固相，再次过滤与之前滤液合并，将圆底烧瓶连接旋转蒸发仪，设置水温 50°C 蒸至无馏出，向圆底烧瓶内加入乙醇，混匀，再次蒸至无馏出，重复操作至瓶底出现白色粉末。将得到的白色粉末配制成溶液，使用反向层析柱进行纯化，取样检测 OD260、纯度。将纯化的反义链溶液分装于西林瓶中冻干备用，并将产品密封储存于-20°C 冰箱中。

正义链及其载体结构的合成操作同反义链及其载体结构的合成操作，其中装柱的载体为 Universal 载体。所得中间体加 DIPEA 配制成溶液，加入 5'MVIP 亚磷酸胺单体，混匀，将反应瓶放入摇床中，35°C，2-3 小时。

RNA 抑制剂的合成退火工艺描述：

取正义链及其载体结构，取反义链及其载体结构，1:1 等摩尔混合在反应瓶中，水浴 95°C 5 分钟后，关闭水浴锅电源，使其自然降温至 40°C 以下。向双链溶液中加入 3M 醋酸钠水溶液，混合均匀后，再加入适量体积的无水乙醇，混合均匀，将反应液放入-20°C 冰箱内 45min。冷冻高速离心机设置 4°C 预制冷，温度达到后，放入双链溶液，启动离心机。取出离心后的双链溶液，去除上清液，加入超纯水使固体完全溶解，取样检测 OD260、纯度，可得到表 14 中的 RNA 抑制剂，将纯化的成品溶液分装于西林瓶中冻干备用，并将产品密封储存于-20°C 冰箱中。

实施例 8-1 应用 PHH 评价含有 5'MVIP09/3'MVIP09 结构的 RNA 抑制剂活性研究

应用原代人肝细胞(Primary Human hepatocytes, 简称 PHH)评价表 15 中 RNA 抑制剂体外活性。复苏冻存的 PHH，将细胞密度调整到 6×10^5 个细胞每毫升。从稀释板取配制好的 RNA 抑制剂加入 96 孔细胞培养板中(10 μ L/孔)，并加 90 μ L/孔细胞到 96 孔板中，每孔终体积为 100 μ L。RNA 抑制剂按照 200 nM 起始，依次 10 倍稀释，共 3 个浓度点，3 复孔，加好后置于 5% CO₂、37 °C 培养箱中培养 48 小时。提取细胞内 RNA，然后将 RNA 反转录为 cDNA。利用 qPCR 检测目的基因 cDNA。GAPDH 作为内参基因，qPCR 在 384 孔板中进行。qPCR 反应程序为：95°C 10 分钟；然后在 95°C 15 秒，60°C 1 分钟 40 个循环。检测 APOC3 mRNA 相对表达水平。试验结果见表 31。

表 31 RNA 抑制剂干预后 APOC3 mRNA 相对表达水平

RNA 抑制剂	APOC3 mRNA 相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)			SD		
	200 nM	20 nM	2 nM	200 nM	20 nM	2 nM
Kylo-12-DS1071	0.35	0.49	0.77	0.00	0.07	0.04
Kylo-12-DS1081	0.46	0.58	0.84	0.21	0.09	0.07
Kylo-12-DS1131	0.31	0.55	0.81	0.03	0.13	0.02
Kylo-12-DS1141	0.39	0.47	0.74	0.04	0.15	0.05
Kylo-12-DS1241	0.41	0.57	0.80	0.02	0.12	0.06
Kylo-12-DS1311	0.37	0.56	0.75	0.03	0.11	0.04
Kylo-12-DS1321	0.34	0.45	0.65	0.00	0.07	0.03

本实施例验证了 5'MVIP09/3'MVIP09 载体组合可以实现 siRNA 的自我递送。

实施例 8-2 应用 PHH 评价带 5'MVIP/3'MVIP 的 RNA 抑制剂活性

本实施例应用原代人肝细胞评估表 22-1 中带修饰的 RNA 抑制剂体外活性。复苏冻存的 PHH，将细胞密度调整到 6×10^5 个细胞每毫升。从稀释板取配制好的 RNA 抑制剂加入 96 孔细胞培养板中(10 μ L/孔)，并加 90 μ L/孔细胞到 96 孔板中，每孔终体积为 100 μ L。RNA 抑制剂共 2 个浓度点：200 nM 和 20nM，3 复孔，加好后置于 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 培养箱箱中培养 48 小时。提取细胞内 RNA，然后将 RNA 反转录为 cDNA。利用 qPCR 检测目的基因 cDNA。GAPDH 作为内参基因，qPCR 在 384 孔板中进行。qPCR 反应程序为：95 $^{\circ}$ C 10 分钟；然后在 95 $^{\circ}$ C 15 秒，60 $^{\circ}$ C 1 分钟 40 个循环。检测 APOC3 mRNA 相对表达水平。所得试验结果见下表 32。

表 32 APOC3 mRNA 相对表达水平

RNA 抑制剂	APOC3 mRNA 相对表达水平 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)		SD	
	200nM	20nM	200nM	20nM
Ky-12-DS23001	0.2915	0.3771	0.0511	0.0302
Ky-12-DS25001	0.2386	0.3765	0.0616	0.0131
Ky-12-DS25401	0.3168	0.39	0.0971	0.1088
Ky-12-DS29701	0.2174	0.3763	0.0257	0.0749
Ky-12-DS29801	0.2075	0.3136	0.0517	0.0802
Ky-12-DS31701	0.1899	0.211	0.0496	0.0702
Ky-12-DS31702	0.2568	0.378	0.0237	0.0359
Ky-12-DS31703	0.2378	0.3218	0.0329	0.0219
Ky-12-DS31704	0.2977	0.4077	0.0642	0.0528
Ky-12-DS31705	0.2193	0.397	0.0384	0.0512
Ky-12-DS31706	0.242	0.3585	0.0725	0.0233
Ky-12-DS31707	0.2364	0.3901	0.0459	0.0126
Ky-12-DS31708	0.2936	0.3789	0.0669	0.0402
Ky-12-DS31709	0.2872	0.3422	0.019	0.0712
Ky-12-DS31711	0.23	0.3988	0.071	0.0321
Ky-12-DS31712	0.2482	0.3679	0.0209	0.0715
Ky-12-DS31713	0.2641	0.4012	0.0362	0.0556
Ky-12-DS33001	0.2066	0.3198	0.0433	0.0521

RNA 抑制剂	APOC3 mRNA 相对表达水平 (2 ^{-ΔΔCt})		SD	
	200nM	20nM	200nM	20nM
Ky-12-DS33006	0.2577	0.3834	0.0236	0.0424

试验结果显示，修饰的正义链 5'端的载体结构为 5'MVIP17，修饰的正义链 3'端的载体结构为 3'MVIP17，修饰的正义链和反义链偶联载体 5'MVIP/3'MVIP 的组合 5'MVIP01/3'MVIP01、5'MVIP01/3'MVIP17、5'MVIP17/3'MVIP01 或 5'MVIP09/3'MVIP09，或者所述正义链 5'MVIP 和正义链 3'MVIP 的组合 5'MVIP01/3'MVIP09、5'MVIP09/3'MVIP01 或 5'MVIP01/3'MVIP01 形成的 RNA 抑制剂可以自由摄取进入 PHH 细胞，并呈现出对 PHH 细胞中的 APOC3 mRNA 显著的抑制作用。

实施例 9 不同结构 5'MVIP 和 3'MVIP 偶联同一种 siRNA 对 RNA 抑制剂的活性影响研究

分别挑选出反义链和正义链，按照实施例 7 所述的方法配对退火合成 RNA 抑制剂（见表 22-2）。考察 5'MVIP 和/或 3'MVIP 结构中 X、L、B、D、R₁ 或 R₂ 不同时，对 RNA 抑制剂活性效果影响。取适龄的 APOC3 Tg 小鼠模型做实验评估。在 Day0 分别通过皮下注射给药 3 mg/kg。在给药后第 14 天（Day14）取血，分离血清，用 ELISA 方法测定血清中 APOC3 水平，试验结果见表 33 及图 1。

