



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I865532 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 12 月 11 日

(21)申請案號：109116935

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 05 月 21 日

(51)Int. Cl. : C12N15/113 (2010.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P7/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/05/22

中國大陸

201910430588.7

(71)申請人：大陸商蘇州瑞博生物技術股份有限公司(中國大陸) SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD. (CN)

中國大陸

(72)發明人：張鴻雁 ZHANG, HONGYAN (SE)；高山 GAO, SHAN (CN)；康代武 KANG, DAIWU (SE)；劉濤 LIU, TAO (CN)

(74)代理人：張耀暉；莊志強

(56)參考文獻：

EP 1752536A1

期刊 Sehgal, Alfica et al. Liver as a target for oligonucleotide therapeutics. Journal of hepatology vol. 59 ELSEVIER 2013 1354-9

期刊 Foster, Donald J et al. Advanced siRNA Designs Further Improve In Vivo Performance of GalNAc-siRNA Conjugates. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy vol. 26 ELSEVIER 2018 708-717

審查人員：陳婷好

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：0 共 313 頁

(54)名稱

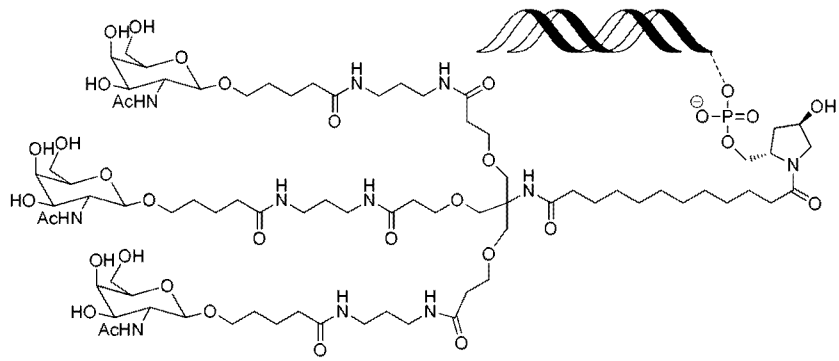
s i R N A 綴合物及其用途

(57)摘要

本發明提供了一種抑制血漿凝血因子 XI(Factor XI, FXI)基因表達的 siRNA，含有該 siRNA 的藥物組合物和綴合物。前述 siRNA 中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，該 siRNA 含有正義鏈和反義鏈，前述正義鏈含有核苷酸序列 I，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO：1 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，前述反義鏈含有核苷酸序列 II，前述核苷酸序列 II 與 SEQ ID NO：2 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異。本發明提供的 siRNA 及其藥物組合物和綴合物，可以有效治療和/或預防血栓性疾病和缺血性卒中。

特徵化學式：

[式305]





I865532

【發明摘要】

【中文發明名稱】 siRNA綴合物及其用途

【中文】

本發明提供了一種抑制血漿凝血因子XI(Factor XI, FXI)基因表達的siRNA，含有該siRNA的藥物組合物和綴合物。前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述正義鏈含有核苷酸序列I，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 1所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，前述反義鏈含有核苷酸序列II，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異。本發明提供的siRNA及其藥物組合物和綴合物，可以有效治療和/或預防血栓性疾病和缺血性卒中。

【代表圖之符號簡單說明】

【特徵化學式】

[illegible]

【發明說明書】

【中文發明名稱】 siRNA綴合物及其用途

【技術領域】

【0001】 本發明關於一種能夠抑制血漿凝血因子XI(Factor XI，FXI)基因表達的核酸和含有核酸的藥物組合物與siRNA綴合物。本發明還涉及這些核酸、藥物組合物與siRNA綴合物的製備方法和用途。

【先前技術】

【0002】 血漿凝血因子XI(Factor XI，以下簡稱為FXI)是接觸啟動途徑(contact activation pathway)的關鍵組分，有助於凝血酶的產生，而凝血酶又是參與纖維蛋白的形成和纖維蛋白溶解的保護的重要組分。高FXI水平是靜脈血栓形成的危險因素。通過抑制FXI基因的表達，能夠在細胞水平上對血栓性疾病、特別是靜脈血栓以及缺血性卒中進行預防和治療。

【0003】 小干擾RNA(small interfering RNA，siRNA)可基於RNA干擾(RNA interference，RNAi)這一機制，以序列特異性的方式抑制或阻斷任何感興趣的基因的表達，從而達到治療疾病的目的。

