

圖 1



【發明摘要】

【中文發明名稱】 靶向血管緊張素原的核酸及其用途

【中文】

本發明涉及生物技術領域，公開了一種靶向血管緊張素原的核酸及其用途。
本發明的核酸能夠有效抑制AGT 的表達，且能有效降低RAAS 啟動程度，從而
能夠用於治療和/或預防高血壓等與AGT相關的疾病。

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 靶向血管緊張素原的核酸及其用途

【技術領域】

【0001】 本發明要求2023年06月16日提交的申請號為202310718430.6的中國專利申請的優先權，其全部內容通過引入併入本文。

【0002】 本發明屬於生物技術領域，具體地，涉及靶向血管緊張素原的核酸及其用途。

【先前技術】

【0003】 腎素-血管緊張素-醛固酮系統（renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS）是一種由多種蛋白酶和短肽組成的複雜網路調節系統，是心血管和腎功能的一種重要調節因素，該系統的過度啟動是很多常見病理狀況的中心環節，包括高血壓、心力衰竭和腎臟疾病（Lu H et al. Hypertension Res. 39:492-500，2016）。RAAS 途徑始於腎素使其底物血管緊張素原（Angiotensinogen）分解，產生無活性肽血管緊張素I（Angiotensin I, Ang I），隨後內皮細胞中的血管緊張素轉化酶（angiotensin-converting enzyme, ACE）將AngI轉化為血管緊張素II（Angiotensin II, Ang II），Ang II的ACE 活化在肺部最為廣泛，Ang II介導血管收縮以及腎上腺釋放醛固酮，從而導致鈉瀦留和血壓升高。

【0004】 RAAS 抑制劑包括ACE 抑制劑、Ang II受體拮抗劑（angiotensin II receptor blockers，ARBs）、醛固酮拮抗劑和直接腎素抑制劑等，RAAS 抑制劑是目前高血壓治療、心力衰竭預防和治療的重要藥物，臨床上應用廣泛

(Schmieder RE et al. Lancet. 369 (9568):1208-1219; Antonaccio MJ. J Pharmacol. 14:29-45, 1983; Ruiz-Ortega M et al. Trends Cardiovasc Med. 17(1): 19-25, 2007 ; Matsubara H. Cric Res. 83(12):1182-1191, 1998) 。 ACE 抑制劑及 Ang II 受體拮抗劑能夠啟動代償通路從而導致血管緊張素再度活化和醛固酮突圍造成血液 Ang II 及醛固酮濃度回到治療前甚至更高的水準 (Nobakht N et al. Nat Rev Nephrol. 7:356-359, 2011; Bomback AS and Klemmer PJ. Nat Clin Pract Nephrol. 3:486-492, 2007) 。這可能是頑固性高血壓和心衰病人對 RAAS 抑制藥物反應不佳的重要因素 (Narayan H and Webb DJ. Curr Hypertens Rep. 18:34, 2016, Roig E et al. Eur Heart J. 21: 53-57, 2000) ，所以，更為有效的治療策略應該是靶向 RAAS 酶和受體的上游，避免限制治療效果的代償機制和胞內分泌通路 (Mullick AE et al. Hypertension. 70(3):566-576, 2017) 。

【0005】血管緊張素原 (Angiotensinogen, AGT ，又為 SERPINA8 ， ANHU, hFLT1) 是所有血管緊張素的共同前體 (Wu C et al. Am J Med Sci. 4:183-190, 2011; Lu H et al. Hypertens Res 39 : 492-500 , 2016) ，肝臟是血液 AGT 的主要來源 (Yiannilouris G et al. Hypertension. 66:836-842, 2015; Matsusaka T et al. J Am Soc Nephrol. 23:1181-1189, 2012) 。多項研究證實，血液 AGT 濃度升高和高血壓呈顯著正相關 (Fasola AF et al. J Appl Physiol. 21:1709-1712, 1966) ，降低血液 AGT 濃度能夠抑制 RAAS 通路的活性並導致血壓下降 (Olearczyk J et al. Hypertension Res. 37:405-412, 2014) ，靜脈輸注 AGT 給大鼠能增高血壓，並可通過採用抗 AGT 抗體治療逆轉 (Menard J et al. Hypertension. 18:705-707, 1991) ， AGT-基因敲除小鼠血壓降低，而 AGT-過度表達導致血壓上升 (Kim HS et al. Proc Natl Acad Sci USA 92:2735-2739, 1995; Kimura S et al. Embo J. 11:821-827, 1982) 。

通過調控AGT 的水準治療高血壓是很有希望的研發靶點，然而採用傳統手段靶向AGT 遇到諸多困難（Morgan L et al. Int J Biochem Cell Biol.28:1211-1222, 1996）。

【0006】 RNA 干擾(RNA interference, RNAi)指在進化過程中高度保守的、由雙鏈小干擾核糖核酸（small interference RNA，siRNA）誘發的同源 mRNA 高效特異性降解的現象。因此，研究開發靶向AGT 的siRNA 具有重要的意義。

【發明內容】

【0007】 本發明的目的是為了克服現有技術存在的問題，提供一種新的靶向AGT 的核酸及其用途。

【0008】 本發明第一方面提供了一種核酸，該核酸包括正義鏈和反義鏈，其中，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：1-26 任意一項所示序列具有80%以上的序列同一性的序列，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：27-52任意一項所示序列具有80%以上的序列同一性的序列。

【0009】 本發明第二方面提供了一種靶向藥物遞送系統，該靶向藥物遞送系統包括靶向基團、連接基團和通過連接基團與靶向基團連接的如上所述的核酸。

【0010】 本發明協力廠商面提供了一種藥物組合物，該藥物組合物含有如上所述的核酸或靶向藥物遞送系統和藥學上可接受的載體。

【0011】 本發明第四方面提供了一種抑制細胞中血管緊張素基因的表達的方法，該方法包括：使所述細胞與如上所述的核酸、靶向藥物遞送系統或藥物組合物接觸，以抑制所述細胞中的血管緊張素基因的表達。

【0012】 本發明第五方面提供了如上所述的核酸、靶向藥物遞送系統或藥物組合物在以下任一方面的用途：1) 治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病；2) 製備用於治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病的藥物。

【0013】 本發明的發明人發現，腎素-血管緊張素-醛固酮系統中，AGT 是 RNAi 最適合的靶點，因此，本發明提供了一種新的靶向AGT 的核酸及其用途。本發明的核酸能夠有效抑制AGT 的表達，且能有效降低RAAS 啟動程度，從而能夠用於治療和/或預防高血壓等與AGT相關的疾病。

【圖式簡單說明】

【0014】 為了更清楚地說明本發明具體實施方式或現有技術中的技術方案，下面將對具體實施方式或現有技術描述中所需要使用的附圖作簡單地介紹，顯而易見地，下面描述中的附圖是本發明的一些實施方式，對於本領域普通技術人員來講，在不付出創造性勞動的前提下，還可以根據這些附圖獲得其他的附圖。

圖1為本發明實施例中SN-682160，SN-682172，SN-682173，SN-682175和SN-682176在人源AGT轉基因小鼠中的藥效。

圖2為本發明實施例中SN-682726與SN-682728在人源AGT轉基因小鼠中的藥效。

圖3為本發明實施例中SN-682726與SN-2073在人源AGT轉基因小鼠中的藥效。

【實施方式】

【0015】 以下對本發明的具體實施方式進行詳細說明。應當理解的是，此處所描述的具體實施方式僅用於說明和解釋本發明，並不用於限制本發明，本領域技術人員可以對本發明進行多種修改和變化而不背離本發明的範圍或精神。例如，作為一個實施方式的部分而說明或描述的特徵可以用於另一實施方式中，來產生更進一步的實施方式。

【0016】 術語解釋

【0017】 除非另有說明，用於披露本發明的所有術語（包括技術和科學術語）的意義與本發明所屬領域普通技術人員所通常理解的相同。通過進一步的指導，隨後的定義用於更好地理解本發明的教導。本文中在本發明的說明書中所使用的術語只是為了描述具體的實施例的目的，不是旨在於限制本發明。

【0018】 本文所使用的術語“和/或”、“或/和”、“及/或”的選擇範圍包括兩個或兩個以上相關所列項目中任一個項目，也包括相關所列專案的任意的和所有的組合，所述任意的和所有的組合包括任意的兩個相關所列項目、任意的更多個相關所列專案、或者全部相關所列專案的組合。需要說明的是，當用至少兩個選自“和/或”、“或/和”、“及/或”的連詞組合連接至少三個專案時，應當理解，在本申請中，該技術方案毫無疑問地包括均用“邏輯與”連接的技術方案，還毫無疑問地包括均用“邏輯或”連接的技術方案。比如，“A及/或B”包括A、B和A+B三種並列方案。又比如，“A，及/或，B，及/或，C，及/或，D”的技術方案，包括A、B、C、D中任一項（也即均用“邏輯或”連接的技術方案），也包括A、B、C、D的任意的和所有的組合，也即包括A、B、C、D中任兩項或任三項的組合，還包括A、B、C、D的四項組合（也即均用“邏輯與”連接的技術方案）。

【0019】 本發明中所使用的術語“含有”、“包含”和“包括”是同義詞，其是包容性或開放式的，不排除額外的、未被引述的成員、元素或方法步驟。

【0020】本發明中用端點表示的數值範圍包括該範圍內所包含的所有數值及分數，以及所引述的端點。

【0021】本發明中涉及濃度數值，其含義包括在一定範圍內的波動。比如，可以在相應的精度範圍內波動。比如2%，可以允許 $\pm 0.1\%$ 範圍內波動。對於數值較大或無需過於精細控制的數值，還允許其含義包括更大波動。比如100mM，可以允許 $\pm 1\%$ 、 $\pm 2\%$ 、 $\pm 5\%$ 等範圍內的波動。涉及分子量，允許其含義包括 $\pm 10\%$ 的波動。

【0022】本發明中，涉及“多個”、“多種”等描述，如無特別限定，指在數量上指大於等於2。

【0023】本發明中，以開放式描述的技术特徵中，包括所列舉特徵組成的封閉式技術方案，也包括包含所列舉特徵的開放式技術方案。

【0024】本發明中，“優選”、“更好”、“更佳”、“為宜”僅為描述效果更好的實施方式或實施例，應當理解，並不構成對本發明保護範圍的限制。

【0025】本發明中，“任選地”、“任選的”、“任選”、“可選地”、“可選的”、“可選”，指可有可無，也即指選自“有”或“無”兩種並列方案中的任一種。如果一個技術方案中出現多處“任選”或“可選”，如無特別說明，且無矛盾之處或相互制約關係，則每項“任選”或“可選”各自獨立。

【0026】本發明中，術語“核酸”是指含有RNA或RNA樣（例如化學修飾的RNA）寡核苷酸分子的組合物，所述寡核苷酸分子能夠以序列特異性方式降解或抑制（例如，在適當的條件下降解或抑制）靶mRNA的信使RNA（mRNA）轉錄物的翻譯。所述的核酸可以通過RNA干擾機制（即，通過與哺乳動物細胞的RNA干擾途徑機制（RNA誘導沉默複合物或RISC）的相互作用而誘導RNA干擾）、或通過任何替代機制或途徑來起作用。本文公開的包括正義鏈和反義鏈的核酸的下的限定範圍包括但不限於：短（或小）干擾RNA（siRNA）、雙鏈RNA

(dsRNA)、微小RNA(miRNA)、短髮夾RNA(shRNA)和切丁酶(dicer)底物。

【0027】本發明中，當提及給定基因的表達時，術語“沉默”、“降低”、“抑制”、“下調”或“敲減”，意指如通過基因在其中轉錄的細胞、細胞群、組織、器官或受試者中，由基因轉錄的RNA水準或者由mRNA翻譯的多肽、蛋白質或蛋白質亞基的水準測量的，與未如此治療的第二細胞、細胞群、組織、器官或受試者相比，當細胞、細胞群、組織、器官或受試者用本文所述的核酸進行治療時，所述基因的表達是降低的。

【0028】本發明中，“完全互補的”意指在核鹼基或核苷酸序列分子的雜交對中，第一寡核苷酸的鄰接序列中的所有(100%)鹼基，與第二寡核苷酸的鄰接序列中的相同數目的鹼基雜交。鄰接序列可以包含第一核苷酸序列或第二核苷酸序列的全部或部分。

【0029】本發明中，“部分互補的”意指在核鹼基或核苷酸序列分子的雜交對中，第一寡核苷酸的鄰接序列中的至少70%但並非全部鹼基，與第二寡核苷酸的鄰接序列中的相同數目的鹼基雜交。鄰接序列可以包含第一核苷酸序列或第二核苷酸序列的全部或部分。

【0030】本發明中，“基本上互補的”意指在核鹼基或核苷酸序列分子的雜交對中，第一寡核苷酸的鄰接序列中的至少85%但並非全部鹼基，與第二寡核苷酸的鄰接序列中的相同數目的鹼基雜交。鄰接序列可以包含第一核苷酸序列或第二核苷酸序列的全部或部分。

【0031】本發明中，當提及“至少部分互補的”，意指在核鹼基或核苷酸序列分子的雜交對中，第一寡核苷酸與第二寡核苷酸為部分互補的、基本上互補的或完全互補的。

【0032】 本發明中，術語“治療”意指為了提供受試者中的一種或多種疾病症狀的數目、嚴重性和/或頻率的緩解或減輕而採取的方法或步驟。所述的治療可以包括受試者中的一種或多種疾病症狀的數目、嚴重性和/或頻率的預防、管理、預防性治療、和/或抑制或降低。

【0033】 本發明中，術語“連接”意指兩種化合物或分子通過共價鍵進行接合。。除非另有說明，否則如本文使用的，術語“連接”可以指具有或不具有任何中間原子或原子群的第一化合物和第二化合物之間的連接。