表 33 APOC3 Tg 小鼠血清中 APOC3 平均水平（归一化）

RNA 抑制剂	RNA 抑制剂干预后 APOC3 平均水平
生理盐水组	1.000
Kylo-12-DS131	0.331
Kylo-12-DS141	0.312
Kylo-12-DS142	0.291
Kylo-12-DS147	0.138
Kylo-12-DS148	0.136
Kylo-12-DS149	0.101
Kylo-12-DS150	0.127
Kylo-12-DS1081	0.179
Kylo-12-DS151	0.193
Kylo-12-DS152	0.184
Kylo-12-DS153	0.100
Kylo-12-DS154	0.134
Kylo-12-DS155	0.199
Kylo-12-DS156	0.142
Kylo-12-DS157	0.178
Kylo-12-DS158	0.211
Kylo-12-DS159	0.243
Kylo-12-DS160	0.191

备注：归一化是将动物在时间点的 TG 水平分别除于该只动物 Day0 天的 TG 水平，得到一个比率 A1，将对照组动物的时间点的 TG 平均水平除于对照组 Day0 的 TG 平均水平，得到一个比率 A2。A1 除于 A2 即得归一化后的血中平均 TG 水平。实验结果显示，5'MVIP/3'MVIP 组合中 n+m=4 的 RNA 抑制剂的整体活性稍高于 n+m=3 的组合。

实施例 10 考察 5'端或 3'端核苷酸不同对 RNA 抑制剂活性影响

将 RNA 抑制剂转染进入 HepG 2 细胞，通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平。与未干

预的 HepG 2 细胞上清对比, 标定样品干预组的 APOC3 mRNA 相对百分率。试验结果见表 34 和图 2:

表 34 RNA 抑制剂干预后 APOC3 mRNA 的抑制率

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'	SEQ ID NO.	反义链代码	反义链序列 5'→3'	双链代码	Average Inhibition	
							1nM	0.1nM
947	S439	aaggacaguuuctc agugu	683	AS439	acacugagaauacugucc cuu	DS321	0.951	0.819
948	S266	gaggacaguuucu cagugu	684	AS268	acacugagaauacugucc cuc	DS331	0.941	0.782
949	S267	caggacaguuucu cagugu	685	AS269	acacugagaauacugucc cug	DS341	0.941	0.664
950	S268	gggacaguuucua gugcua	686	AS270	gcacugagaauacuguc ccuu	DS351	0.924	0.768
951	S269	gagcgacaguuuctc agugu	687	AS271	acacugagaauacuguc gcuc	DS361	0.961	0.54
952	S270	uaggacaguuuct cagugu	688	AS272	acacugagaauacugucc cua	DS371	0.922	0.643
953	S271	auggacaguuuct cagugu	689	AS273	acacugagaauacugucc cau	DS381	0.573	0.411
954	S272	aggacaguuucuc agugua	690	AS274	ucacugagaauacuguc ccuu	DS391	0.954	0.352
955	S273	aaggacaguuucu cagu	691	AS275	ucacugagaauacuguc ccuu	DS401	0.906	0.513
956	S274	gcuuaaaaggacag uauuca	692	AS276	ugaauacuguccuuuu aagc	DS411	0.951	0.819
957	S275	gcuuaaaaggacag uauucu	693	AS277	aaucuguccuuuuua gcaa	DS601	0.903	0.956
958	S276	cuuaaaaggacagu auucuc	694	AS278	gaauacuguccuuuuu agca	DS611	0.825	0.892
959	S277	uuaaaaggacagua uucua	695	AS279	agaauacuguccuuuu aagc	DS621	0.882	0.877
960	S278	uaaaaggacaguu ucucag	696	AS280	gagaauacuguccuuu uaag	DS631	0.452	0.383
961	S279	aaaaggacaguuu cucagc	697	AS281	ugagaauacuguccuu uuua	DS641	0.419	0.973
962	S280	aaaggacaguuuc ucagug	698	AS282	cugagaauacuguccu uuua	DS651	0.913	0.897
963	S281	aaggacaguuucu cagugc	699	AS283	acugagaauacugucc uuua	DS661	0.88	0.908

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'	SEQ ID NO.	反义链代码	反义链序列 5'→3'	双链代码	Average Inhibition	
							1nM	0.1nM
964	S282	agggacagauucuc agugcu	700	AS284	cacugagaauacugucc uua	DS671	0.919	0.847
960	S283	gcuuaaaagggacag uauucu	684	AS285	ugaauacuguccuuuu aagcaagc	DS681	0.884	0.961

研究结果显示，RNA 抑制剂的正义链和反义链 5'端或 3'端可以承受 1 个、2 个或甚至 3 个核苷酸不同，RNA 抑制剂的活性不受显著影响。

实施例 11 考察核苷酸糖基 2'位上不同的修饰对 RNA 抑制剂活性影响

考察从正义链的 5'端开始不同位置上的核苷酸糖基的 2'位氟修饰，从反义链的 5'端开始的不同位置的核苷酸糖基的 2'位氟修饰，对 RNA 抑制剂活性的影响。

将 RNA 抑制剂转染进入 HepG 2 细胞，通过 qRT-PCR 测定 APOC3 mRNA 水平。与未干预的 HepG 2 细胞上清对比，标定样品干预组的 APOC3 mRNA 的平均表达水平，并计算抑制率，结果见表 35 和图 3：

表 35 RNA 抑制剂干预后 APOC3 mRNA 的抑制率

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'	SEQ ID NO.	反义链代码	反义链序列 5'→3'	双链代码	Average Inhibition	
							1nM	0.1nM
1112	S541	AsAsGGfGfCfAfGUAUU CTCAGUsGsU	1142	AS520	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsU	DS201	0.43968408	0
1113	S542	GsAsGGfGfCfAfGUAUUC UCAGUsGsU	1143	AS521	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsC	DS211	0.53204033	0.2090261
1114	S543	CsAsGGfGfCfAfGUAUU CUCAGUsGsU	1144	AS522	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsG	DS221	0.61900211	0
1115	S544	GsGsGfGfCfAfGUAUCU CAGUGCsUsA	1145	AS523	GsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsU	DS231	0.82820992	0.86465283
1116	S545	GsAsGGfGfCfAfGUAUU CUCAGUsGsU	1146	AS524	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsC	DS241	0.4761101	0
1117	S546	GsAsGCfGfCfAfGUAUU CTCAGUsGsU	1147	AS525	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCGCsUsC	DS251	0.466462	0
1118	S547	UsAsGGfGfCfAfGUAUU CTCAGUsGsU	1148	AS526	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsA	DS261	0.90141965	0.80862764
1119	S548	AsUsGGfGfCfAfGUAUU CTCAGUsGsU	1149	AS527	AsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsAsU	DS271	0.4232252	0.19851928
1120	S549	AsGsGGfGfCfAfGUAUUC UCAGUGsUsA	1150	AS528	UsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsU	DS281	0.88097941	0.68911395
1121	S550	AsAsGGfGfCfAfGUAUU CUCAGUsGsA	1151	AS529	UsCsACUGfAGAAUfAcfU GUCCCsUsU	DS291	0.73459528	0.70867407
1122	S551	GsCsUUfAAfAfGfGGGAC AGUAUUsCsA	1152	AS530	UsGsAAUfCUGUCfCCfU UUUAAAsGsC	DS301	0	0.23023379
1123	S552	GsCsUUAAAAfGfGfGACA GUAAUUsCsA	1153	AS531	UsfGsAfAfUfAcfUGfUCfC CfUUfUUfAAAsGsC	DS311	0.94200427	0.87515849
1124	S553	GsCsUUfAAfAfGfGGGAC	1154	AS532	AsAsUACUfGUCCCUUUU	DS421	0.50397905	0.01692893