【0004】 開發抑制FXI基因表達和治療血栓性疾病的siRNA藥物的關鍵之一在於尋找合適的siRNA及其修飾以及有效的遞送系統。

【發明內容】

【0005】 本發明的發明人意外發現，具有本發明提供的如下siRNA及其修飾序列能夠特異性地抑制FXI基因的表達，含有siRNA的藥物組合物或siRNA綴合物能夠特異性地靶向肝臟，從而可以抑制肝臟中FXI基因的表達，實現血栓性疾病的治療或預防，從而完成了本發明。

【0006】 在一些實施方案中，本發明提供了第一種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含

有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 1所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ₁ -3'(SEQ ID NO: 1)；

5'- Z₂ UUGCUUGAAAGAAUACCC -3'(SEQ ID NO: 2)，

其中，Z₁為 U，Z₂為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₁的核苷酸 Z₃，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₂的核苷酸 Z₄，前述 Z₄是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0007】 在一些實施方案中，本發明提供了第二種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 61所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 62所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ₅ -3' (SEQ ID NO: 61)；

5'- Z₆GCUGUUAUAGUUUAUGCC -3' (SEQ ID NO: 62)，

其中，Z₅為 U，Z₆為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₅的核苷酸 Z₇，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₆的核苷酸 Z₈，前述 Z₈是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0008】 在一些實施方案中，本發明提供了第三種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補

形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 121所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 122所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₉ -3' (SEQ ID NO: 121)；

5'- Z₁₀UUCUUGGCAUUCUUGAGC -3' (SEQ ID NO: 122)，

其中，Z₉為A，Z₁₀為U，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₉的核苷酸Z₁₁，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₁₀的核苷酸Z₁₂，前述Z₁₂是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0009】 在一些實施方案中，本發明提供了第四種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 181所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GCAACAAAGACAUUAUGZ₁₃ -3' (SEQ ID NO: 181)；

5'- Z₁₄CAUAAAUGUCUUUGUUGC -3' (SEQ ID NO: 182)，

其中，Z₁₃為U，Z₁₄為A，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₁₃的核苷酸Z₁₅，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₁₄的核苷酸Z₁₆，前述Z₁₆是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0010】 在一些實施方案中，本發明提供了第五種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 241所示的核苷酸序列長度

相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 242所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₇ -3' (SEQ ID NO: 241)；

5'- Z₁₈AAGAUAUUCUUUGAGAUUC -3' (SEQ ID NO: 242)，

其中，Z₁₇ 為 U，Z₁₈ 為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₁₇的核苷酸 Z₁₉，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₁₈的核苷酸 Z₂₀，前述 Z₂₀是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0011】 在一些實施方案中，本發明提供了第六種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 301所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 302所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₁ -3' (SEQ ID NO: 301)；

5'- Z₂₂AGAAUCCAGUCCACGUAC -3' (SEQ ID NO: 302)，

其中，Z₂₁ 為 G，Z₂₂ 為 C，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₂₁的核苷酸 Z₂₃，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₂₂的核苷酸 Z₂₄，前述 Z₂₄是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0012】 在一些實施方案中，本發明提供了第七種能夠抑制FXI基因表達的siRNA，該siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 361所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 362所示的

核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₅ -3'(SEQ ID NO: 361)；

5'- Z₂₆GAAAGAAUACCCAGAAAU -3'(SEQ ID NO: 362)，

其中，Z₂₅ 為 A，Z₂₆ 為 U，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₂₅的核苷酸 Z₂₇，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₂₆的核苷酸 Z₂₈，前述 Z₂₈是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0013】 在一些實施方案中，本發明提供了第八種能夠抑制FXI基因表達的 siRNA，該 siRNA 含有正義鏈和反義鏈，前述 siRNA 中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列 I，反義鏈含有一段核苷酸序列 II，前述核苷酸序列 I 和前述核苷酸序列 II 至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 421 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，且前述核苷酸序列 II 與 SEQ ID NO: 422 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₂₉ -3' (SEQ ID NO: 421)；

5'- Z₃₀UAGUUUAUGCCCUUCAUG -3' (SEQ ID NO: 422)，

其中，Z₂₉ 為 U，Z₃₀ 為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₂₉的核苷酸 Z₃₁，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₃₀的核苷酸 Z₃₂，前述 Z₃₂是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0014】 在一些實施方案中，本發明提供了第九種能夠抑制FXI基因表達的 siRNA，該 siRNA 含有正義鏈和反義鏈，前述 siRNA 中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列 I，反義鏈含有一段核苷酸序列 II，前述核苷酸序列 I 和前述核苷酸序列 II 至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 481 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，且前述核苷酸序列 II 與 SEQ ID NO: 482 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₃ -3' (SEQ ID NO: 481) ;