【0034】 核酸

【0035】 本發明提供了一種（被修飾或未被修飾的）核酸，該核酸包括正義鏈和反義鏈，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：1~26 任意一項所示序列具有80%（如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%）以上的序列同一性的序列，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：27~52 任意一項所示序列具有80%（如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%）以上的序列同一性的序列。

【0036】 在一些實施方式中，所述反義鏈具有15~30（如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30）個核苷酸（鹼基）。

【0037】 在一些實施方式中，所述正義鏈具有15~30（如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30）個核苷酸（鹼基）。

【0038】 在具體實施時，本領域人員可以結合正義鏈和反義鏈的互補性考慮而對本發明中所提供的序列而進行組合，從而得到組合後的核酸（siRNA）。

【0039】 在本發明的優選實施方式中，如表1 所示，所述核酸選自正義鏈序列為 SEQ ID NO：1 且反義鏈序列為 SEQ ID NO：27 的 siRNA-1、正義鏈序列為 SEQ ID NO：2 且反義鏈序列為 SEQ ID NO：28 的 siRNA-2、正義鏈序列為

SEQ ID NO：3 且反義鏈序列為 SEQ ID NO：29 的 siRNA-3、正義鏈序列為 SEQ ID NO：4 且反義鏈序列為 SEQ ID NO：30 的 siRNA-4、正義鏈序列為 SEQ ID NO：5 且反義鏈序列為 SEQ ID NO：31 的 siRNA-5.....、siRNA-24、siRNA-25、siRNA-26 中的至少一種。

【0040】 在一些優選的實施方式中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：27~52 任意一項所示序列相差不超過0個、1個、2個或3個核苷酸的至少15、16、17、18、19、20、21、22或23個連續核苷酸，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的（如部分互補的、基本上互補的或完全互補的）核苷酸序列。

【0041】 在一些優選的實施方式中，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：1~26 任意一項所示序列相差不超過0個、1個、2個或3個核苷酸的至少15、16、17、18、19、20或21個連續核苷酸。

【0042】 本發明中，所述正義鏈和反義鏈可以具有相同的長度，也可以具有不同的長度。

【0043】 上述核酸中所有核苷酸基團可以是未經化學修飾的，也可以含有至少一個修飾的核苷酸基團，且修飾可以在任意位置的核苷酸上。

【0044】 在一些實施方式中，所述正義鏈和反義鏈可以是彼此部分互補、基本上互補或完全互補的。

【0045】 在一些優選的實施方式中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：29、32、38、40、41、42、43、44中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的（如部分互補的、基本上互補的或完全互補的）核苷酸序列。當反義鏈具有上述序列時，雙鏈RNA對 AGT具有顯著更優的抑制效果。

【0046】 在一些優選的實施方式中，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：3、6、12、14、15、16、17、18中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【0047】 在一些更優選的實施方式中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：29、40、41、43、44中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列。

【0048】 在一些優選的實施方式中，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：3、14、15、17、18中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【0049】 在一些進一步優選的實施方式中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：40所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的（如部分互補的、基本上互補的或完全互補的）核苷酸序列。當反義鏈具有該序列時，經過不同修飾的雙鏈RNA對AGT的均具有較優的抑制效果。

【0050】 在一些優選的實施方式中，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：14所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【0051】 在一些優選的實施方式中，所述核酸中的GC含量為20~45%，更優選為20~35%。

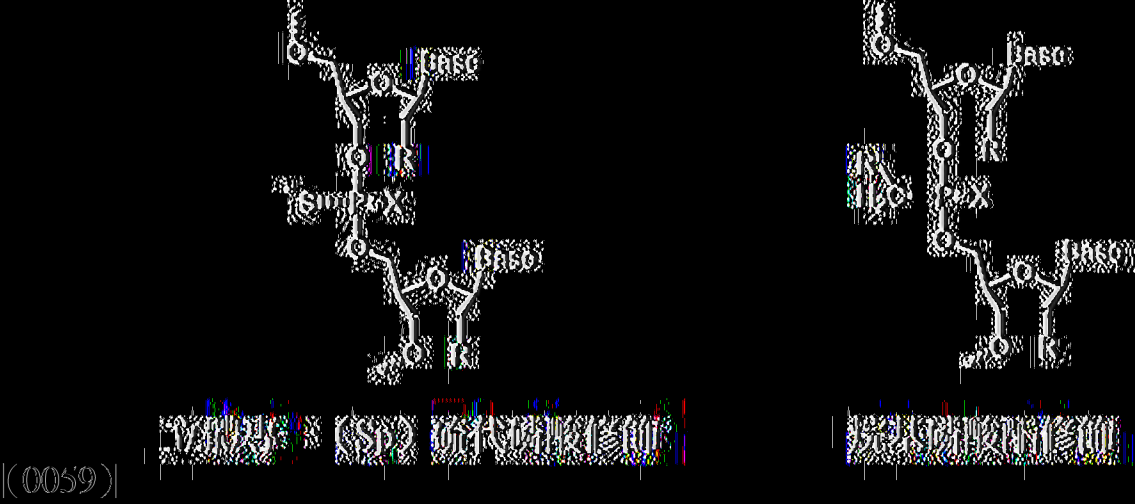
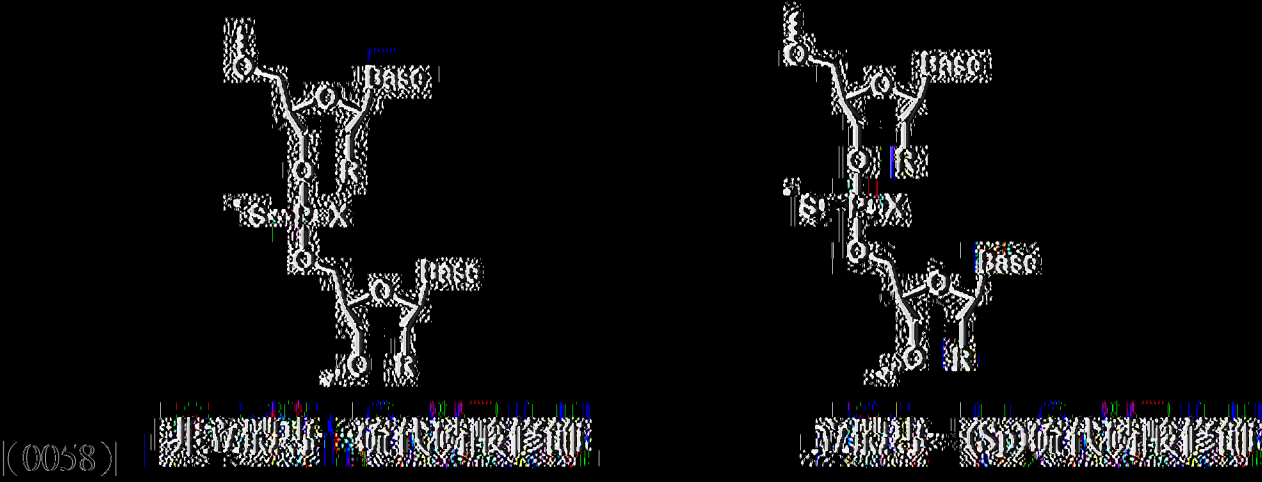
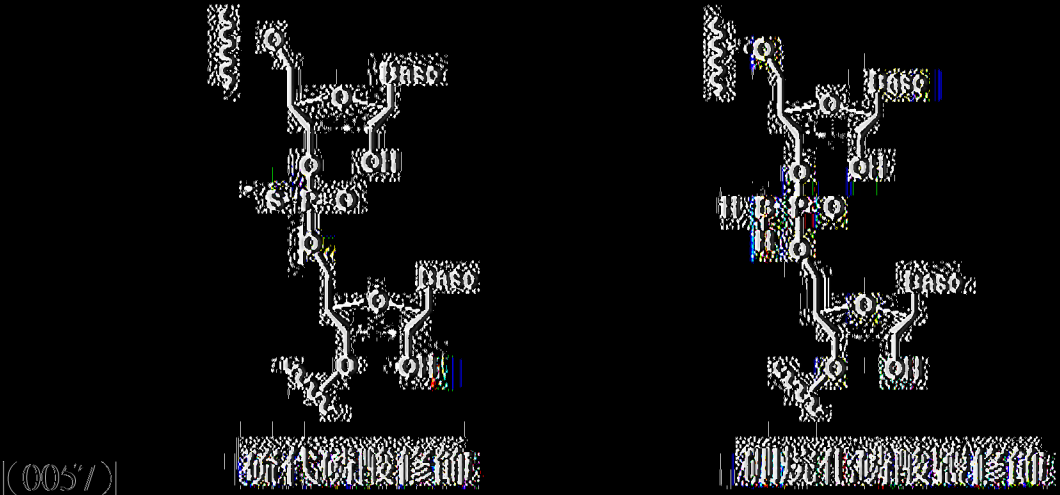
【0052】 在一些實施方式中，所述核酸中的正義鏈或反義鏈與本發明所提及的對應序列的序列同一性低於100%或相差1個以上核苷酸時，仍然具有與所述對應序列相近或相當的對AGT的抑制效果。例如，在所述核酸的反義鏈的3'端所連接的UU替換為AA，CC，GG 或UG等，或任何兩個核酸的組合。這樣的核酸序列也屬於本發明的保護範圍。

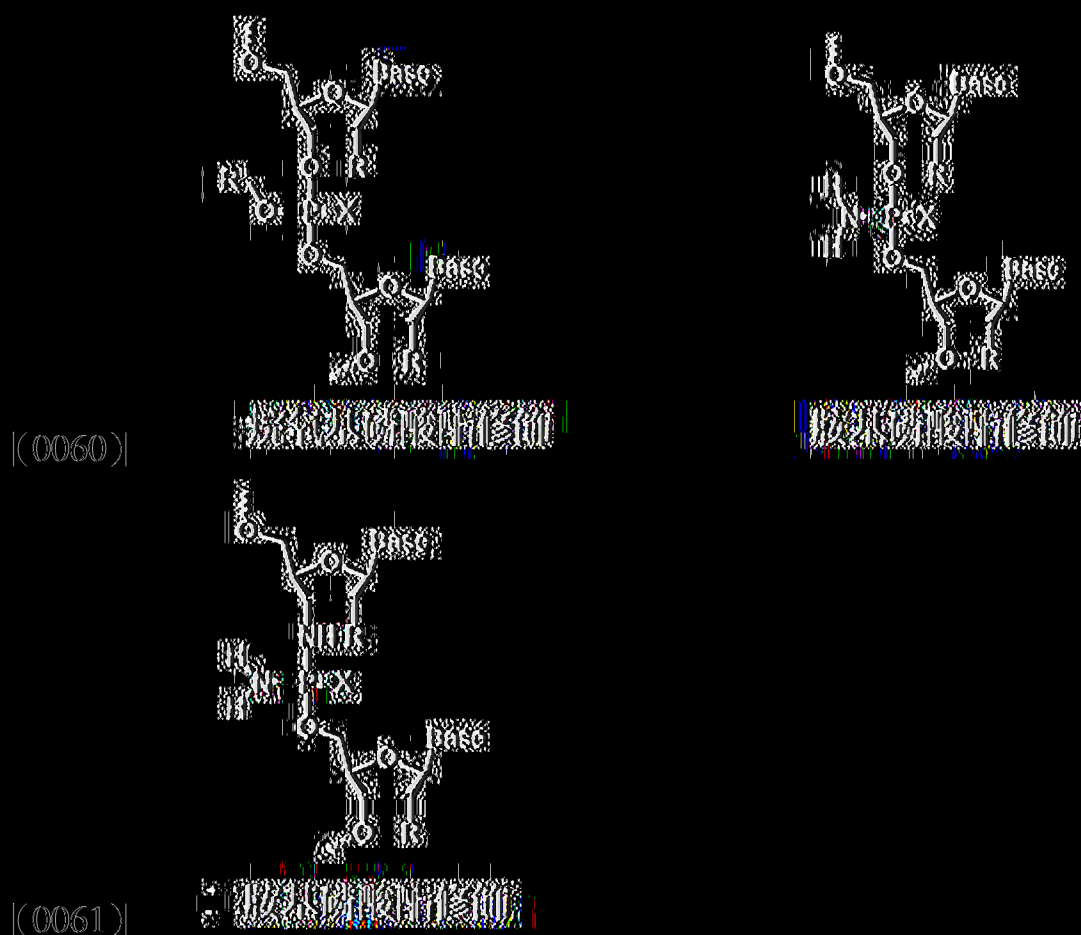
【0053】本發明中所提到的上述關於裸序列（即未經修飾的序列）的技術方案，其效果優勢並不依賴於修飾方法或靶向載體的選擇。以下對其可以適用的修飾方案及進一步優選的修飾方案進行展開介紹：

【0054】根據本發明所述的核酸，其中，所述核酸含有核苷酸基團作為基本結構單元，所述核苷酸基團含有磷酸基團、核糖基團和鹼基，優選情況下，所述核酸含有至少一個修飾的核苷酸基團。修飾後的核酸對AGT 的抑制效率不低於50%（如50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%）。

【0055】根據本發明所述的核酸，其中，所述修飾的核苷酸基團為磷酸基團和/或核糖基團被修飾的核苷酸基團。帶修飾的位點可以在正義鏈和/或反義鏈的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30 位核苷酸中的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30位上。

【0056】例如，磷酸基團的修飾是指對磷酸基團中的氧進行修飾，包括硫代磷酸修飾（Phosphorthioate）和硼烷化磷酸鹽修飾（Boranophosphate）等。如下式所示分別用硫、硼烷、胺基、烷基或烷氧基置換磷酸基團中的氧。這幾種修飾都能穩定核酸的結構，保持鹼基配對的高特異性和高親和力。