SEQ ID NO.	正义链代码	正义链序列 5'→3'	SEQ ID NO.	反义链代码	反义链序列 5'→3'	双链代码	Average Inhibition	
							1nM	0.1nM
		AGUAAUUsCsU			UAAGCsAsA			
1125	S554	GsCsUfUfAAfAfAfGfGfGfGfCAGUAUUsCsU	1155	AS533	AsfAsUfACfUGfUCCCUUfUUfAAGCsAsA	DS431	0.92051393	0.10460114
1126	S555	CsUsUafAAfAfGfGfGACAGUAUUCsUsC	1156	AS534	GsAsAUACfUGUCCfCUfUUAAAGsCsA	DS441	0.27171299	0
1127	S556	CsUsUfAAfAfAfGfGfGfACfAGfUAUUCsUsC	1157	AS535	GsfAsAfUAfCUfGUCCCUfUUfUAAGsCsA	DS451	0.84923242	0.27066857
1128	S557	UsUsAAfAAfGfGfGACAGUAUUCUsCsA	1158	AS536	AsGsAAUAfCUGUCfCCfUUUAAAsGsC	DS461	0.8739331	0.8306664
1129	S558	UsUsfAAfAAfGfGfGfAfcAfGUfUAUUCUsCsA	1159	AS537	AsfGsAfAUfACfUGUCCCFUUfUUAAsGsC	DS471	0.95089087	0.79315352
1130	S559	UsAsAAfAfGfGfGfACAGUAUUCUsCsAsG	1160	AS538	GsAsGAAUfACUGUfCCfCUUUUsAsAsG	DS481	0.50444347	0.3883753
1131	S560	UsAsfAAfAGfGfGfACfAGfUAfUUCUsCsAsG	1161	AS539	GsfAsGfAAfUAfCUGUCCfCUfUUUUsAsAsG	DS491	0.75282363	0.39360064
1132	S561	AsAsAAfGGfGfGfAfCAGUAUUCUCAsGsC	1162	AS540	UsGsAGAAfUACUGfUCfCUUUUsAsA	DS501	0.54418952	0.72684271
1133	S562	AsAsfAAfGGfGfGfAfCfAGUfAUfUCUCAsGsC	1163	AS541	UsfGsAfGfAfAUfACUGUcfCCfUUUUsAsA	DS511	0.93540529	0.989981452
1134	S563	AsAsAGfGGfAfCfAGUAUUCUCAGsUsG	1164	AS542	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUsUsA	DS521	0.91358498	0.98440306
1135	S564	AsAsAfGGfGfAfCfAGUfAUfUCfUCAGsUsG	1165	AS543	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUsUsA	DS531	0.93393405	0.90155531
1136	S565	AsAsGGfGfAfCfAfGUAAUUCUCAGUsGsC	1166	AS544	AsCsUGAGfAAUACfUGfUCCCUUsUsA	DS541	0.93085339	0.98141713
1137	S566	AsAsfGGfGfAfCfAfGUfAUfUCfUCAGUsGsC	1167	AS545	AsfCsUrfGfAfGfAUACUGfUCfCCUUsUsA	DS551	0.97232923	0.92503153
1138	S567	AsGsGGfACfAfGfUAUUCUCAGUGsCsU	1168	AS546	CsAsCUGAfGAAUAfCUfGUCCCUUsUsA	DS561	0.53410452	0.72241722
1139	S568	AsGsGGfACfAfGfUAfUfCUfCAGUGsCsU	1169	AS547	CsfAsCfUGfAGfAAUACUfGUfCCCUUsUsA	DS571	0.86247604	0.95146775
1140	S569	GsCsUfUfAAfAfAfGGGACAGUAUUsCsA	1170	AS548	UsAsAUAfCUGUCfCCfUUUAAAGCsAsA	DS581	0.42027334	0.51832601
1141	S570	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAUUsCsA	1171	AS549	UsAsfAUfACfUGfUCfCCfUUfUfUAAGCsAsA	DS591	0.90886421	0.84209032

根据实验结果,修饰方式具有序列的特异性,从正义链的5'端开始的5、7、8、9的核苷酸糖基的2'位氟修饰,从反义链的5'端开始的7、14、16的核苷酸糖基的2'位氟修饰效果比较理想的是DS231、DS261、DS281和DS311。

DS541 和 DS551 具有同一序列, 从正义链的 5'端开始的 5、7、8、9 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰, 从反义链的 5'端开始的 7、14、16 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰或从正义链的 5'端开始

的 3、5、7、8、9、11、13、15 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰,从反义链的 5'端开始的 2、4、6、8、14、16 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰, RNA 抑制剂维持良好活性。

DS571 从正义链的 5'端开始的 3、5、7、8、9、11、13、15 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰, 从反义链的 5'端开始的 2、4、6、8、14、16 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰效果比较理想。

DS591 从正义链的 5'端开始的 9、10、11 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰, 从反义链的 5'端开始的 2、4、6、8、14、16 的核苷酸糖基的 2'位氟修饰效果比较理想。

实施例 12 应用 PHH 筛选评估 5'MVIP09/3'MVIP09 组合对 RNA 抑制剂递送效果

应用原代人肝细胞评价表 36 中 RNA 抑制剂体外活性。复苏冻存的 PHH, 将细胞密度调整到 6×10^5 个细胞每毫升。从稀释板取配制好的 RNA 抑制剂加入 96 孔细胞培养板中 ($10 \mu\text{L}$ / 孔), 并加 $90 \mu\text{L}$ / 孔细胞到 96 孔板中, 每孔终体积为 $100 \mu\text{L}$ 。RNA 抑制剂按照 500 nM 起始, 依次 10 倍稀释, 共 3 个浓度点, 3 复孔, 加好后置于 $5\% \text{ CO}_2$ 、 37°C 培养箱中培养 48 小时。提取细胞内 RNA, 然后将 RNA 反转录为 cDNA。利用 qPCR 检测目的基因 cDNA。GAPDH 作为内参基因, qPCR 在 384 孔板中进行。qPCR 反应程序为: 95°C 10 分钟; 然后在 95°C 15 秒, 60°C 1 分钟 40 个循环。检测 APOC3 mRNA 相对表达水平, 并计算抑制率, 结果见表 36 和图 4。

表 36 RNA 抑制剂干预后 APOC3 mRNA 的抑制率

正义链 代码	正义链序列 5'链序列	反义链 代码	反义链序列 5'→3'	RNA 抑制剂	Average Inhibition		
					500nM	100nM	10nM
S313 [*]	5'MVIP09-GsGsGfCAfGfUf AUUCUCAGUGCsUsA	AS316 [*]	GsCsACUGfAGAAUfACfUG UCCCsUsU-3'MVIP09	Kylo-12-DS2311	0.8121	0.5954	0.4321
S314 [*]	5'MVIP09-UsAsGGfGfAfcfAf GUAUUCTCAGUsGsU	AS317 [*]	AsCsACUGfAGAAUfACfUG UCCCsUsA-3'MVIP09	Kylo-12-DS2611	0.7926	0.61235	0.4021
S315 [*]	5'MVIP09- AsAsGGfGfAfcfAfGUAUUC UCAGUsGsA	AS318 [*]	UsCsACUGfAGAAUfACfUG UCCCsUsU-3'MVIP09	Kylo-12-DS2911	0.8033	0.6791	0.5017
S316 [*]	5'MVIP09-AsAsGGfGfAfcfAf GUAUUCUCAGUsGsC	AS319 [*]	AsCsUGAGfAAUACfUGfUC CCUUsUsA-3'MVIP09	Kylo-12-DS5411	0.7922	0.6316	0.5391
S317 [*]	5'MVIP09-AsAsfGGfGfAfcfA fGUfAUfUCfUCAGUsGsC	AS320 [*]	AsfCsUfGfAfcfAUACUGfU fCCCUUsUsA-3'MVIP09	Kylo-12-DS5511	0.7781	0.6973	0.5239
S318 [*]	5'MVIP09-AsGsfgGfAfcfAfG fUAUufCUfCAGUGCsU	AS321 [*]	CsfAsCUfGfAGfAAUACUfG UfCCCUUsA-3'MVIP09	Kylo-12-DS5711	0.8126	0.6185	0.4756
S319 [*]	5'MVIP09-GsCsUUAaAafGf GfGACAGUAUUsCsA	AS322 [*]	AsfAUfACfUGfUCfCCfUUUf UfAAGCsAsA-3'MVIP09	Kylo-12-DS5911	0.8253	0.6011	0.5530
S320 [*]	5'MVIP09-GsCsUUAaAafGf GfGACAGUAUUsCsA	AS323 [*]	UsfGsAfAUfACfUGfUCfCCf UUfUUfAAsGsC-3'MVIP09	Kylo-12-DS3111	0.7797	0.6374	0.5321

试验结果显示,修饰的正义链和反义链偶联载体 5'MVIP09/3'MVIP09 形成的 RNA 抑制剂可以自由摄取进入 PHH 细胞,对 PHH 细胞中的 APOC3 mRNA 发挥抑制作用,且呈现明显的剂效作用。