5'- Z₃₄GAGUUUUCUCCAGAAUCC -3' (SEQ ID NO: 482) ,

其中，Z₃₃ 為 A，Z₃₄ 為 U，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₃₃ 的核苷酸 Z₃₅，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₃₄ 的核苷酸 Z₃₆，前述 Z₃₆ 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0015】 在一些實施方案中，本發明提供了一種藥物組合物，前述藥物組合物含有本發明的siRNA和藥學上可接受的載體。

【0016】 在一些實施方案中，本發明提供了一種siRNA綴合物，前述siRNA綴合物含有本發明提供的siRNA以及綴合連接至該siRNA的綴合基團。

【0017】 在一些實施方案中，本發明提供了本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物在製備用於治療和/或預防由前述FXI基因異常表達引起的血栓性疾病和/或缺血性卒中的藥物中的用途。

在一些實施方案中，本發明提供了一種治療和/或預防血栓性疾病和/或缺血性卒中的方法，前述方法包括將有效量的本發明的 siRNA 和/或藥物組合物和/或 siRNA 綴合物給予患有血栓性疾病和/或缺血性卒中的受試者。

【0018】 在一些實施方案中，本發明提供了一種抑制肝細胞中FXI基因表達的方法，該方法包括將有效量的本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物與前述肝細胞接觸。

【0019】 在一些實施方案中，本發明提供了一種試劑盒，前述試劑盒含有本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物。

【0020】 有益效果

【0021】 本發明提供的siRNA、藥物組合物和siRNA綴合物具有良好的穩定性，較高的FXI mRNA抑制活性，較低的脫靶效應，和/或能顯著治療或緩解血栓性疾病和/或缺血性卒中症狀。

【0022】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴

合物在體外細胞實驗中顯示出優異的靶基因抑制活性。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物在肝細胞中顯示出至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的靶基因表達抑制率。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA在psiCHECK系統中對FXI mRNA的IC₅₀的抑制活性，對FXI mRNA的IC₅₀在0.013-0.119 nM之間。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA在HepG2細胞中顯示出很高的抑制活性，對FXI mRNA的IC₅₀在1.49-11.1 nM之間。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA綴合物在小鼠肝原代細胞中顯示出很高的抑制活性，對FXI mRNA的IC₅₀在0.012-3.86nM之間。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA在HepG2細胞中對FXI mRNA表達量的抑制在濃度為50nM時可高達86.9%的FXI mRNA抑制率。

【0023】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物可在體內具有更高的穩定性和/或更高的活性。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物在體內顯示出至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的靶基因表達抑制率。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物在體內顯示出至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的FXI基因表達抑制率。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物在體內顯示出至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的動物模型中肝內FXI基因表達抑制率。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物在體內顯示出至少20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或95%的人類受試者中肝內FXI基因表達抑制率。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA綴合物在小鼠體內對FXI mRNA表達的抑制在5mg/kg的siRNA濃度下，抑制率可達95.0%。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA綴

合物在人源化小鼠體內對人FXI mRNA表達的抑制在3mg/kg的siRNA濃度下，抑制率可達93.09%，同時可顯著抑制血漿FXI蛋白濃度，抑制率可達99%左右。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA綴合物在CD57小鼠體內可顯著延長血漿APTT檢測值，例如，可延長64.9%。

【0024】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物未顯示出明顯脫靶效應。脫靶效應可以是例如抑制非靶基因的基因正常表達。據認為，如果脫靶基因表達的結合/抑制與在靶基因效果相比低於50%、40%、30%、20%或10%時，該脫靶效應就是不顯著的。

【0025】 由此說明，本發明提供的siRNA、藥物組合物以及siRNA綴合物能夠抑制FXI基因的表達，有效治療和/或預防由FXI基因過量表達引起的血栓性疾病和/或缺血性卒中症狀，具有良好的應用前景。

【0026】 本發明的其他特徵和優點將在隨後的具體實施方式部分予以詳細說明。

【圖式簡單說明】

無。

【實施方式】

【0027】 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。

【0028】 在本發明中，FXI mRNA是指具有Genbank註冊號為NM_000128.3所示序列的mRNA。進一步地，若無其它說明，本發明中所使用的術語“靶基因”是指轉錄上述FXI mRNA的基因，術語“靶mRNA”是指上述FXI mRNA。

【0029】 定義

【0030】 在上文及下文中，如無特別說明，大寫字母C、G、U、A表示核苷酸的鹼基組成；小寫字母m表示該字母m左側相鄰的一個核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；小寫字母f表示該字母f左側相鄰的一個核苷酸為氟代修飾的核苷酸；小