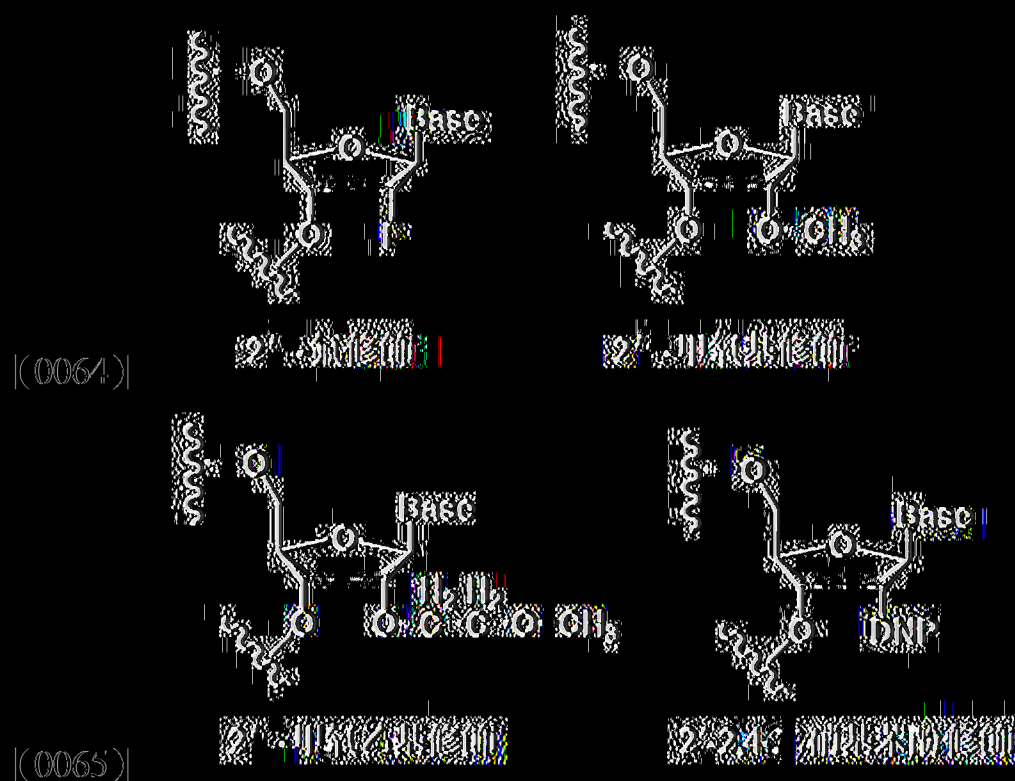


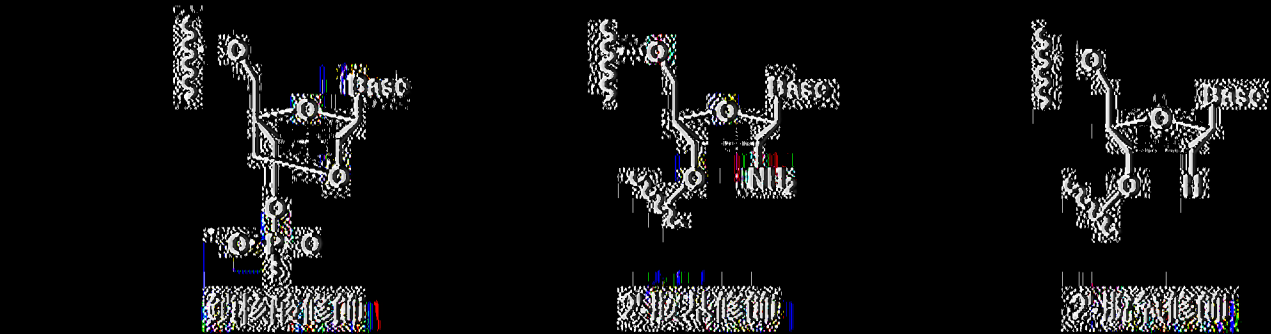


(0062) 以上結構式中，BASE 表示鹼基A、U、C、G 或T。X 可以是氧(O) 或硫(S)。R 在以上結構中可以是相同的，也可以是不同的，比如：氫(H)、氫(H)、甲氧基(OMe) 或甲氧乙基(MOE)、羥基、烯丙基、乙基、胺基、炔丙基、氨基、氨基乙基、乙醯基等，R'和R''可以各自獨立地是氫(H)、甲基(CH₃)、乙基(CH₂CH₃)、丙基(CH₂CH₂CH₃)、異丙基(CH(CH₃)₂)、烯丙基、炔丙基、醯氧基苄基、醯氧乙基。

(0063) 核糖基團的修飾是指對核糖基團中2'-羥基(2'-OH) 的修飾。在核糖基團的2'-羥基位置引入某些取代基如甲氧基或氫後，使核酸不易被核糖核酸酶切割，由此增加了核酸的穩定性，使核酸具有更強的抵抗核酸酶水解的性能。對核苷酸戊糖中2'-羥基的修飾包括2'-氫修飾(2'-fluoromodification, 如2'-arabino-fluoro modification)、2'-甲氧基修飾(2'-OMe)、2'-甲氧乙基修飾(2'-

MOE)、2',2,4'-三硝基苯酚修飾(2'-DNP modification)、環鎖乙基修飾(2',4'-constrained ethyl modification)、2'-氨基修飾(2'-Amino modification)、2'-去氧修飾(2'-Deoxy modification)、BNA、無環核酸修飾、錯位核酸修飾、L型核酸修飾等。BNA(內環橋接核苷)是指受約束的或不能接近的核苷酸。BNA可以含有五元環、六元環、或七元環的具有“固定的”C3'-內切糖縮酮的橋聯結構。通常將該橋併入該核糖環的2'、4'位處以提供2',4'-BNA核苷酸,如鎖乙基修飾(LNA)、環鎖乙基修飾(ENA)和乙基鎖核酸修飾(ethylBNA)。無環核酸是核苷酸的糖環被打開形成的核苷酸,如解鎖核酸(UNA)核苷酸和甘油核酸(GNA)核苷酸。錯位核酸修飾是指3',5'-磷酸鍵連結被2',5'-磷酸鍵鏈所代替。L型核酸修飾是指天然存在的D型核酸被替換為其鏡像立體對應體L型核酸。





(0070) 其中，BASE表示鹼基A、U、C、G或T。R在以上結構中可以是相同的，也可以是不同的，比如：氫(H)、氘(D)、甲氧基(OMe)或甲氧乙基(MOE)、羥基、烯丙基、乙基胺基、炔丙基、氨基乙基、乙醯基等。

【0071】 根據本發明所述的核酸，其中，優選情況下，核糖基團被修飾的核苷酸基團為核糖基團的2'-OH被甲氧基或氟取代的核苷酸基團。

【0072】 根據本發明的一種特別優選的實施方式，其中，所述核酸的正義鏈中含有尿嘧啶鹼基或胞嘧啶鹼基的核苷酸基團為所述核糖基團被修飾的核苷酸基團，即，所述核酸的正義鏈中含有尿嘧啶鹼基或胞嘧啶鹼基的核苷酸基團中的核糖基團的2'-OH 被甲氧基或氟取代。更優選地，所述核酸的正義鏈和反義鏈的3'端均可以連接有dTdT；或者，所述核酸的反義鏈的3'端可以連接有AA 或UU 或任何兩個核酸的組合（可以是但不局限於CC，GG 或UG），使序列具有特異性對mRNA 降解的誘因。具有以上修飾的核酸表現出更為優異的體內抑制效果，且上述修飾能夠進一步降低本發明的核酸在體內的免疫原性。

【0073】 本發明的核酸還可以包括在反義鏈5'端連接一單磷酸核苷的修飾。由於siRNA 導鏈終端的5'-單磷酸對於RISC 識別是重要的。其中5'-羥基的磷酸化對siRNA 能否有效地裝載到細胞內部的Ago2上起了一定程度的作用。在siRNA 中的導鏈5'端單磷酸鹽與Argonaute-2 (Ago2) 有H 鍵的相互作用，從而確保對mRNA 的靶標有準確定位和精確切割。常用的5'-單磷酸核苷的衍生物有如下幾種，此類磷酸核苷的衍生物已被證實在生物代謝介質中具有一定穩定性，對促進siRNA 導鏈裝載到細胞內部的Ago2 有一定作用（Nucleic Acids Research, 2015, 43, 2993–3011）。根據本發明所述的核酸，其中，優選情況下，反式-乙烯基磷酸酯（VP）作為首選，也可以包括上面所述以外的單磷酸核苷的衍生物。



(00/4)



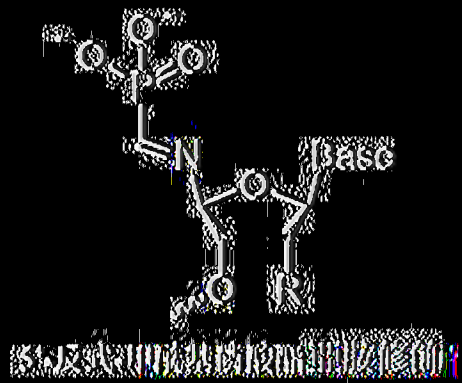
(00/5)

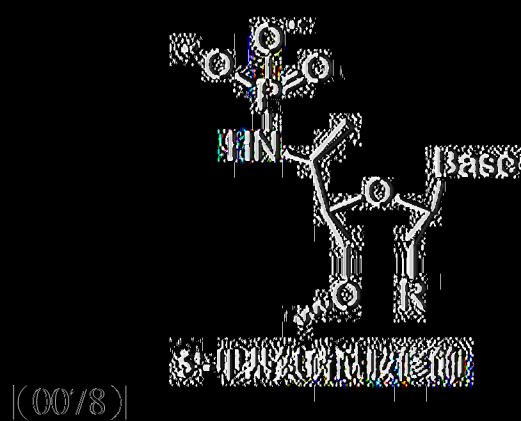


(00/6)



(00/7)





(0079) 以上結構中，BASE表示鹼基A、U、C、G或T。R在以上結構中可以是相同的，也可以是不同的，比如：氫（H）、氘（D）、甲氧基（OMe）或甲氧乙基（MOE）、羥基、烯丙基、乙基胺基、炔丙基、氨基乙基、氨基、乙醯基等。

(0080) 在一些實施方式中，所述核酸中的至少一個核苷酸是修飾的核苷酸或包括修飾的間鍵。

(0081) 在一些優選的實施方式中，所述修飾的核苷酸選自2'-O-甲基核苷酸、2'-氟核苷酸、2'-去氧核苷酸、2',3'-開環核苷酸模擬物、鎖定的核苷酸、2'-E-阿拉伯糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、脫鹼基核苷酸、核糖醇、反向核苷酸、反向2'-O-甲基核苷酸、反向2'-去氧核苷酸、2'-氨基修飾的核苷酸、2'-烷基修飾的核苷酸、嗎啉代核苷酸、含有乙烯基磷酸酯的核苷酸、含有環丙基磷酸酯的核苷酸和3'-O-甲基核苷酸中的一種或多種；所述修飾的核苷酸進一步優選自2'-O-甲基核苷酸和2'-氟核苷酸中的一種或多種。

(0082) 在一些優選的實施方式中，所述修飾的間鍵優選自硫代磷酸酯核苷酸間鍵和甲基磷酸酯核苷酸間鍵中的一種或多種；所述修飾的間鍵進一步優選自硫代磷酸酯二酯核苷酸間鍵、硫代磷酸二酯核苷酸間鍵中的一種或多種。

(0083) 在一些實施方式中，所述反義鏈從5'端計數的第5和6處核苷酸為2'-O-甲基核苷酸，第7處核苷酸為2'-氟核苷酸。在本發明所提及的任何序列的基

礎上，通過對反義鏈進行上述修飾，能夠進一步明顯改善siRNA對AGT的抑制效果。

【0084】 在一些優選的實施方式中，所述反義鏈的5'末端和3'末端處分別含有2個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在從5'端計數的第1、2、7、9、14和16處核苷酸為2'-氟核苷酸，其餘核苷酸均為2'-O-甲基核苷酸。

【0085】 在一些實施方式中，所述正義鏈從5'端計數的第2處核苷酸為2'-O-甲基核苷酸或2'-氟核苷酸，優選為2'-O-甲基核苷酸。通過對正義鏈進行如上修飾，能夠進一步改善siRNA對AGT的抑制效果。

【0086】 在一些優選的實施方式中，所述正義鏈的5'末端含有2個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在從5'端計數的第4、7、9、10和11處核苷酸為2'-氟核苷酸，其餘核苷酸均為2'-O-甲基核苷酸。

【0087】 在一些實施方式中，所述反義鏈具有如表3或表8中任意一種所示的反義鏈序列相差不超過0個、1個、2個或3個核苷酸的至少15、16、17、18、19、20、21、22或23個連續核苷酸，所述正義鏈具有如表3或表8中任意一種所示的正義鏈序列相差不超過0個、1個、2個或3個核苷酸的至少15、16、17、18、19、20或21個連續核苷酸。

【0088】 在一些實施方式中，所述正義鏈和反義鏈形成具有表4或表8中任意一種所示的siRNA。

【0089】 在一些實施方式中，所述反義鏈從5'端到3'端含有與以下核苷酸序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列：

【0090】 AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa；

【0091】 所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列。

【0092】 在一些實施方式中，所述正義鏈從5'端到3'端含有如以下任意一項核苷酸序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列：

【0093】 gsusuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu ；

【0094】 gsUfsuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu ；

【0095】 在本發明的各序列中，以小寫字母表示的核苷酸代表該核苷酸為2’-O-甲基核苷酸；f表示其左側相鄰的一個核苷酸為2’-氟修飾的核苷酸；s代表左右相鄰的兩個核苷酸之間通過硫代磷酸二酯鍵連接。