实施例 13 应用转基因小鼠模型评估 RNA 抑制剂的活性

考察表 36 中的 RNA 抑制剂在体内的活性。取适龄的 APOC3 Tg 小鼠模型做实验评估。在 d0 分别通过皮下注射给药 3mg/kg。在给药后 d8、15、22、29、35 和 42 天采血，测 TG 和 APOC3 水平。RNA 抑制剂干预后，归一化后的血清中平均 APOC3 水平结果见表 37 及图 5。

表 37 归一化后的血清中平均 APOC3 水平

RNA 抑制剂	d0	d8	d15	d22	d29	d35	d42
生理盐水组	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Kylo-12-DS2311	1.000	0.219	0.161	0.234	0.199	0.267	0.299
Kylo-12-DS2611	1.000	0.209	0.178	0.157	0.246	0.278	0.300
Kylo-12-DS2911	1.000	0.159	0.169	0.210	0.269	0.250	0.289
Kylo-12-DS5911	1.000	0.189	0.193	0.225	0.253	0.320	0.35

备注：归一化是将动物在时间点的 APOC3 水平分别除于该只动物 d0 天的水平，得到一个比率 A1，将对照组动物的时间点的平均水平除于对照组 d0 的平均水平，得到一个比率 A2。A1 除于 A2 即得归一化后的血清中平均 APOC3 水平。

RNA 抑制剂干预后，归一化后的血清中平均 TG 水平结果见表 38 及图 6：

表 38 归一化后的血清中平均 TG 水平

RNA 抑制剂	d0	d8	d15	d22	d29	d35	d42
生理盐水组	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Kylo-12-DS2311	1.000	0.356	0.307	0.389	0.394	0.450	0.560
Kylo-12-DS2611	1.000	0.289	0.297	0.322	0.398	0.411	0.460
Kylo-12-DS2911	1.000	0.199	0.213	0.278	0.321	0.345	0.384
Kylo-12-DS5911	1.000	0.201	0.267	0.293	0.307	0.323	0.360

备注：归一化是将动物在时间点的 TG 水平分别除于该只动物 d0 天的水平，得到一个比率 A1，将对照组动物的时间点的平均水平除于对照组 d0 的平均水平，得到一个比率 A2。A1 除于 A2 即得归一化后的血清中平均 TG 水平。

实施例 14 应用转基因小鼠模型评估 RNA 抑制剂的活性

考察表 22-1 中的 RNA 抑制剂在体内的活性。取适龄的 hAPOC3 Tg 小鼠模型做实验评估，6-8 周龄雄性 hAPOC3 Tg 小鼠 55 只，给药组（Ky-12-DS23001、Ky-12-DS25001、Ky-12-DS25401、Ky-12-DS29701、Ky-12-DS29801、Ky-12-DS31705、Ky-12-DS33001 和 Ky-12-DS31701）和生理盐水组，小鼠适应性饲养 2-3 天后，禁食采血分离血清检测 hAPOC3 蛋白、TG、TC 和 LDL-c 水平，根据 TG 指标随机分组，每组 5 只。给药当天定义为 Day0，其中，Ky-12-DS31701 考察 3 个剂量组，在 Day0 分别皮下注射给药 1 mg/kg、3 mg/kg 和 6mg/kg，其他组分别通过皮下注射给药 3mg/kg。在给药后 Day7、14、21、28、35、42、49、56、63、70 和 77 天采血，测 hAPOC3、TC、TG 和 LDL-c 水平，将所测结果归一化（计算方法参见实施例 13），归一化后的 hAPOC3、TC、TG 和 LDL-c 干扰效果见图 7、图 8、图 9 和图 10。

试验结果显示，本实施例考察的这些 RNA 抑制剂对 hAPOC3 Tg 小鼠血清中的 hAPOC3 表达及 TC、TG 和 LDL-c 水平都有不同程度的影响，其中对 hAPOC3 的表达和 TG 水平影响显著，且持续性好。3mg/kg 剂量下：至 Day35，Ky-12-DS25401 对 TG 水平的降低率可高达 89.89%，至 Day77，各 RNA 抑制剂对 TG 水平的降低率仍维持在 50%上。本实施例也考察了 RNA 抑制剂 Ky-12-DS31701 对 hAPOC3 表达及 TC、TG 和 LDL-c 水平影响的剂效关系，试验结果显示该 RNA 抑制剂对 TG 水平的影响呈现显著的剂效关系，至 Day 14，1mg/kg，3mg/kg 和 6mg/kg 可分别使 TG 水平下降 84.21%、88.98%和 95.06%。

实施例 15 应用食蟹猴模型评估 RNA 抑制剂的活性

高脂食蟹猴，雄性，15 只，每组 3 只，给药组（Ky-12-DS31701、Ky-12-DS31712、Ky-12-DS31711 和 Ky-12-DS33001）和生理盐水组，适应性喂养 2 周后，按 TG 水平随机分组，分组当天进行皮下给药，4 mg/kg。于以下时间点采集隐静脉或头静脉血液：第 0 天(Day 0)以及给药后的 Day7、14、21、28、35、42、49、56 和 63。测 APOC3、TC、TG、HDL-c 和 LDL-c 水平，将所测结果归一化，归一化后的 APOC3、TG、HDL-c、LDL-c 和 TC 干扰效果见图 11、图 12、图 13、图 14 和图 15。。在 Day28 和 Day 63，分别对 Ky-12-DS31701 给药组的食蟹猴进行额外的肝脏活检，提取肝脏组织，通过 RT-qPCR 测量食蟹猴肝脏中的 APOC3 mRNA 水平，将检测结果进行归一化。

试验结果显示, RNA 抑制剂 Ky-12-DS31701、Ky-12-DS31712、Ky-12-DS31711、Ky-12-DS33001 对食蟹猴血清中的 APOC3 表达都有显著的抑制效果, 其中 Ky-12-DS31701 和 Ky-12-DS33001 使 TG 水平分别达到 84.01%和 81.15%的降低率, TC 和 LDL-c 水平都有不同程度的降低, HDL-c 水平显著上升。上述化合物对 APOC3 表达和 TG 水平抑制效果显著, 且持续性好, 其中 Ky-12-DS31701 对 TG 的降低水平, 至 Day63 仍旧可达到 75.48%。在 Day28 和 Day 63, 分别对 Ky-12-DS31701 给药组的食蟹猴进行肝脏活检, 提取肝脏组织, 通过 RT-qPCR 测量食蟹猴肝脏中的 APOC3 mRNA 水平, 将检测结果进行归一化, 归一化计算方法参见实施例 13。所得试验结果显示, Ky-12-DS31701 对食蟹猴 APOC3 mRNA 水平的抑制率分别为 91.65% 和 87.23%, 个体最高抑制率达 95% 。

以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和优点。本行业的技术人员应该了解, 上述实施例不以任何形式限制本发明, 凡采用等同替换或等效变换的方式所获得的技术方案, 均落在本发明的保护范围内。

权利要求书

1. 一种抑制 APOC3 基因表达的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述 RNA 抑制剂由链长各自独立地为 15-30 个核苷酸的正义链和反义链通过碱基配对形成, 其中所述链长各自独立地优选为 19-23 个核苷酸, 并且所述正义链和反义链之间至少有 80% 的碱基互补。

2. 根据权利要求 1 所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列: 5' uugguggcgugcuucauguaatt 3' (SEQ ID NO. 212), 5' uaaccugcaugaagcugagatt 3' (SEQ ID NO. 216), 5' uuaacggugcuccaguagucutt 3' (SEQ ID NO. 224), 5' cagagaacuuguccuuaacggtt 3' (SEQ ID NO. 225), 5' uauugaggucucaggcagccatt 3' (SEQ ID NO. 241), 5' ugaaguuggucugaccucaggtt 3' (SEQ ID NO. 255), 5' gcacugagaauacuguccuuuu 3' (SEQ ID NO. 256), 5' gcacugagaauacuguccuu3' (SEQ ID NO. 459), 5' acacugagaauacuguccua 3' (SEQ ID NO. 461), 5' ugaauacuguccuuuuuagc 3' (SEQ ID NO. 465), 5' cugagaauacuguccuuuuu 3' (SEQ ID NO. 471), 5' acugagaauacuguccuuuu 3' (SEQ ID NO. 472), 5' uaaucuguccuuuuuagcaa 3' (SEQ ID NO. 438), 5' ugaggucucaggcagccacgg3' (SEQ ID NO. 600), 5' uggauaggcagguggacuugg3' (SEQ ID NO. 620), 5' caggauaggauaggcaggugga3' (SEQ ID NO. 624), 5' gagcacugagaauacugucc3' (SEQ ID NO. 668), 5' acacugagaauacugucgcuc3' (SEQ ID NO. 687), 5' acacugagaauacugucgcuu3' (SEQ ID NO. 700), 5' ucacugagaauacuguccuu 3' (SEQ ID NO. 519);