【0096】 根據本發明所述的核酸，可以通過本領域常規的方法獲得，例如通過固相合成和液相合成得到，所述固相合成已經有商業的訂制服務，因此可以通過商購獲得。所述修飾的核苷酸基團可以通過具有相應修飾的核苷酸單體引入。

【0097】 基於如上合成的核酸（siRNA），本發明可以進一步構建與上述siRNA 具有相同或相似功能的shRNA 表達質粒，構建該表達質粒的方法為本領域技術人員所公知，在此不再贅述。

【0098】 本發明還提供了如上所述的核酸的靶向基因位點。在一些實施方式中，所述靶向基因位點如表1第1列中的任意一項所標注。

【0099】 表1

靶 向 基 因 位 點	SE Q ID NO .	正義鏈（5’-3’）	SE Q ID NO .	反義鏈（5’-3’）
778	1	CCACGCUCUCUGGACUUCACA	27	UGUGAAGUCCAGAGAGCGUGGGA
977	2	UGGACAACAGCACCUCAGUGU	28	ACACUGAGGUGCUGUUGUCCA
1145	3	GUCUCACUUUCCAGCAAACU	29	AGUUUUGCUGGAAAGUGAGACU
1167	4	CCUCAACUGGAUGAAGAACU	30	AGUUUCUUCAUCCAGUUGAGGGA

145 0	5	UUCCUGUUUGCUGUGUA UGAU	31	AUCAUACACAGCAAACAG GAAUG
176 3	6	GCUGGGUUUAUUUUAGA GAAU	32	AUUCUCUAAAAUAAACCC AGCUU
176 4	7	CUGGGUUUAUUUUAGAG AAUG	33	CAUUCUCUAAAAUAAACC CAGUU
184 3	8	CCAACCGACCAGCUUGU UUGU	34	ACAAACAAGCUGGGUCGGU UGGAA
184 7	9	CCGACCAGCUUGUUUGU GAAA	35	UUUCACAAACAAGCUGGU CGGUU
184 9	10	GACCAGCUUGUUUGUGA AACA	36	UGUUUCACAAACAAGCUG GUCGG
184 9	11	GACCAGCUUGUUUGUGA AACA	37	UGUUUCACAAACAAGCUG GUCUU
185 1	12	CCAGCUUGUUUGUGAAA CAAA	38	UUUGUUUCACAAACAAGC UGGUC
185 4	13	GCUUGUUUGUGAAACAA AAAA	39	UUUUUUGUUUCACAAACA AGCUG
185 8	14	GUUUGUGAAACAAAAAA GUGU	40	ACACUUUUUUGUUUCACA AACA
186 8	15	CAAAAAAGUGUCCCCU UUCA	41	UGAAAAGGGAACACUUUU UUGUU
188 0	16	CCCUUUUCAAGUUGAGA ACAA	42	UUGUUCUCAACUUGAAAA GGGUU
189 3	17	GAGAACAAAAAUUGGGU UUUA	43	UAAAACCCAAUUUUUGUU CUCAA
189 5	18	GAACAAAAAUUGGGUUU UAAA	44	UUUAAAACCCAAUUUUUG UUCUC
193 4	19	GCAUUGCCUUCGGUUUG UAUU	45	AAUACAAACCGAAGGCAA UGCAA
193 5	20	CAUUGCCUUCGGUUUGU AUUU	46	AAAUACAAACCGAAGGCA AUGCA
194 0	21	CCUUCGGUUUGUAUUUA GUGU	47	ACACUAAAUACAAACCGA AGGCA
194 5	22	GGUUUGUAUUUAGUGUC UUGA	48	UCAAGACACUAAAUACAA ACCGA
195 0	23	GUAUUUAGUGUCUUGAA UGUA	49	UACAUUCAAGACACUAAA UACUU
195 9	24	GUGUCUUGAAUGUAAGA ACAU	50	AUGUUCUUACAUUCAAGA CACUU
196 1	25	GUCUUGAAUGUAAGAAC AUGA	51	UCAUGUUCUUACAUUCA GACAC

208 5	26	CCAUAGCUGGUUAUUUC UCCU	52	AGGAGAAAUAACCAGCUA UGGUU
----------	----	---------------------------	----	-----------------------------

【0100】 注：第1 列指靶向基因的首個鹼基在AGT 基因序列中的位置，以此類推；第2、4 列中數字表示序列編號，例如，“1”表示SEQ ID NO：1。

【0101】 人 AGT 的編碼序列（NM_001382817.3，SEQ ID NO：53）：

1 agaaagtaga cctcaccag gcatggaatc tgccagtgcc ttgatcttg acttcagct
61 tccagaactg gtatgcggaa gcgagcaccc cagtctgaga tggtcctgc cgtgtgagc
121 ctgagggccca ccactctctg cctcctggcc tgggctggcc tggtgcagg tgaccgggtg
181 tacatacacc cctccacct cgtcatccac aatgagagta cctgtgagca gctggcaaag
241 gccaatgccg ggaagcccaa agacccacc ttcatactg ctccaattca ggccaagaca
301 tcccctgtgg atgaaaaggc cctacaggac cagctggtgc tagtcgtgc aaaacttgac
361 accgaagaca agttgagggc cgcaatggtc gggatgctgg ccaacttctt gggcttcctg
421 atatatggca tgcacagtga gctatggggc gtgttccatg gggccaccgt cctctccca
481 acggctgtct ttggaccct ggctctctc tatctgggag ccttggaaca cacagctgac
541 aggtacagg caatcctggg tgttctctg aaggacaaga actgcacctc cggctggat
601 gcgcacaagg tctgtctgc cctgcaggct gtacagggcc tgctagtggc ccagggcagg
661 gctgatagcc aggccagct gctgctgtcc acggtggtgg gcgtgttcac agccccaggc
721 ctgcacctga agcagccgtt tgtgcagggc ctggctctct ataccctgt ggctctcca
781 cgctctctgg acttcacaga actggatgtt gctgctgaga agattgacag gttcatgcag
841 gctgtgacag gatggaagac tggctgtcc ctgatgggag ccagtgtgga cagcacctg
901 gctttcaaca cctacgtcca ctccaaggg aagatgaagg gcttctcct gctggccgag
961 ccccaggagt tctgggtgga caacagcacc tcagtgtctg tcccatgct ctctggcatg
1021 ggcaccttc agcactggag tgacatccag gacaactct cggtgactca agtgccttc
1081 actgagagcg cctgctgtg gctgatccag cctcactatg cctctgacct ggacaagggtg
1141 gagggctca cttccagca aaactccctc aactggatga agaaactatc tcccggacc
1201 atccacctga ccatgcccc actggtgctg caaggatctt atgacctga ggacctgctc
1261 gccaggtg agtgccccg cattctgcac accgagctga acctgcaaaa attgagcaat
1321 gaccgatca ggggtgggga ggtgctgaac agcattttt ttgagcttga agcggatgag
1381 agagagccca cagagtctac ccaacagctt aacaagcctg aggtcttga ggtgacctg
1441 aaccgccc atctgtttg tgtgtatgat caaagcgcca ctgccctgca ctctctgggc
1501 cgcgtggcca accgctgag cacagcatga ggccagggcc ccagaacaca gtgcctgga
1561 aggcctctgc cctggcctt tgaggcaaag gccagcagca gataacaacc cggacaaat
1621 cagcgatgtg tcaccccag tctccacct tttctctaa tgagtcgact ttgagctgga
1681 aagcagccgt tctccttg tctaagtgtg ctgcatggag tgagcagtag aagcctgcag
1741 cggcacaaat gcacctcca gtttctggg ttattttag agaattggggg tggggaggca
1801 agaaccagtg tttagcgcg gactactgtt ccaaaaagaa ttccaaccga ccagctgtt
1861 tgtgaacaa aaaagtgtt cttttcaag ttgagaacaa aaattgggtt taaaattaa
1921 agtatacat tttgcattgc ctctggttg tatttagtgt ctgaaatga agaacaatgac
1981 ctccgtgtag tgtgtgta accttagttt ttccacaga tgcctgtgat tttgaacaa
2041 tacgtgaaag atgcaagcac ctgaattct gttgaatgc ggaacatag ctggttatt2101 ctccctgtg tttagtaataa acgtcttgc
acaataagcc tccaaaa

【0102】 靶向藥物遞送系統

【0103】 本發明還提供了一種靶向藥物遞送系統，其特徵在於，該靶向藥物遞送系統包括靶向基團、連接基團和通過連接基團與靶向基團連接的如上所述的核酸。

【0104】 其中，所述靶向基團能夠進一步提高小核酸的靶向性，可以由單糖（例如葡萄糖、甘露糖、阿洛糖、阿卓糖、半乳糖、半乳糖胺、N-乙醯半乳糖胺、他洛糖、果糖、艾杜糖等）和/或多肽（例如蛋白質、單克隆抗體、納米體）提供。所述連接基團可以選自 $-O-[CH_2CH_2O]_n-$ 、 $-[CH_2]_m-CONH-[CH_2]_nO-$ 、 $-O-[CH_2CH_2O]_m-CONH-[CH_2]_nO-$ 、 $-O-[CH_2]_m-CONH-[CH_2H_2O]_nO-$ 。其中，m 和 n 可以各自獨立地為 1 到 10 的整數。

【0105】 結合本領域常識而將本發明的核酸（siRNA）在應用於不同的靶向藥物遞送系統時，均具有較優的抑制效果。換言之，本發明中想要保護的裸序列以及修飾後的序列，其效果並不依賴於靶向載體的選擇。為了進一步提高 siRNA 的生物利用度和治療效果，本發明還對靶向藥物遞送系統進行了優化，並得到了如下的技術方案。

【0106】 在一些實施方式中，所述連接基團與所述核酸的正義鏈或反義鏈的 3' 端或 5' 端連接。

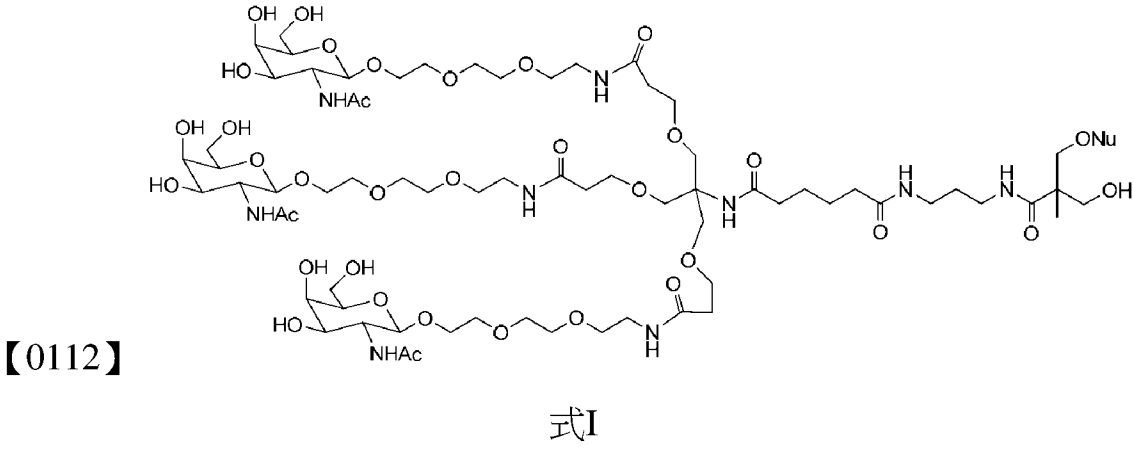
【0107】 在一些具體的實施方式中，所述連接基團與所述核酸的正義鏈的 3' 端連接。

【0108】 在一些實施方式中，該靶向藥物遞送系統包括配體和與所述配體連接的所述的核酸。

【0109】 在一些實施方式中，所述配體為是 GalNAc 衍生物。

【0110】 在一些實施方式中，所述配體是通過單鏈、雙鏈或三鏈支連結頭連接的一種或多種 GalNAc 衍生物。

【0111】 在一些優選的實施方式中，該靶向藥物遞送系統的結構如下式I所示：



【0113】 式I中，Nu代表所述核酸（siRNA）。在一些實施方式中，該系統中的化合物部分可以通過磷酸二酯鍵與siRNA的正義鏈的5'端或3'端相連，也可以通過磷酸二酯鍵與siRNA的反義鏈的5'端或3'端相連。該靶向藥物遞送系統利用其左側的結構特性能提高核酸藥物（Nu）的細胞穿透能力，增強其在細胞內的穩定性，且製備工藝簡單，實用性強。

【0114】 藥物組合物

【0115】 本發明還提供了一種藥物組合物，該藥物組合物含有如上所述的核酸或靶向藥物遞送系統以及藥學上可接受的載體。

【0116】 可以通過常規的方法由所述核酸和所述藥學上可接受的載體製備得到所述藥物組合物。例如，所述藥物組合物可以為注射液。所述注射液可以用於皮下、肌肉或靜脈的注射。

【0117】 根據本發明所述的藥物組合物，其中，對核酸或靶向藥物遞送系統以及藥學上可接受的載體的量沒有特別的要求，一般地，相對於1重量份的所述核酸（或1重量份的以核酸計的靶向藥物遞送系統），所述藥學上可接受的載體的含量可以為1-100000重量份（如1重量份、5重量份、10重量份、50重量

份、100 重量份、500 重量份、1000 重量份、5000 重量份、10000 重量份、50000 重量份、100000重量份或以上任意兩個數值之間的任意值）。

【0118】 根據本發明所述的藥物組合物，其中，所述藥學上可接受的載體可以為本領域常規採用的各種載體，例如，可以包括pH 值緩衝液、保護劑和滲透壓調節劑中的至少一種。所述pH 值緩衝液可以為pH 值為7.5-8.5 的三羥甲基胺基甲烷鹽酸鹽緩衝液和/或pH 為5.5-8.5 的磷酸鹽緩衝液，優選為pH 為5.5-8.5 的磷酸鹽緩衝液。所述保護劑可以為肌醇、山梨醇和蔗糖中的至少一種。以所述藥物組合物的總重量為基準，所述保護劑的含量可以為0.01-30 重量%（如0.01 重量%、0.05 重量%、0.1 重量%、0.5 重量%、1 重量%、5 重量%、10 重量%、15 重量%、20 重量%、25 重量%、30 重量%或以上任意兩個數值之間的任意值）。所述滲透壓調節劑可以為氯化鈉和/或氯化鉀。所述滲透壓調節劑的含量使所述藥物組合物的滲透壓為200-700 毫滲摩爾/千克。根據所需滲透壓，本領域技術人員可以確定所述滲透壓調節劑的含量。

【0119】 根據本發明一種優選的實施方式，所述藥學上可接受的載體為脂質體。脂質體可以為任何一種能包裹核酸的脂質體，其直徑可以是25-1000nm，可以包括但不限於膽固醇及其類似物或衍生物。

【0120】 本發明所述藥物組合物的使用劑量可以為本領域常規的劑量，所述劑量可以根據各種參數、尤其根據受試者的年齡、體重和性別來確定。例如，對於雌性，3-4 月齡，體重25-30g 的小鼠，以所述藥物組合物中的所述核酸的量計，所述藥物組合物的用量可以為0.01-100mg/kg 體重，優選為1-10mg/kg體重。

【0121】 方法及用途

【0122】 本發明還提供一種抑制細胞中血管緊張素基因的表達的方法，該方法包括：使所述細胞與如上所述的核酸、如上所述的靶向藥物遞送系統或如上所述的藥物組合物接觸，以抑制所述細胞中的血管緊張素基因的表達。

【0123】 在一些實施方式中，所述細胞在受試者體內，例如，人類受試者，例如，患有血管緊張素原（AGT）相關疾病的受試者。

【0124】 在一些實施方式中，所述細胞位於體外。所述方法基於研究目的、或用於構建動物模型。

【0125】 在一些實施方式中，使所述細胞與所述核酸接觸抑制AGT的表達的至少50%、60%、70%、80%、90%、95%（例如，與所述細胞首次與所述核酸接觸之前的AGT的表達水準相比；例如，在向所述受試者施用第一劑量的所述核酸之前）。在某些實施例中，抑制AGT的表達使受試者血清樣品中的AGT蛋白水準降低至少50%、60%、70%、80%、90%或95%，例如，與所述細胞首次與所述核酸接觸之前的AGT的表達水準相比。

【0126】 本發明還提供如上所述的核酸、如上所述的靶向藥物遞送系統或如上所述的藥物組合物在以下任一方面的用途：1）治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病；2）製備用於治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病的藥物。

【0127】 在一些實施方式中，所述疾病為：（i）與血管緊張素活性水準增強或升高相關的疾病；或（ii）將受益於血管緊張素原表達減少的疾病。

【0128】 在一些實施方式中，所述疾病為腎素-血管緊張素-醛固酮系統（RAAS）過度啟動相關疾病。在一些具體實施方式中，“RAAS 系統過度啟動相關疾病”可以包括高血壓、心力衰竭、腎臟疾病、老年性癡呆、眼科疾病等。

【0129】 在一些實施方式中，所述疾病選自高血壓、高血壓症、臨界性高血壓症、原發性高血壓症、繼發性高血壓症、單純收縮期或舒張期高血壓症、妊娠相關高血壓症、糖尿病性高血壓症、頑固性高血壓症、難治性高血壓症、陣發性高血壓症、腎血管性高血壓症、戈德布拉特氏高血壓症（Goldblatt hypertension）、與低血漿腎素活性或血漿腎素濃度相關的高血壓症、高眼壓、青光眼、肺動脈高血壓症、門靜脈高血壓症、全身靜脈高血壓症、收縮期高血壓症、

不穩定性高血壓症；高血壓性心臟病、高血壓性腎病、動脈粥樣硬化、動脈硬化、血管病、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病變、慢性心力衰竭、心肌病、糖尿病性心肌病、腎小球硬化症、主動脈縮窄、主動脈瘤、心室纖維化、心力衰竭、心肌梗塞、心絞痛、中風、腎病、腎衰竭、系統性硬化症、宮內生長受限（IUGR）、胎兒生長受限、肥胖、肝脂肪變性/脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎（NASH）、非酒精脂肪性肝病（NAFLD）、葡萄糖不耐症、2型糖尿病（非胰島素依賴型糖尿病）和代謝綜合症中的一種或幾種。

【0130】 本發明中，所述受試者可以為哺乳動物，包含靈長類動物（如人、非人靈長類動物，例如猴子和黑猩猩）、非靈長類動物（如牛、豬、馬、山羊、兔子、綿羊、倉鼠、豚鼠、貓、狗、大鼠或小鼠）或鳥類。在一些實施方式中，所述受試者優選為靈長類動物，更優選為人。可以通過多種途徑給藥，取決於是需要局部治療還是全身治療。給藥的方式可以為但不限於靜脈內給藥、動脈內給藥、皮下給藥、腹膜內給藥、經皮給藥（如通過植入器械）和軟組織內給藥。給藥量可以參照前述，在此不再贅述。

【0131】 在一些實施方式中，所述核酸、所述的靶向藥物遞送系統或所述的藥物組合物通過皮下給藥、靜脈內給藥和/或肌肉內給藥而施用於受試者。

【0132】 實施例

【0133】 下面將結合實施例對本發明的實施方案進行詳細描述。應理解，這些實施例僅用於說明本發明而不用於限制本發明的範圍。下列實施例中未注明具體條件的實驗方法，優先參考本發明中給出的指引，還可以按照本領域的實驗手冊或常規條件，還可以參考本領域已知的其它實驗方法，或者按照製造廠商所建議的條件。

【0134】 下述的具體實施例中，涉及原料組分的量度參數，如無特別說明，可能存在稱量精度範圍內的細微偏差。涉及溫度和時間參數，允許儀器測試精度或操作精度導致的可接受的偏差。

【0135】 實施例1 siRNA的序列篩選

【0136】 雙鏈siRNA可以進入細胞並被納入RISC複合體。在RISC複合體中，雙鏈siRNA被內切核酸酶Ago2解開，只留下反義鏈用於識別目標mRNA。一般認為35-55%的GC含量是siRNA的最佳選擇。GC含量還與siRNA的熔解溫度相關。然而，較低GC含量的siRNA可能由於其熱穩定性，可以更快或更高效地解開雙鏈siRNA。本發明設計的siRNA序列（如表2所示）包括了那些GC含量較低的siRNA序列，以便更好地選擇siRNA。

【0137】 表2

靶向基因位點	序列（5'-3'）	GC%
778	CCACGCUCUCUGGACUUCACA	57.10%
977	UGGACAACAGCACCUCAGUGU	52.40%
1145	GUCUCACUUUCCAGCAAAACU	42.90%
1167	CCUCAACUGGAUGAAGAAACU	42.90%
1450	UUCCUGUUUUGCUGUGUAUGAU	38.10%
1763	GCUGGGUUUAUUUUAGAGAAU	33.30%
1764	CUGGGUUUAUUUUAGAGAAUG	33.30%
1843	CCAACCGACCAGCUUGUUUGU	52.40%
1847	CCGACCAGCUUGUUUGUGAAA	47.60%
1849	GACCAGCUUGUUUGUGAAACA	42.90%
1849A	GACCAGCUUGUUUGUGAAACA	42.90%
1851	CCAGCUUGUUUGUGAAACAAA	38.10%
1854	GCUUGUUUGUGAAACAAAAAA	28.60%
1858	GUUUGUGAAACAAAAAAGUGU	28.60%
1868	CAAAAAAGUGUCCCUUUUCA	33.30%
1880	CCCUUUUCAAGUUGAGAACAA	38.10%
1893	GAGAACAAAAAUUGGGUUUUA	28.60%
1895	GAACAAAAAUUGGGUUUUAAA	23.80%
1934	GCAUUGCCUUCGGUUUGUAUU	42.90%
1935	CAUUGCCUUCGGUUUGUAUUU	38.10%

1940	CCUUCGGUUUGUAUUUAGUGU	38.10%
1945	GGUUUGUAUUUAGUGUCUUGA	33.30%
1950	GUAUUUAGUGUCUUGAAUGUA	28.60%
1959	GUGUCUUGAAUGUAAGAACAU	33.30%
1961	GUCUUGAAUGUAAGAACAU	33.30%
2085	CCAUAGCUGGUUAUUUCUCCU	42.90%

【0138】 其中，優選的序列GUUUGUGAAACAAAAAGUGU，其GC含量是28.6 %。

【0139】 上述序列對應的正義鏈和反義鏈序列如表1所示。

【0140】 本實施例進一步對各正義鏈和反義鏈進行修飾，修飾後的序列如表3所示。

【0141】 表3

編號	正義鏈（5'-3'）	編號	反義鏈（5'-3'）
SN-22158	cscsacgcUfcUfCfUfggacuu caca	SN-52158	usGfsuGfaAfguccaGfaGfagcgu ggsgsa
SN-22159	usgsgacaAfcAfGfCfaccuca gugu	SN-52159	asCfsaCfuGfaggugcuGfuUfguc casusu
SN-22160	gsuscucaCfuUfUfCfcagcaa aacu	SN-52160	asGfsuUfuUfgcuggaaAfgUfgag acsusu
SN-22161	cscsucaaCfuGfGfAfugaaga aacu	SN-52161	asGfsuUfuCfuucauccAfgUfuga ggsgsa
SN-22163	ususccugUfuUfGfCfugugu augau	SN-52163	asUfscAfuAfcacagcaAfaCfagga asusg
SN-22164	gscsugggUfuUfAfUfuuuag agaau	SN-52164	asUfsuCfuCfuaaaauaAfaCfccag csusu
SN-22165	csusggguUfuAfUfUfuuaga gaug	SN-52165	csAfsuUfcUfcuaaaauAfaAfccca gsusu
SN-22166	cscsaaccGfaCfCfAfgcuugu uugu	SN-52166	asCfsaAfaCfaagcuggUfcGfguug gsasa
SN-22167	cscsgaccAfgCfUfUfguuugu gaaa	SN-52167	usUfsuCfaCfaaacaagCfuGfgucg gsusu
SN-22168	gsasccagCfuUfGfUfuuguga aaca	SN-52168	usGfsuUfuCfacaacaAfgCfuggu csgsg
SN-22169	gsasccagCfuUfGfUfuuguga aaca	SN-52169	usGfsuUfuCfacaacaAfgCfuggu csusu
SN-22170	cscsagcuUfgUfUfUfgugaaa caaa	SN-52170	usUfsuGfuUfucacaaaCfaAfgcug gsusc

SN-22171	gscsuuguUfuGfUfGfaaaciaaaaa	SN-52171	usUfsuUfuUfguuucacAfaAfcaa
SN-22172	gsusuuguGfaAfAfCfaaaaaagugu	SN-52172	asCfsaCfuUfuuuuguUfcAfcaaa
SN-22173	csasaaaaAfgUfGfUfuccuuu	SN-52173	usGfsaAfaAfgggaacaCfuUfuuu
SN-22174	cscscuuuUfcAfAfGfuugagacaa	SN-52174	usUfsgUfuCfucaacuGfaAfaag
SN-22175	gsasgaacAfaAfAfAfuuggguuuua	SN-52175	usAfsaAfaCfccaauuuUfuGfuuc
SN-22176	gsasacaaAfaAfUfUfggguuuuaaa	SN-52176	usUfsuAfaAfacccaauUfuUfugu
SN-22177	gscsauugCfcUfUfCfpguuuguaau	SN-52177	asAfsuAfcAfaaccgaaGfgCfaaug
SN-22178	csasuugcCfuUfCfGfguuuguauuu	SN-52178	asAfsaUfaCfaaaccgaAfgGfcaau
SN-22179	cscsuucgGfuUfUfGfuauuuagugu	SN-52179	asCfsaCfuAfaauacaaAfcCfgaag
SN-22180	gsgsuuugUfaUfUfUfagugucuuga	SN-52180	usCfsaAfgAfcacuaaaUfaCfaaac
SN-22181	gsusauuuAfgUfGfUfcuugaagua	SN-52181	usApscAfuUfcaagacaCfuAfaaua
SN-22182	gsusgucuUfgAfAfUfguaagaacau	SN-52182	asUfsgUfuCfuuaacauCfaAfgaca
SN-22183	gsuscuugAfaUfGfUfaagaacauga	SN-52183	usCfsaUfgUfucuuacaUfuCfaaga
SN-22184	cscsauagCfuGfGfUfuauuucccu	SN-52184	asGfsgAfgAfaauaaccAfgCfuaug

【0142】 表中，a/c/g/u=2'-OMe核苷酸; Af/Cf/Gf/Uf=2'-F核苷酸；s=硫代磷酸二酯鍵。

【0143】 通過固相合成法，將表2中的正義鏈和反義鏈形成表4中修飾後的雙鏈siRNA。

【0144】 表4

編號	正義鏈（5'-3'）	反義鏈（5'-3'）
SN-252158	cscsacgcUfcUfCfUfggacuucaca	usGfsuGfaAfguccaGfaGfagcguggsgsa
SN-252159	usgsgacaAfcAfGfCfaccucagugu	asCfsaCfuGfaggugcuGfuUfguccasuu