其中, g=鸟苷酸, a=腺苷酸, u=尿苷酸, c=胞苷酸, t=胸苷酸。

3. 根据权利要求 1 所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述正义链和反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续 15 个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于 3 个核苷酸的序列; 所述正义链和反义链的序列组合如下所示:

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链 5'→3'
161	S58	uuacaugaagcacgcccaatt	212	AS58	uugguggcgugcuucauguaatt
165	S62	ucucagcuucaugcaggguuatt	216	AS62	uaaccugcaugaagcugagatt
173	S70	agacuacuggagcaccguuatt	224	AS70	uuaacggugcuccaguagucutt
174	S71	ccguuaaggacaaguucucugtt	225	AS71	cagagaacuuguccuuaacggtt
190	S87	uggcugccugagaccuauatt	241	AS87	uauugaggucucaggcagccatt
204	S101	ccugaggucagaccaacuatt	255	AS101	ugaaguuggucugaccucaggtt
205	S102	aaggacagauuucucagugtt	256	AS102	gcacugagaauacuguccuuuu
440	S268	gggacagauuucucagucua	459	AS270	gcacugagaauacuguccuu
442	S270	uaggacagauuuctcagugu	461	AS272	acacugagaauacuguccua
446	S274	gcuuaaaaggacagauuua	465	AS276	ugaauacuguccuuuuuagc
452	S280	aaaggacagauuucucagug	471	AS282	cugagaauacuguccuuuuu
453	S281	aaggacagauuucucagugc	472	AS283	acugagaauacuguccuuua
702	S194	gcuuaaaaggacagauuua	438	AS194	uaauacuguccuuuuuagcaa
864	S356	guggcugccugagaccucaau	600	AS356	ugaggucucaggcagccacgg
884	S376	aaguccaccugccuauccauc	620	AS376	uggauaggcagguggacuugg
888	S380	caccugccuauccaucugaa	624	AS380	caggauaggauaggcaggugga
931	S423	gggacagauuucucagucuu	667	AS423	gcacugagaauacuguccuu
932	S424	gacagauuucucagucuuu	668	AS424	gagcacugagaauacugucc
951	S443	gagcgacagauuucucagugu	687	AS443	acacugagaauacugucgcuc
964	S456	aagcgacagauuucucagugu	700	AS456	acacugagaauacugucgcuu
781	S273	aaggacagauuucucaguga	519	AS275	ucacugagaauacuguccuu

其中, g=鸟苷酸, a=腺苷酸, u=尿苷酸, c=胞苷酸, t=胸苷酸。

4. 根据权利要求1所述的RNA抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述正义链和/或反义链包含至少一个2'-修饰核苷酸, 所述2'-修饰核苷酸包括: 2'-O-甲基核苷酸、2'-脱氧-2'-氟核苷酸、2'-脱氧核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、2'-氨基核苷酸或2'-烷基核苷酸。

5. 根据权利要求4所述的RNA抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述正义链和/或反义链包含至少一个2'-O-甲基核苷酸或2'-脱氧-2'-氟核苷酸。

6. 根据权利要求5所述的RNA抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述正义链和/或反义链的末端中至少有一个末端的3个相邻核苷酸之间的磷酸酯键可以被硫代。

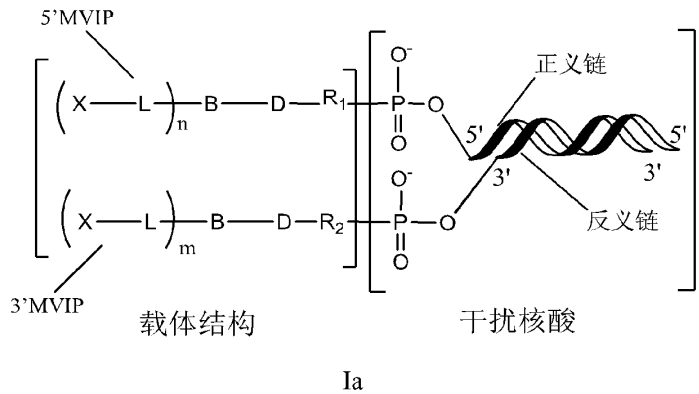
7. 根据权利要求5所述的RNA抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述的正义链和反义链选自 a) 以下序列, b) 与 a) 中的序列具有相同的至少连续15个核苷酸的序列, 和 c) 与 a) 和 b) 中的序列相差不多于3个核苷酸的序列:

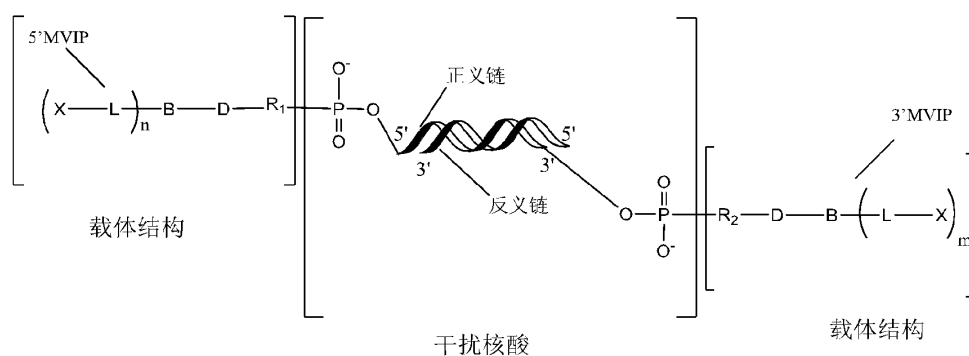
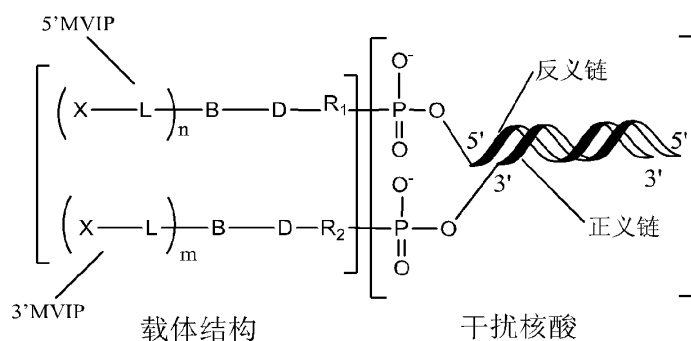
SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
411	S167	UsUsACAUGAfAfGfCACGCCACC sAsA	381	AS167	UsfUsGfGUfGGfCGUGCUfUCfAUGUs AsA
412	S168	UsCsUCAGCUfUfCfAUGCAGGGU sUsA	382	AS168	UsfAsAfCCfCUfGCAUGAfAGfCUGAs GsA
417	S173	AsGsACUACUfGfGfAGCACCGUU sAsA	387	AS173	UsfUsAfACfGGfUGCUCCfAGfUAGUs CsU
418	S174	CsCsGUUAAGfGfAfCAAGUUCUC sUsG	388	AS174	CsfAsGfAGfAAfCUUGUCfCUfUAACs GsG
428	S184	UsGsGCGGCCfUfGfAGACCUCAA sUsA	398	AS184	UsfAsUfUGfAGfGUCUCAfGGfCAGCs CsA
435	S191	CsCsUGAGGUfCfAfGACCAACUU sCsA	405	AS191	UsfGsAfAGfUUfGGUCUGfACfCUCAs GsG
436	S192	AsAsGGGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsC	406	AS192	GsfCsAfCUfGfGfGAAUACfUGfUCCCCU UsUsU
478	S287	GsGsGAfCAfGfUfAUUCUCAGUG CsUsA	507	AS289	GsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs U
481	S290	UsAsGGfGAfCfAfGUAAUUCTCAG UsGsU	510	AS292	AsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs A
486	S295	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAU UsCsA	515	AS297	UsfGsAfAUfACfUGfUCfCCfUUfUUfA AsGsC
497	S306	AsAsAGfGGfAfCfAGUAUUCUCA GsUsG	526	AS308	CsfUsGfAGfAAfUACUGUfCCfCUUUs UsA
499	S308	AsAsGGfGAfCfAfGUAAUUCUCAG UsGsC	527	AS309	AsCsUGAGfAAUACfUGfUCCCCUsUs A
486	S295	GsCsUUAAAAfGfGfGACAGUAU UsCsA	532	AS314	UsAsfAUfACfUGfUCfCCfUUfUUfAAG CsAsA
1028	S457	GsUsGGCUGCfCfUfGAGACCUCA sAsU	965	AS457	UsfGsAfGGfUCfUCAGGCfAGfCCfA CsfGsG