SN-252160	gsuscucaCfuUfUfCfcagcaaaacu	asGfsuUfuUfgcuggaaAfgUfgagacsu su
SN-252161	cscsucaaCfuGfGfAfugaagaaacu	asGfsuUfuCfuucauccAfgUfugaggsg sa
SN-252163	ususccugUfuUfGfCfuguguauga u	asUfscAfuAfcacagcaAfaCfaggaasus g
SN-252164	gscsugggUfuUfAfUfuuuagagaa u	asUfsuCfuCfuaaaauaAfaCfccagcsus u
SN-252165	csusggguUfuAfUfUfuuagagaau g	csAfsuUfcUfcuaaaaauAfaAfcccagsus u
SN-252166	cscsaaccGfaCfCfAfgcuuguuug u	asCfsaAfaCfaagcuggUfcGfguuggsas a
SN-252167	cscsgaccAfgCfUfUfguuugugaa a	usUfsuCfaCfaaacaagCfuGfgucggsus u
SN-252168	gsasccagCfuUfGfUfuugugaaac a	usGfsuUfuCfacaacaAfgCfuggucsgs g
SN-252169	gsasccagCfuUfGfUfuugugaaac a	usGfsuUfuCfacaacaAfgCfuggucsus u
SN-252170	cscsagcuUfgUfUfUfgugaaacaa a	usUfsuGfuUfucacaaaCfaAfgcuggsus c
SN-252171	gscsuuguUfuGfUfGfaaacaacaaa a	usUfsuUfuUfguuucacAfaAfcaagsu sg
SN-252172	gsusuuguGfaAfAfCfaaaaaagug u	asCfsaCfuUfuuuuguuUfcAfcaaacsas a
SN-252173	csasaaaaAfgUfGfUfuccuuuuuc a	usGfsaAfaAfgggaacaCfuUfuuuugsu su
SN-252174	cscscuuuUfcAfAfGfuugagaaca a	usUfsgUfuCfucaacuuGfaAfaagggsu su
SN-252175	gsasgaacAfaAfAfAfuuggguuuu a	usAfsaAfaCfccaauuuUfuGfuucucsas a
SN-252176	gsasacaaAfaAfUfUfggguuuuaa a	usUfsuAfaAfacccaauUfuUfuguucsu sc
SN-252177	gscsauugCfcUfUfCfpgguuguau u	asAfsuAfcAfaaccgaaGfgCfaaugcsas a
SN-252178	csasuugcCfuUfCfGfguuuguauu u	asAfsaUfaCfaaaccgaAfgGfcaaugscs a
SN-252179	cscsuucgGfuUfUfGfuauuuagug u	asCfsaCfuAfaauacaaAfcCfgaaggscs a
SN-252180	gsgsuuugUfaUfUfUfagugucuu ga	usCfsaAfgAfcacuaaaaUfaCfaaaccsgs a
SN-252181	gsusauuuAfgUfGfUfcuugaau ua	usAfsuAfuUfcaagacaCfuAfaauacsus u
SN-252182	gsusgucuUfgAfAfUfguaagaaca u	asUfsgUfuCfuuaacauuAfaAfgacacsus u

SN-252183	gsuscuugAfaUfGfUfaagaacaug a	usCfsaUfgUfucuuacaUfuCfaagacsas c
SN-252184	cscsauagCfuGfGfUfuauuucucc u	asGfsgAfgAfaauaaccAfgCfuauggsus u

【0145】 表中，a/c/g/u=2’-OMe核苷酸; Af/Cf/Gf/Uf=2’-F核苷酸；s=硫代磷酸二酯鍵。

【0146】 在96孔細胞培養皿內加入0.5毫升細胞培養液（DMEM, 10%小牛血清, 1% 青黴素+鏈黴素溶液）含10⁴ Hep3B （Procell, Cat# CL-0102）細胞，在37°C, 5%CO₂的細胞培養器內過夜培養。在Opti-MEM培養液內加入RNAiMAX（1.5微升/孔）和表3中的小干擾核酸（siRNA），加入細胞培養孔使最後每孔濃度為1 nM或10 nM，繼續在37°C, 5% CO₂的細胞培養期內培養48小時。為提取RNA，將細胞培養上清液吸淨，用PBS沖洗，吸淨後，加入50 μL配製好的裂解液（按Cells-to-CT試劑盒（ThermoFisher Scientific, Cat#4391851c）建議）混勻，靜置10 min後，加入2.5 μL Stop solution終止2 min。根據High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits（Thermo Fisher, 貨號：4368814）的建議做RT-PCR, 每個反應內含10 ml裂解後液體。用即時螢光PCR法測基因表達定量，人AGT的TaqMan探針為Hs00174854_m1，內參基因（人HPRT1）的探針為Hs02800695_m1（Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA）。PCR條件為95°C 20秒1個迴圈，95°C 1秒和60°C20秒40個迴圈，即時螢光PCR儀為QuantStudio™ 6 Pro 即時螢光定量 PCR 系統（Thermo Fisher）。AGT基因表達是以2^{-ΔΔCt}計算，人HPRT1基因表達作為內參。AGT基因表達量以和僅有RNAiMAX的細胞組為對照的相對值表達。結果見表5。

【0147】 表5

樣品編號	1nM	標準差	10nM	標準差
SN-252158	1.82	0.09	0.22	0.09

SN-252159	2.67	0.07	0.78	0.21
SN-252160	0.41	0.06	0.29	0.09
SN-252161	0.90	0.04	0.22	0.02
SN-252163	0.90	0.03	0.15	0.07
SN-252164	0.35	0.02	0.19	0.05
SN-252165	0.89	0.06	0.15	0.07
SN-252166	1.63	0.01	0.14	0.01
SN-252167	0.91	0.12	0.18	0.03
SN-252168	0.90	0.25	0.61	0.06
SN-252169	0.92	0.06	0.60	0.01
SN-252170	0.31	0.02	0.22	0.02
SN-252171	2.43	0.46	0.49	0.01
SN-252172	0.25	0.00	0.12	0.03
SN-252173	0.40	0.03	0.16	0.02
SN-252174	0.31	0.12	0.08	0.01
SN-252175	0.38	0.09	0.23	0.03
SN-252176	0.26	0.14	0.29	0.01
SN-252177	1.67	0.84	1.11	0.07
SN-252178	1.22	0.39	1.05	0.01
SN-252179	1.49	0.44	1.53	0.07
SN-252180	1.48	0.55	1.27	0.03
SN-252181	1.11	0.05	0.69	0.12
SN-252182	1.26	0.12	0.35	0.10
SN-252183	1.68	0.05	0.94	0.24
SN-252184	0.97	0.00	0.49	0.11

【0148】 為了進一步確定siRNA的活性，將表5中效果較好的siRNA與Tri-GalNAc偶聯（其具體結構見前述式I，偶聯後的序列見表6）後在人原代肝細胞中進行了劑量反應實驗，siRNA-GalNAc樣品分別用100 μL無酶無菌水溶解成100 μM溶液，將30 μL 100 μM受試物溶液加入70 μL inVtroGRO Plating Medium稀釋為30 μM溶液作為30 nM終濃度組工作液備用；再用inVtroGRO Plating Medium對30 μM受試物溶液進行8個濃度點的3倍稀釋，使最後工作液濃度為4.6、13.7、41.2、123.4、370.4、1111.1、3333.3、10000nM。將人原代肝細胞從液氮中取出，在37°C下解凍復蘇，用含血清inVtroGRO Plating Medium沖洗計數並離心，去除上清液後用新含血清inVtroGRO Plating Medium將細胞稀釋至300k/mL，再將90

μL稀釋好的細胞液鋪至96孔細胞培養板上，使得每孔細胞數為30k，在細胞液中加入配製好的樣品工作液使最終濃度為0.46、1.37、4.12、12.34、37.04、111.11、333.33、1000nM, 後放於5 %二氧化碳培養箱中，37 °C恒溫培養48小時。48小時後吸去96孔培養板中所有培養基，用1×PBS緩衝液洗滌，加入50 μL配製好的Cells to CT裂解液（按廠商建議）混勻，靜置10 min後，加入2.5 μL 終止液終止2 min。根據High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits （Thermo Fisher, 貨號：4368814）的建議做RT-PCR, 每個反應內含10 ml裂解後液體。用即時螢光PCR法測基因表達定量，人AGT的TaqMan探針為Hs00174854_m1，內參基因(人HPRT1) 的探針為Hs02800695_m1 （Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA）。PCR條件為95°C 20秒1個迴圈，95°C 1秒和60°C20秒40個迴圈，即時螢光PCR儀為QuantStudio™ 6 Pro 即時螢光定量 PCR 系統（Thermo Fisher）。AGT基因表達是以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 計算，人HPRT1基因表達作為內參。AGT基因表達量以和僅有培養液的細胞組為對照的百分比表達並計算IC50值，見表7。

【0149】 表7

編號	IC50, nM
SN-682160	296.8
SN-682161	380.3
SN-682163	505.8
SN-682164	467.2
SN-682165	701.0
SN-682170	345.9

SN-682172	253.4
SN-682173	79.4
SN-682174	344.5
SN-682175	8.7
SN-682176	72.2

【0150】 為了進一步驗證siRNA的藥效，將SN-682160，SN-682172，SN-682173，SN-682175和SN-682176分別以10mg/kg劑量皮下注射到人源AGT轉基因小鼠中，並於第10天取血檢測血漿中剩餘AGT蛋白水準，結果如圖1。從圖1中可以看到在第10天SN-682172能將AGT蛋白水準敲低至90%以下。

【0151】

【0152】 實施例2 siRNA修飾方式的優化

【0153】 為了更進一步增加siRNA的活性，按表8又對siRNA進行了新的修飾。

【0154】 表8

siRNA 編號	正義鏈	反義鏈
SN-682725	gsusuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuUfuuUfuguuUfcAfcaaacsasa
SN-682726	gsusuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa
SN-682727	gsUfsuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuUfuuUfuguuUfcAfcaaacsasa
SN-682728	gsUfsuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa
SN-682172	gsusuuguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	asCfsaCfuUfuuuuguuUfcAfcaaacsasa

【0155】 表中，a/c/g/u=2’-OMe核苷酸; Af/Cf/Gf/Uf=2’-F核苷酸；s=硫代磷酸二酯鍵。

【0156】 為了進一步確定siRNA的活性，將表8中的siRNA在人原代肝細胞中進行了劑量反應實驗，方法與前相同。降低AGT表達的絕對IC50值見表9。

【0157】 表9

樣品號	IC50, nM
SN-682725	70.20
SN-682726	8.60
SN-682727	44.10
SN-682728	21.80
SN-682172	375.40

【0158】 實施例3 siRNA的體外效果驗證

【0159】 為了進一步驗證藥效，將優選siRNA藥物在人原代肝細胞中與SN-2073進行對比，所涉及的siRNA如表10。其中，作為對比的SN-2073根據US11015201B2的公開內容製備得到。在人原代肝細胞中的實驗步驟與前面實驗方法類似。AGT基因表達量以和僅有溶媒的細胞組為對照的百分比表達結果見表11。

【0160】 表10

siRNA 編號	正義鏈	反義鏈
SN-682726	gsusuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa
SN-682728	gsUfsuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu-TrigalNac	AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa

SN-2073	gsuscaucCfaCfAfAfugagaguaca- TrigalNac	usGfsuacTgncucauugUfgGfaugacsgsa
---------	---	----------------------------------

【0161】 表中，a/c/g/u=2’-OMe核苷酸; Af/Cf/Gf/Uf=2’-F核苷酸；Tgn=胸苷
乙二醇; s=硫代磷酸二酯鍵，SN-682726和SN-682728所使用的為式I所示的結構，
SN-2073所使用的Tri-galNac 為Alnylam Tri-GalNac （L96）。式I所示的結構和
L96 在 分 類 上 均 屬 於 三 觸 角 N- 乙 醯 半 乳 糖 胺 （ Triantennary N-
Acetylgalactosamine），因此，基於以下效果資料也能夠確認本發明修飾後的序
列所具有的優勢。

【0162】 表11

樣品號	1000 nM 平均值	標準差	100 nM	標準差
SN-682726	16.25	0.99	25.27	2.77
SN-682728	21.80	0.74	33.30	4.61
SN-2073	36.00	0.62	33.63	3.07

【0163】 從人原代肝細胞自由攝取實驗中可以發現，本發明的SN-682726
和SN-682728較SN-2073有更好的活性。

【0164】 實施例4 siRNA的體內效果驗證

【0165】 為了進一步驗證siRNA的活性，將人源AGT轉基因小鼠在第0天分
別皮下注射了1，3，10 mg/kg的SN-682726或SN-682728，且以PBS作為空白對照
組，而後對血液中的AGT蛋白進行了追蹤觀察，結果如圖2。

【0166】 由圖2可知，SN-682726和SN-682728均能夠明顯降低AGT蛋白水
準，且具有較為長久的藥效，其中，SN-682726的藥效更優。

【0167】 為了進一步驗證修飾對藥效的影響，將SN-682726與作為對比的
SN-2073在人源AGT轉基因小鼠上進行了比較，小鼠在第0天分別皮下注射了1，
3，10 mg/kg的SN-682726或SN-2073化合物，且以PBS作為空白對照組，而後對
血液中的AGT蛋白進行了追蹤觀察，結果如圖3所示。

【0168】 從圖3中可以看到SN-682726在所有劑量組中都較對標SN-2073化合物能維持更長久的藥效，在注射後第130天仍有40%的敲低效應，而作為對比的SN-2073組的AGT蛋白水準在注射後110天已經恢復到基點，顯示出SN-682726的優效性。

【0169】 此外，需要說明的是，本發明中siRNA藥物的藥效優勢並不依賴於靶向載體的選擇，在其中TriGalNAc更換為其他可用載體（如前述的L96）後，將所得到的siRNA藥物與SN-2073相比，在體外細胞試驗及體內實驗中仍然具有上述所提及的顯著效果優勢。例如，將SN-682726的TriGalNAc替換成L96後，在猴原代肝細胞中仍能取得比SN-2073更好的AGT表達沉默效應，見表12。

【0170】 表12

siRNA	1000 nM	標準差	250 nM	標準差
SN-682726-L96	74.5%	0.5%	74.7%	4.0%
SN-2073-L96	66.2%	6.0%	69.8%	4.4%

【0171】 將SN-682726的修飾也用於SN-2073如表13中的SN-683015,可以發現，SN-683015在猴原代肝細胞中比SN-2073有更好的藥效，結果見表14。

【0172】 表13

編號	正義鏈	反義鏈
SN-683015	gsuscAfucCfaCfAfAfugagaguaca-L96	UfsGfsuacuCfuCfauugUfgGfaugacsgsa
SN-2073	gsuscauCfaCfAfAfugagaguaca-L96	usGfsuacTgncucauugUfgGfaugacsgsa

【0173】 表14

siRNA	1000 nM	標準差	250 nM	標準差
SN-683015	82.2%	3.6%	83.0%	2.8%

SN-2073	66.2%	6.0%	69.8%	4.4%
---------	-------	------	-------	------

【0174】 另外，將SN-682726的未經修飾的序列（SN-122726）和SN-2073的未經修飾序列（SN-122073, 表15）在Hep3B細胞中也進行了3個濃度（0.1，1和10 nM）的比對，結果如表16。可見，本發明中未經修飾的SN-122726能更有效地降低AGT表達水準。

【0175】 表15

編號	正義鏈	反義鏈
SN-122726	GUUUGUGAAACAAAAAAGUGU	ACACUUUUUUGUUUCACAAACAA
SN-122073	GUCAUCCACAAUGAGAGUACA	UGUACUCUCAUUGUGGAUGACGA

【0176】 表16

siRNA	0.1nM	標準差	1nM	標準差	10nM	標準差
SN-122726	92.7%	4.3%	97.3%	0.1%	98.5%	0.2%
SN-122073	82.8%	0.5%	91.6%	1.1%	96.5%	0.6%

【0177】 以上所述實施例僅表達了本發明的幾種實施方式，其描述較為具體和詳細，但並不能因此而理解為對發明專利範圍的限制。應當指出的是，對於本領域的普通技術人員來說，在不脫離本發明構思的前提下，還可以做出若干變形和改進，這些都屬於本發明的保護範圍。

【符號說明】

【0178】 無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing dtdVersion="V1_3" fileName="sequencelist_PD240156PCT.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2024-06-
17">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>113122054</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2024-06-14</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>PD240156PCT</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>CN</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>202310718430.6</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2023-06-16</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">施能康醫藥科技（蘇州）有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>SynerK PharmaTech (Suzhou) Limited</ApplicantNameLatin>
  <InventorName languageCode="zh">蔣偉文</InventorName>
  <InventorNameLatin>Weiwen JIANG</InventorNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">靶向血管緊張素原的核酸及其用途
</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>53</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q105">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ccacgctctctggacttcaca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 2" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q106">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tggacaacagcacctcagtgt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 3" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql07">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtctcactttccagcaaaact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql08">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>cctcaactggatgaagaaact</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql09">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttcctgtttgctgtgtatgat</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql10">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gctgggtttatttttagagaat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql11">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ctgggtttatttttagagaatg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql12">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ccaaccgaccagcttgtttgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql13">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ccgaccagcttgtttggtgaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql14">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gaccagcttgtttggtgaaaca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql15">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gaccagcttgtttgtgaaaca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql16">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccagcttgtttgtgaaacaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql17">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gcttgtttgtaaacaacaaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql18">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtttgtgaaacaaaaagtgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql19">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>caaaaaagtgttccttttca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql20">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cccttttcaagttgagaacaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql21">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>gagaacaaaaattgggtttta</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql22">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gaacaaaaattgggttttaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q123">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gcattgccttcggtttgtatt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q124">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cattgccttcggtttgtattt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>

```

```
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql25">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ccttcggtttgtatttagtgt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql26">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ggtttgtatttagtgtcttga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 23" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql27">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gtatttagtgtcttgaatgta</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 24" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>

```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q128">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>gtgtccttgaatgtaagaacat</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q129">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>gtccttgaatgtaagaacatga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>21</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..21</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="ql30">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ccatagctggttatttctcct</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 27" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="ql31">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgtgaagtccagagagcgtggga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q132">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>acactgaggtgctgttgccatt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 29" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql33">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agttttgctggaaagtgagactt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql34">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>agtttcttcatccagttgaggga</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql35">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>atcatcacagcaaacaggaatg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q136">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>attctctaaaataaaccagctt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q137">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>cattctctaaaataaaccagtt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql38">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>acaacaagctggtcggttgaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql39">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tttcacaaacaagctggctcggtt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql40">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tgtttcacaaacaagctggctcgg</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>

```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql41">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>tgtttcacaaacaagctggtctt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql42">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ttgtttcacaaacaagctgggtc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