SEQ ID NO.	单链代码	正义链 5'→3'	SEQ ID NO.	单链代码	反义链序列 5'→3'
1029	S458	AsAsGUCCACfCfUfGCCUAUCCA sUsC	966	AS458	UsfGsGfAUfAGfGCAGGUfGGfACfU UsfGsG
1030	S459	CsAsCCUGCCfUfAfUCCAUCCUG sAsA	967	AS459	CsfAsGfGAfUGfGAUAGGfCAfGGfUG sfGsA
1031	S460	GsGsGACAGUfAfUfUCUCAGUGC sUsU	968	AS460	GsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfC CsUsU
1032	S461	GsAsCAGUAUfUfCfUCAGUGCUC sUsU	969	AS461	GsfAsGfCAfCUfGAGAAUfACfUGfU CsCsC
1033	S462	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	970	AS462	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCs fUsC
1039	S468	GsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAG UsGsU	976	AS468	AsfCsAfCUfGAfGAfAUACfUGfUCfGC sUsC
1110	S539	AsAsGCGACAfGfUfAUUCUCAGU sGsU	1024	AS516	AsfCsAfCUfGAfGAAUACfUGfUCfGCs fUsU
1121	S550	AsAsGGfGAfCfAfGUAAUUCUCAG UsGsA	1151	AS529	UsCsACUGfAGAAUfACfUGUCCCsUs U

其中，G=2'-O-甲基鸟苷酸，A=2'-O-甲基腺苷酸，U=2'-O-甲基尿苷酸，C=2'-O-甲基胞苷酸；fG=2'-氟鸟苷酸，fA=2'-氟腺苷酸，fU=2'-氟尿苷酸，fC=2'-氟胞苷酸，Gs=2'-O-甲基-3'-硫代鸟苷酸，As=2'-O-甲基-3'-硫代腺苷酸，Us=2'-O-甲基-3'-硫代尿苷酸，Cs=2'-O-甲基-3'-硫代胞苷酸，fGs=2'-氟-3'-硫代鸟苷酸，fAs=2'-氟-3'-硫代腺苷酸，fUs=2'-氟-3'-硫代尿苷酸，fCs=2'-氟-3'-硫代胞苷酸，T=胸苷酸。

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述 RNA 抑制剂还含有载体结构，其结构如式 Ia、Ib 或 Ic 所示：

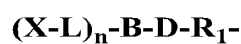




其中，

所述载体结构包括 5'MVIP 和 3'MVIP；

所述 5'MVIP 由转接点 R_1 、连接链 D、接头 B、支链 L 和肝靶向特异性配体 X 组成，其通过转接点 R_1 与正义链 5'端或反义链 5'端连接，其结构如通式 I 所示：



I

所述 3'MVIP 由转接点 R_2 、连接链 D、接头 B、支链 L 和肝靶向特异性配体 X 组成，其通过转接点 R_2 与正义链 3'端或反义链 3'端连接，其结构如通式 II 所示：

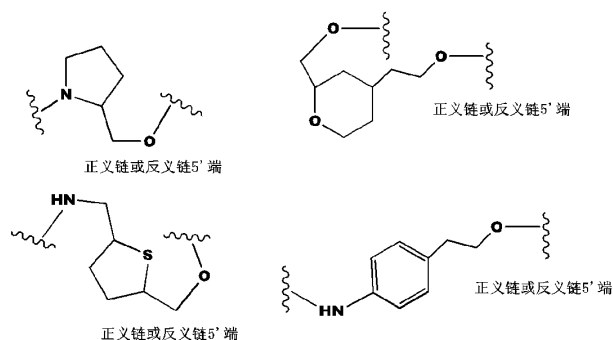


II

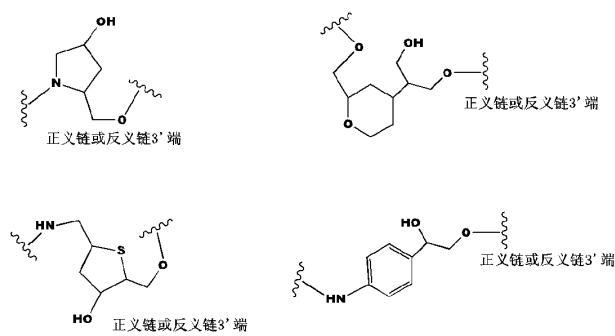
其中，

n 和 m 各自独立地为 0-4 的任意整数，各自独立地优选为 1-3 的整数，且 $n+m=2-6$ 的整数，优选 $n+m=2$ 、3 或 4，更优选为 4；

所述转接点 R_1 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构：

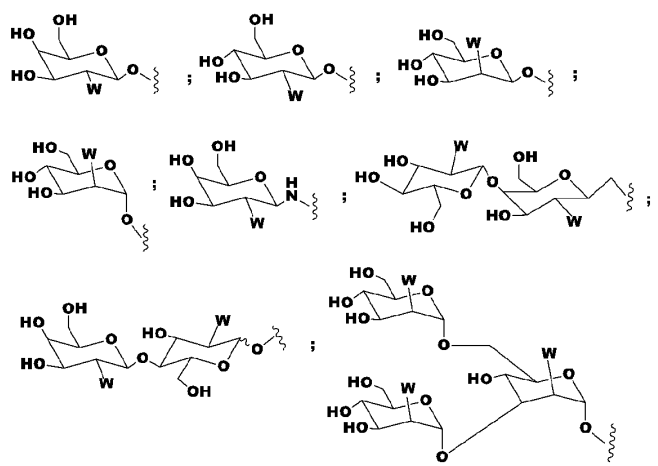


或者, 所述 R_1 为 $-NH(CH_2)_xCH_2O-$, 其中 x 为 3-12 的任意整数, 优选为 4-6 的任意整数; 所述转接点 R_2 为如下所示的含有 N、S 或 O 的杂环或碳环结构:



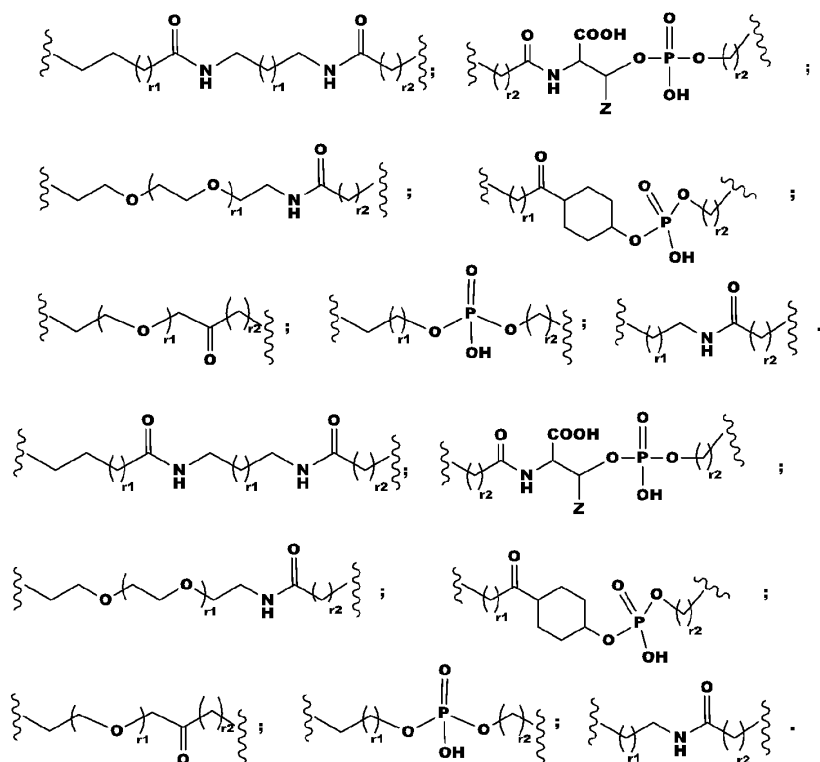
或者,所述转接点 R_2 为 $-NH(CH_2)_{x1}CH(OH)(CH_2)_{x2}CH_2O-$, 其中 $x1$ 为 1-4 的任意整数, $x2$ 为 0-4 的任意整数;