<SequenceData sequenceIDNumber=" 39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="ql43">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
      <INSDSeq_sequence>tttttgtttcacaacaagctg</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber=" 40">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
              <INSDQualifier id="ql44">

```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>acacttttttgtttcacaaacaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 41" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql45">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tgaagagggaacacttttttgtt</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 42" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql46">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ttgttctcaacttgaaaagggtt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql47">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>taaaacccaatttttgttctcaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 44" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql48">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tttaaaccctaatttttgttctc</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 45" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql49">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aatacaaaccgaaggcaatgcaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql150">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>aaatacaaaccgaaggcaatgca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql51">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>acactaaatacaaaccgaaggca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql52">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeg_feature-table>
<INSDSeg_sequence>tcaagacactaaatacaaaccga</INSDSeg_sequence>
</INSDSeg>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49" >
  <INSDSeg>
    <INSDSeg_length>23</INSDSeg_length>
    <INSDSeg_moltype>RNA</INSDSeg_moltype>
    <INSDSeg_division>PAT</INSDSeg_division>
    <INSDSeg_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql53">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeg_feature-table>
    <INSDSeg_sequence>tacattcaagacactaaatactt</INSDSeg_sequence>
  </INSDSeg>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 50" >
  <INSDSeg>
    <INSDSeg_length>23</INSDSeg_length>
    <INSDSeg_moltype>RNA</INSDSeg_moltype>
    <INSDSeg_division>PAT</INSDSeg_division>
    <INSDSeg_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q154">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgttcttacattcaagacactt</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q155">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>tcatgttcttacattcaagacac</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 52" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>23</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..23</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="ql56">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
      <INSDSeq_sequence>aggagaaataaccagctatggtt</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber=" 53" >
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>2148</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..2148</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
              <INSDQualifier id="ql59">
```

```

    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaaagtagaccctcaccaggcatggaatctgccagtgccttgatcttggacttccagcttc
cagaactggtatgcggaagcgagcaccacccagtcctgagatggctcctgccggtgtgagcctgagggccaccatcctctgcc
tcctggcctgggctggcctggctgcaggtgaccgggtgtacatacacccttccacctcgtcacccaatgagagtacc
tgtgagcagctggcaaaggccaatgccgggaagcccaaagacccaccttcataacctgctccaattcaggccaagacatc
ccctgtggatgaaaaggccctacaggaccagctggtgctagtgcctgcaaaacttgacaccgaagacaagttgagggccg
caatggtcgggatgctggccaacttcttgggcttccgtatataatggcatgcacagttagctatggggcggtggccatggg
gccaccgtcctctccccaacggctgtctttggcaccctggcctctctctatctgggagccttggaaccacacagctgacag
gctacaggcaatcctgggtgttcccttgaaggacaagaactgcacctcccggctggatgctgcacaaggtcctgtctgccc
tgcaggctgtacaggccctgctagtggcccagggcagggtgatagccaggcccagctgctgctgtccacggtggtgggc
gtgttcacagccccaggcctgcacctgaagcagccgtttgtgcagggcctggctctctataccctgttggtcctcccacg
ctctctggacttcacagaactggatgttgctgctgagaagattgacaggttcacagcgtgtgacaggatggaagactg
gctgctccctgatgggagccagtggtgacagcaccctggctttcaacacctacgtccacttccaagggaagatgaagggc
ttctccctgctggccgagccccaggagttctgggtggacaacagcacctcagtgctctgttcccatgctctctggcatggg
caccttcagcactggagtgcacatccaggacaacttctcggtgactcaagtgccttccactgagagcgccctgcctgctgc
tgatccagcctcactatgcctctgacctggacaaggtggagggtctcactttccagcaaaactccctcaactggatgaag
aaactatctccccggaccatccacctgacctgccccaaactgggtgctgcaaggatcttatgacctgcaggacctgctcgc
ccaggctgagctgccccccattctgcacaccgagctgaacctgcaaaaaattgagcaatgaccgcatcagggtgggggagg
tgctgaacagcattttttttgagcttgaagcggtgagagagagccacagagctctaccaacagcttaacaagcctgag
gtcttgagggtgacctgaaccgcccattcctgtttgtgtgtatgatcaaagcgccactgcctgcacttccctgggcccg
cgtggccaaccgctgagcacagcatgaggccaggggccccagaacacagtgcctggcaaggcctctgccccctggcctttg
aggcaaaggccagcagcagataacaacccccggacaaatcagcgatgtgtcacccccagctctcccaccttttcttctaatg
agtgcactttgagctggaaagcagccgtttctccttggcttaagtgtgctgcatggagtgcagcagtagaagcctgcagcg
gcacaaatgcacctcccagtttcttgggtttattttagagaatgggggtggggaggcaagaaccagtgtttagcgcgggga
ctactgttccaaaaagaattccaaccgaccagcttgtttgtgaaacaaaaaagtgttcccttttcaagttgagaacaaaa
attgggttttaaaattaaagtatacatttttgcattgccttcggtttgtatttagtgtcttgaatgtaagaacatgacct
ccgtgtagtgtctgtaataccttagttttttccacagatgcttgtgatttttgaacaatacgtgaaagatgcaagcacct
gaatttctgtttgaatgcggaaccatagctggttatttctcccttgtgttagtaataaacgtcttgcacacaataagcctc
caaaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種核酸，該核酸包括正義鏈和反義鏈，其特徵在於，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：1~26 任意一項所示序列具有80%以上的序列同一性的序列，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：27~52任意一項所示序列具有80%以上的序列同一性的序列。

【請求項2】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：27~52 任意一項所示序列相差不超過3個核苷酸的至少15 個連續核苷酸，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列；任選地，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：1~26 任意一項所示序列相差不超過3個核苷酸的至少15 個連續核苷酸。

【請求項3】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：29、32、38、40、41、42、43、44中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列；任選地，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：3、6、12、14、15、16、17、18中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【請求項4】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：29、40、41、43、44中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列；任選地，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：3、14、15、17、18中任意一項所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【請求項5】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈含有與SEQ ID NO：40所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列，所述正義鏈含有與所述反

義鏈至少部分互補的核苷酸序列；任選地，所述正義鏈含有與SEQ ID NO：14所示序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列。

【請求項6】 如請求項1所述的核酸，其中，所述核酸中的GC含量為20~45%，更優選為20~35%。

【請求項7】 如請求項1所述的核酸，其中，所述核酸中的至少一個核苷酸是修飾的核苷酸或包括修飾的間鍵；

所述修飾的核苷酸優選自2'-O-甲基核苷酸、2'-氟核苷酸、2'-去氧核苷酸、2',3'-開環核苷酸模擬物、鎖定的核苷酸、2'-F-阿拉伯糖核苷酸、2'-甲氧基乙基核苷酸、脫鹼基核苷酸、核糖醇、反向核苷酸、反向2'-O-甲基核苷酸、反向2'-去氧核苷酸、2'-氨基修飾的核苷酸、2'-烷基修飾的核苷酸、嗎啉代核苷酸、含有乙烯基磷酸酯的核苷酸、含有環丙基磷酸酯的核苷酸和3'-O-甲基核苷酸中的一種或多種；所述修飾的核苷酸進一步優選自2'-O-甲基核苷酸和2'-氟核苷酸中的一種或多種；

所述修飾的間鍵優選自硫代磷酸酯核苷酸間鍵和甲基磷酸酯核苷酸間鍵中的一種或多種；所述修飾的間鍵進一步優選自硫代磷酸酯單酯核苷酸間鍵、硫代磷酸二酯核苷酸間鍵中的一種或多種。

【請求項8】 如請求項7所述的核酸，其中，所述反義鏈從5'端計數的第5和6處核苷酸為2'-O-甲基核苷酸，第7處核苷酸為2'-氟核苷酸；

優選所述反義鏈的5'末端和3'末端處分別含有2個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在從5'端計數的第1、2、7、9、14和16處核苷酸為2'-氟核苷酸，其餘核苷酸均為2'-O-甲基核苷酸。

【請求項9】 如請求項7或8所述的核酸，其中，所述正義鏈從5'端計數的第2處核苷酸為2'-O-甲基核苷酸或2'-氟核苷酸，優選為2'-O-甲基核苷酸；

優選所述正義鏈的5'末端含有2個硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在從5'端計數的第4、7、9、10和11處核苷酸為2'-氟核苷酸，其餘核苷酸均為2'-O-甲基核苷酸。

【請求項10】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈具有如表3或表8中任意一種所示的反義鏈序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸，所述正義鏈具有如表3或表8中任意一種所示的正義鏈序列相差不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸；優選地，所述正義鏈和反義鏈形成具有表4或表8中任意一種所示的siRNA。

【請求項11】 如請求項1所述的核酸，其中，所述反義鏈從5'端到3'端含有與以下核苷酸序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列：

AfsCfsacuuUfuUfuguuUfcAfcaaacsasa；

所述正義鏈含有與所述反義鏈至少部分互補的核苷酸序列；

優選地，所述正義鏈從5'端到3'端含有如以下任意一項核苷酸序列相差0個、1個或2個核苷酸的核苷酸序列：

gsusuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu；

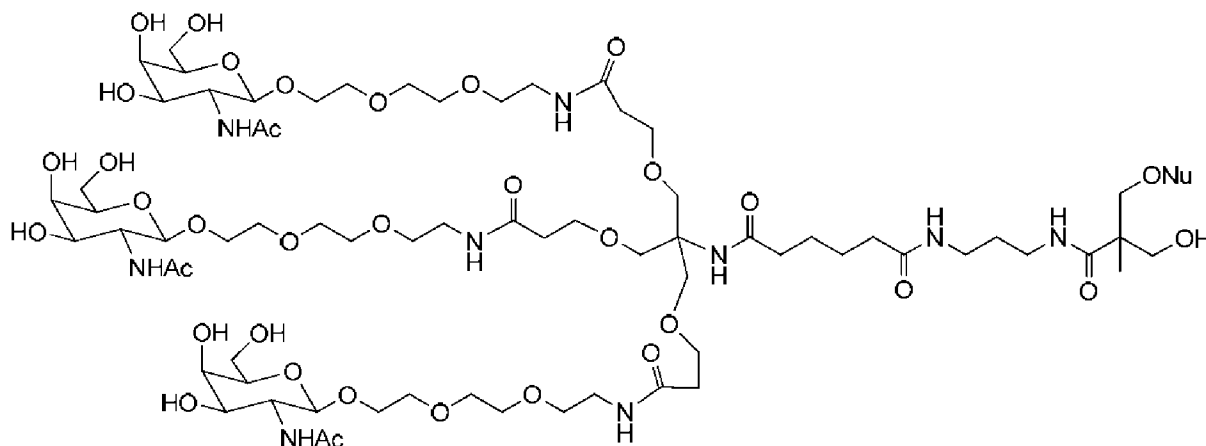
gsUfsuUfguGfaAfAfCfaaaaaagugu；

在各序列中，以小寫字母表示的核苷酸代表該核苷酸為2'-O-甲基核苷酸；f表示其左側相鄰的一個核苷酸為2'-氟修飾的核苷酸；s代表左右相鄰的兩個核苷酸之間通過硫代磷酸二酯鍵連接。

【請求項12】 一種靶向藥物遞送系統，其特徵在於，該靶向藥物遞送系統包括靶向基團、連接基團和通過連接基團與靶向基團連接的請求項1~11中任一項所述的核酸。

【請求項13】 如請求項12所述的靶向藥物遞送系統，其中，該靶向藥物遞送系統包括配體和與所述配體連接的所述的核酸；優選所述配體為是GalNAc衍生

物；更優選所述配體是通過單鏈、雙鏈或三鏈支連結頭連接的一種或多種GalNAc衍生物；進一步優選該靶向藥物遞送系統的結構如下式所示：



式中，Nu代表所述核酸。

【請求項14】 一種藥物組合物，其特徵在於，該藥物組合物含有請求項1~11中任一項所述的核酸或請求項12~13中任一項所述的靶向藥物遞送系統和藥學上可接受的載體。

【請求項15】 一種抑制細胞中血管緊張素基因的表達的方法，該方法包括：
使所述細胞與請求項1~11中任一項所述的核酸、請求項12~13中任一項所述的靶向藥物遞送系統或請求項14所述的藥物組合物接觸，以抑制所述細胞中的血管緊張素基因的表達。

【請求項16】 一種請求項1~11中任一項所述的核酸、請求項12~13中任一項所述的靶向藥物遞送系統或請求項14所述的藥物組合物在以下任一方面的用途：

- 1) 治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病；
- 2) 製備用於治療和/或預防與血管緊張素相關的疾病的藥物。

【請求項17】 如請求項16所述的用途，其中，所述疾病為：

- (i) 與血管緊張素活性水準增強或升高相關的疾病；或
- (ii) 將受益於血管緊張素原表達減少的疾病。

【請求項18】 如請求項16所述的用途，其中，所述疾病為腎素-血管緊張素-醛固酮系統過度啟動相關疾病。

【請求項19】 如請求項16所述的用途，其中，所述疾病選自高血壓、高血壓症、臨界性高血壓症、原發性高血壓症、繼發性高血壓症、單純收縮期或舒張期高血壓症、妊娠相關高血壓症、糖尿病性高血壓症、頑固性高血壓症、難治性高血壓症、陣發性高血壓症、腎血管性高血壓症、戈德布拉特氏高血壓症、與低血漿腎素活性或血漿腎素濃度相關的高血壓症、高眼壓、青光眼、肺動脈高血壓症、門靜脈高血壓症、全身靜脈高血壓症、收縮期高血壓症、不穩定性高血壓症；高血壓性心臟病、高血壓性腎病、動脈粥樣硬化、動脈硬化、血管病、糖尿病性腎病、糖尿病性視網膜病變、慢性心力衰竭、心肌病、糖尿病性心肌病、腎小球硬化症、主動脈縮窄、主動脈瘤、心室纖維化、心力衰竭、心肌梗塞、心絞痛、中風、腎病、腎衰竭、系統性硬化症、宮內生長受限、胎兒生長受限、肥胖、肝脂肪變性/脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎、非酒精脂肪性肝病、葡萄糖不耐症、2型糖尿病和代謝綜合症中的一種或幾種。

【請求項20】 如請求項16所述的用途，其中，所述核酸、所述的靶向藥物遞送系統或所述的藥物組合物通過皮下給藥、靜脈內給藥和/或肌肉內給藥而施用於受試者。

|(發明圖式)|

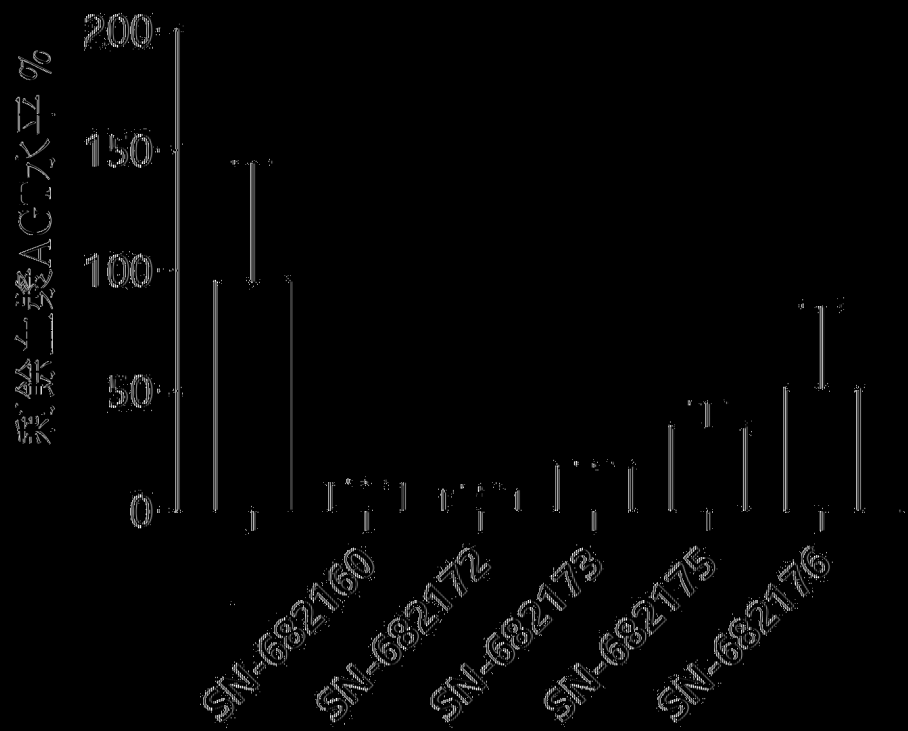


圖 1

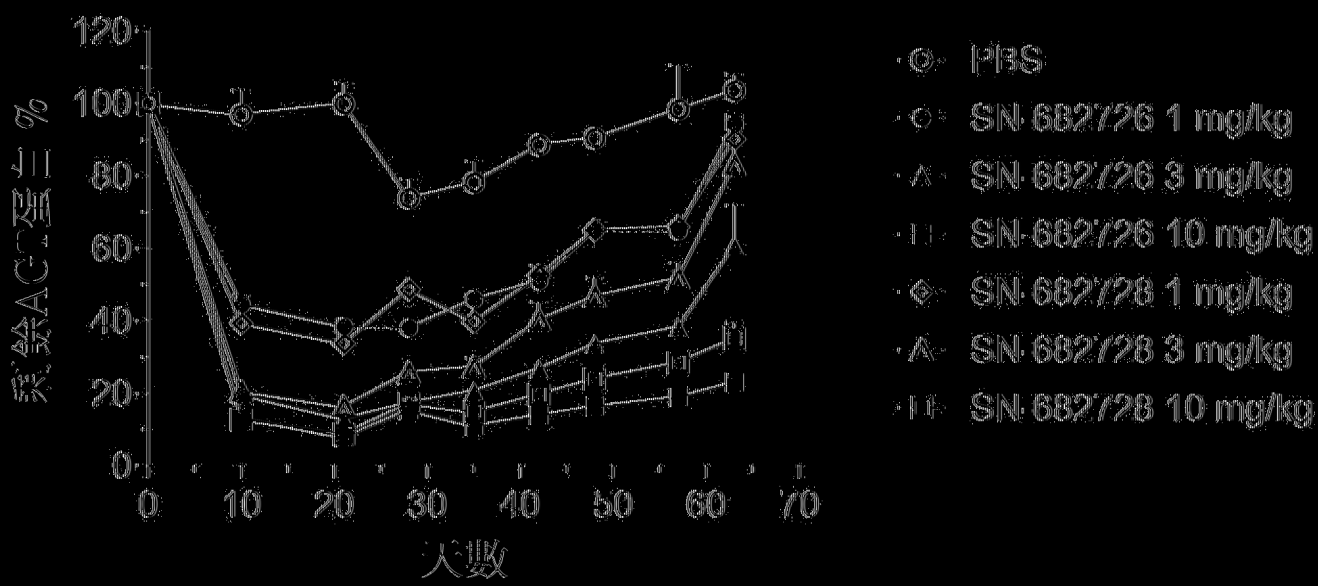


圖 2

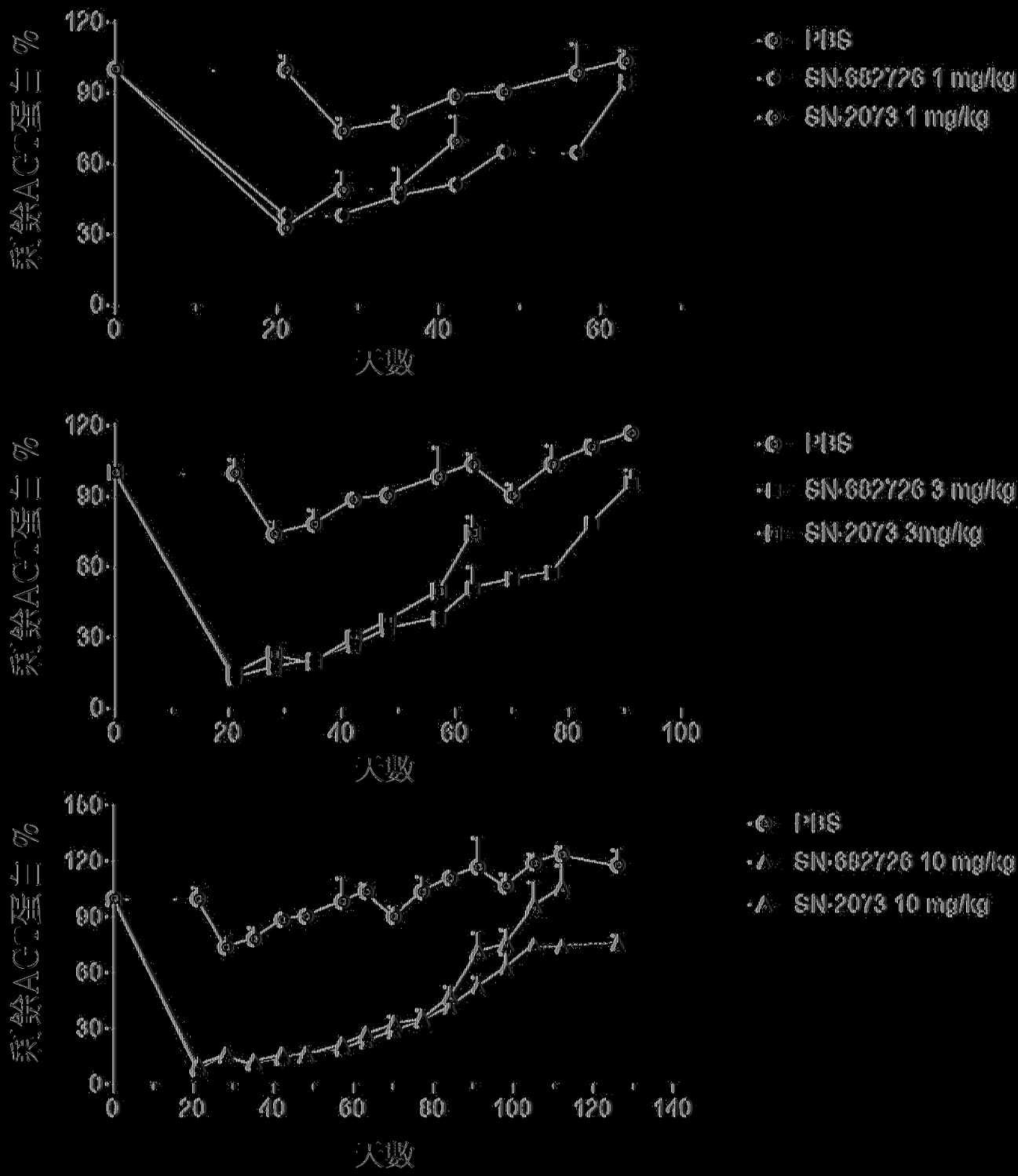


圖 3