所述肝靶向特异性配体 X 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同, 其选自单糖及其衍生物, 优选为 N-乙酰半乳糖胺及其衍生物, 更优选地选自以下结构:



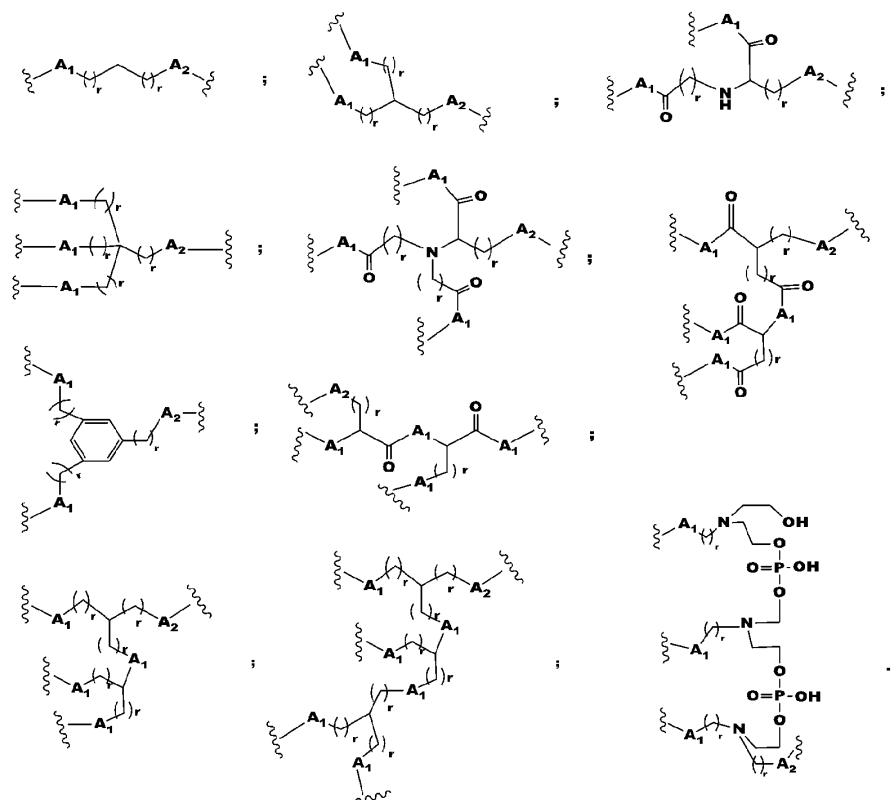
其中, W 选自 -OH、-NHCOOH 和 -NHCO(CH₂)_qCH₃ 中的一种或两种, 其中 q 为 0-4 的整数;

所述支链 L 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同,其选自如下结构中的一种或多种:



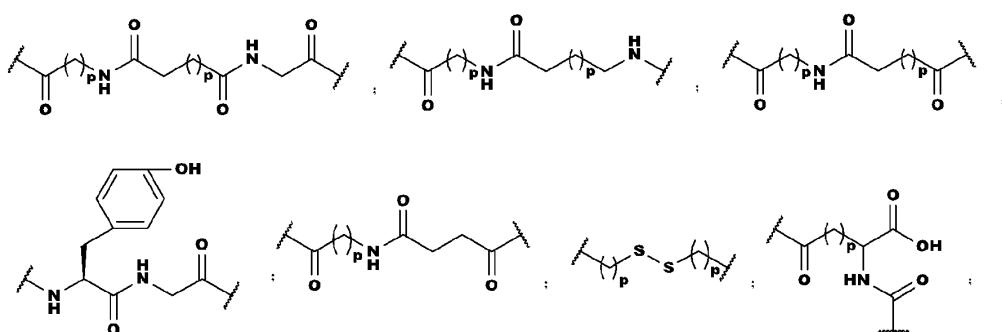
其中, r_1 是 1-12 的任意整数, r_2 为 0-20 的任意整数, Z 为 H、烷基或酰胺基, 所述烷基如 $\text{C}_1\text{-C}_5$ 烷基;

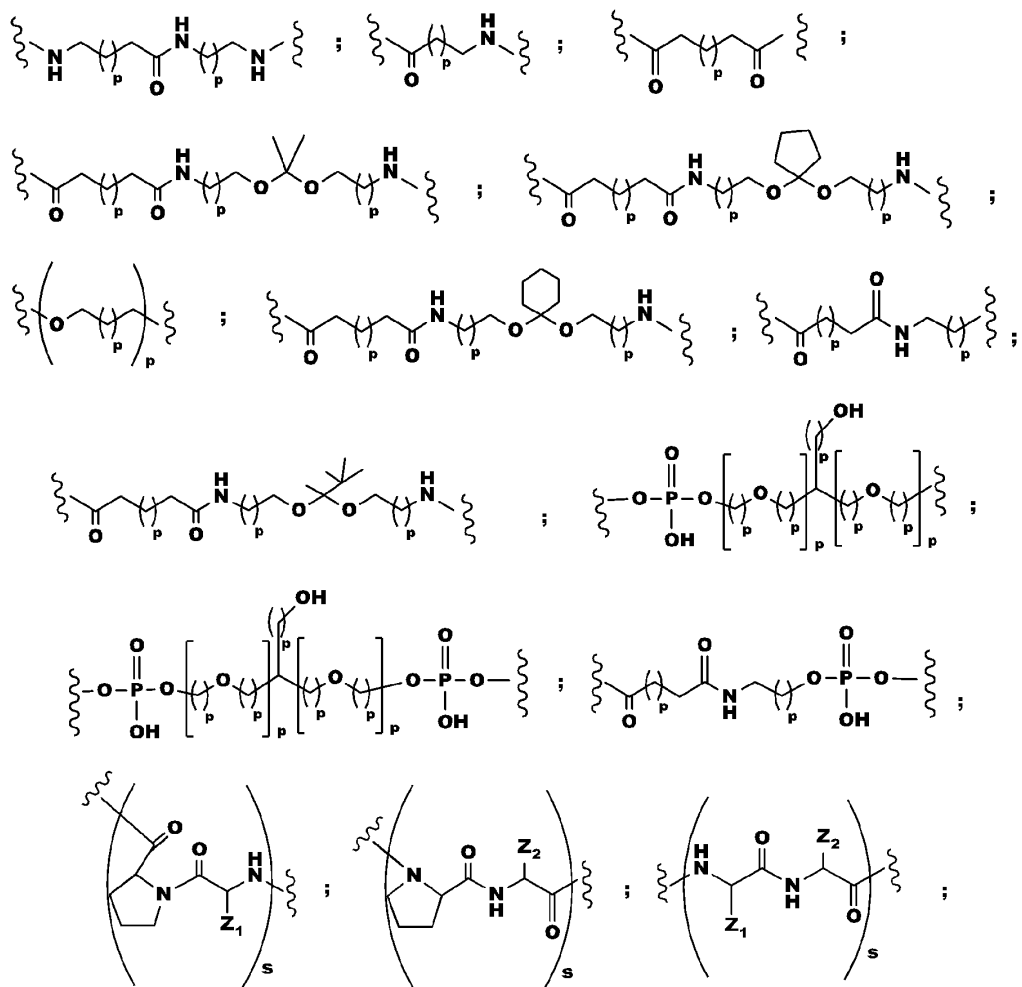
所述接头 B 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同, 其选自以下结构:

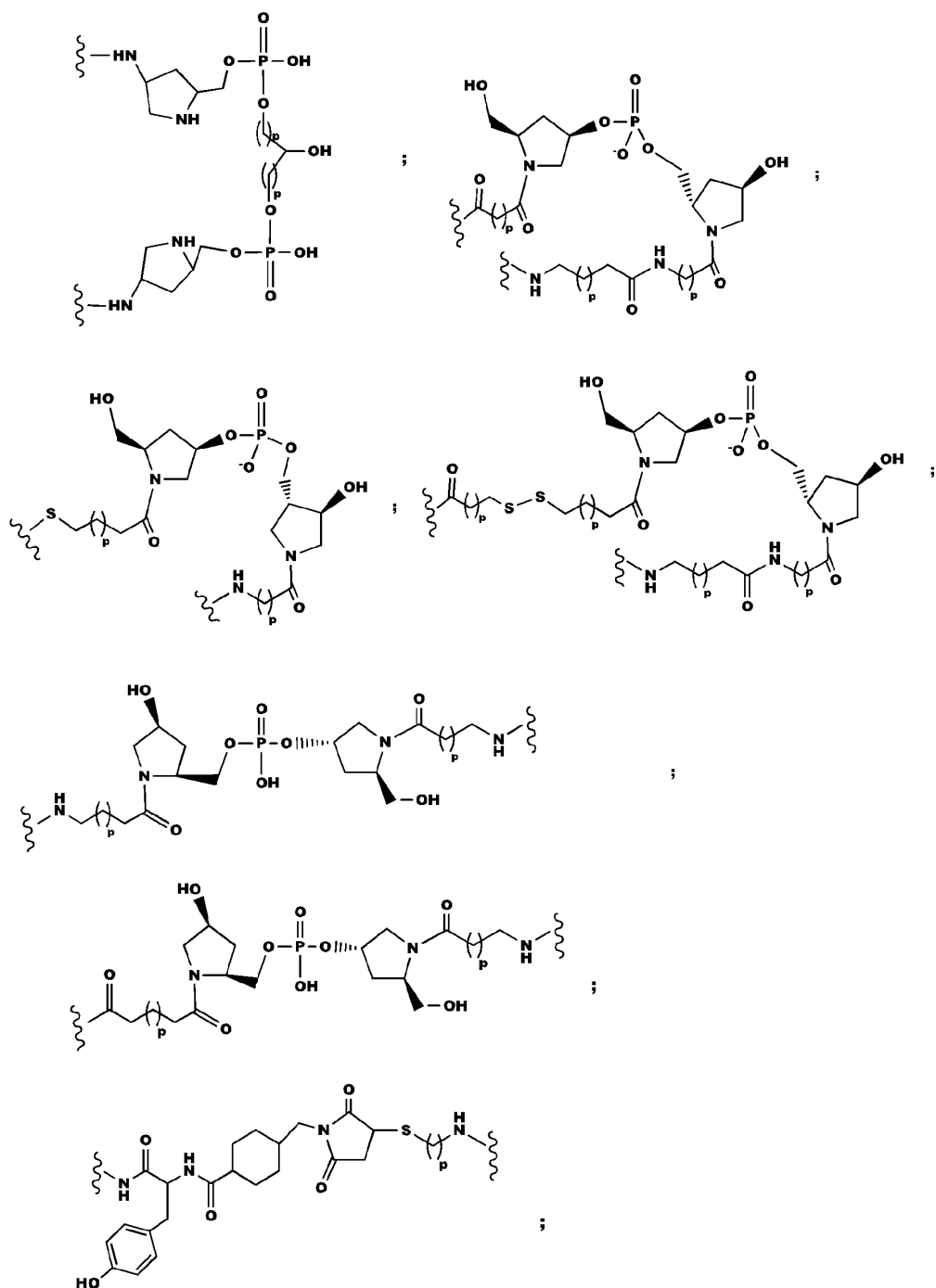


其中, A_1 和 A_2 各自独立地是 C、O、S、-NH-、羰基、酰胺基、磷酰基或硫代磷酰基, r 为 0-4 的任意整数;

所述连接链 D 在 5'MVIP 与 3'MVIP 各自的内部或 5'MVIP 与 3'MVIP 之间相同或不同, 其选自以下结构:

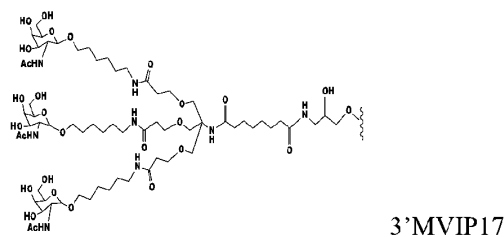
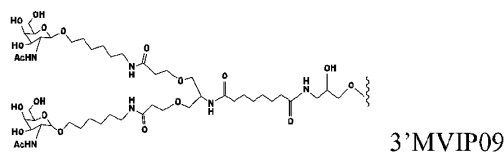
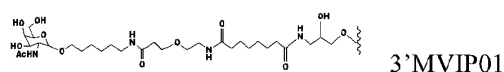
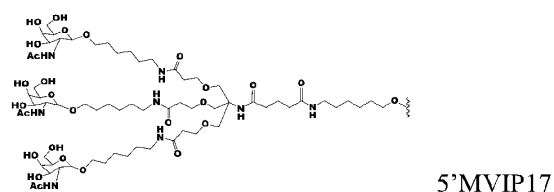
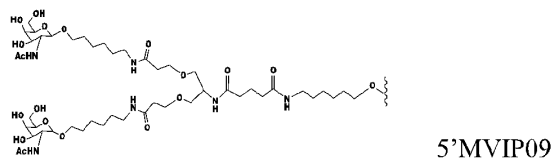
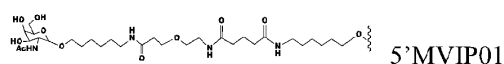






其中，每个 p 各自独立地为 1-20 的任意整数； s 为 2-13 的任意整数； Z_1 和 Z_2 为相同或者不同的取代基团。

9. 根据权利要求 8 所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐，其特征在于，所述 5'MVIP 为如下所示的 5'MVIP01、5'MVIP09 或 5'MVIP17，所述 3'MVIP 为如下所示的 3'MVIP01、3'MVIP09 或 3'MVIP17：



10. 根据权利要求 9 所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述正义链 5'端的载体结构为 5'MVIP17, 所述正义链 3'端的载体结构为 3'MVIP17, 所述正义链 5'MVIP 和反义链 3'MVIP 的组合为 5'MVIP01/3'MVIP01、5'MVIP01/3'MVIP17、5'MVIP17/3'MVIP01 或 5'MVIP09/3'MVIP09, 或者所述正义链 5'MVIP 和正义链 3'MVIP 的组合 5'MVIP01/3'MVIP09、5'MVIP09/3'MVIP01 或 5'MVIP01/3'MVIP01。

11. 根据权利要求 9 所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐, 其特征在于, 所述 RNA 抑制剂选自 Ky-12-DS23001、Ky-12-DS25001、Ky-12-DS25401、Ky-12-DS29701、Ky-12-DS29801、Ky-12-DS31701、Ky-12-DS31702、Ky-12-DS31703、Ky-12-DS31704、Ky-12-DS31705、Ky-12-DS31706、Ky-12-DS31707、Ky-12-DS31708、Ky-12-DS31709、Ky-12-DS31711、Ky-12-DS31712、Ky-12-DS31713、Ky-12-DS33001、Ky-12-DS33006、Kylo-12-DS1071、Kylo-12-DS1081、Kylo-12-DS1131、Kylo-12-DS1141、Kylo-12-DS1241、Kylo-12-DS1311、Kylo-12-DS1321、Kylo-12-DS5911、Kylo-12-DS2911、Kylo-12-DS2611、Kylo-12-DS2311、Kylo-12-DS3111 和 Kylo-12-DS5411 中。

12. 根据权利要求 1-11 中任一项所述的 RNA 抑制剂或其药学上可接受的盐在制备用于治疗或/和预防与含 APOC3 的水平升高相关的疾病的药物中的应用, 其特征在于, 所述与含 APOC3

的水平升高相关的疾病包括肝源性疾病，其包括炎性、心脑血管和代谢疾病，其中，所述心脑血管疾病包括高脂血症、中风、动脉粥样硬化、血栓形成、冠心病、主动脉瓣狭窄、高甘油三酯血症（HTG）、严重高甘油三酯血症(sHTG)或家族性乳糜微粒血症综合征(FCS)。

13、一种药物组合物，其特征在于，该药物组合物包括权利要求 1-11 中任一项所述的 APOC3 抑制剂或其药学上可接受的盐以及药学上可接受的辅料，所述药物组合物为口服剂、静脉注射剂或者皮下或肌肉注射剂，优选为皮下注射剂。