寫字母s表示與該字母s左右相鄰的兩個核苷酸之間為硫代磷酸酯基連接；P1表示該P1右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸或5'-磷酸類似物修飾的核苷酸，字母組合VP表示該字母組合VP右側相鄰的一個核苷酸為乙烯基磷酸酯(5'-(E)-vinylphosphonate，E-VP)修飾的核苷酸，字母組合Ps表示該字母組合Ps右側相鄰的一個核苷酸為硫代磷酸酯修飾的核苷酸，大寫字母P表示該字母P右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸。

【0031】 在上文及下文中，前述“氟代修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基2'位的羥基被氟取代形成的核苷酸，“非氟代修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基2'位的羥基被非氟基團取代形成的核苷酸或核苷酸類似物。“核苷酸類似物”指能夠在核酸中代替核苷酸，但結構不同於腺嘌呤核糖核苷酸、鳥嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸或胸腺嘧啶去氧核糖核苷酸的基團。如異核苷酸、橋聯的核苷酸(bridged nucleic acid，簡稱BNA)或無環核苷酸。前述“甲氧基修飾的核苷酸”指核糖基的2'-羥基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

【0032】 在本文的上下文中，表述“互補”或“反向互補”可互相替代使用，並具有所屬技術領域具有通常知識者周知的含義，即，在雙鏈核酸分子中，一條鏈的鹼基各自與另一條鏈上的鹼基以互補的方式相配對。在DNA中，嘌呤鹼基腺嘌呤(A)始終與嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)(或者在RNA中為尿嘧啶(U))相配對；嘌呤鹼基鳥嘌呤(C)始終與嘧啶鹼基胞嘧啶(G)相配對。每個鹼基對都包括一個嘌呤和一個嘧啶。當一條鏈上的腺嘌呤始終與另一條鏈上的胸腺嘧啶(或尿嘧啶)配對，以及鳥嘌呤始終與胞嘧啶配對時，兩條鏈被認為是彼此相互補的，以及從其互補鏈的序列中可以推斷出該鏈的序列。與此相應地，“錯配”在本領域中意指在雙鏈核酸中，對應位置上的鹼基並未以互補的形式配對存在。

【0033】 在上文及下文中，如無特別說明，“基本上反向互補”是指所涉及的兩段核苷酸序列之間存在不多於3個的鹼基錯配；“實質上反向互補”是指兩段核苷酸序列之間存在不多於1個的鹼基錯配；“完全反向互補”是指兩段核苷酸序列

之間不存在鹼基錯配。

【0034】 在上文及下文中，一個核苷酸序列與另外一個核苷酸序列存在“核苷酸差異”，是指前者與後者相比，相同位置的核苷酸的鹼基種類發生了改變，例如，在後者中一個核苷酸鹼基為A時，在前者的相同位置處的對應核苷酸鹼基為U、C、G或者T的情況下，認定為兩個核苷酸序列之間在該位置處存在核苷酸差異。在一些實施方案中，以無鹼基核苷酸或其均等物代替原位置的核苷酸時，也可認為在該位置處產生了核苷酸差異。

【0035】 在上文及下文中，特別是在描述本發明的siRNA、含siRNA的藥物組合物或siRNA綴合物的製備方法時，除非特別說明，前述核苷單體(nucleoside monomer)指，根據欲製備的siRNA或siRNA綴合物中核苷酸的種類和順序，亞磷醯胺固相合成中使用的修飾或未修飾的核苷亞磷醯胺單體(unmodified or modified RNA phosphoramidites，有時RNA phosphoramidites也稱為Nucleoside phosphoramidites)。亞磷醯胺固相合成為所屬技術領域具有通常知識者所公知的RNA合成中所用的方法。本發明所用的核苷單體均可商購得到。

【0036】 在本發明的上下文中，除非另有說明，“綴合”是指兩個或多個各自具有特定功能的化學部分之間以共價連接的方式彼此連接；相應地，“綴合物”是指該各個化學部分之間通過共價連接而形成的化合物。進一步地，“siRNA綴合物”表示一個或多個具有特定功能的化學部分共價連接至siRNA上而形成的化合物。在下文中，有時也將本發明的siRNA綴合物簡稱為“綴合物”。siRNA綴合物應根據上下文，理解為siRNA綴合物的總稱、式(305)和式(307)所示的siRNA綴合物總稱，或式(305)、式(307)、式(308)所示的siRNA綴合物。在本發明的上下文中，“綴合分子”應當理解為可通過反應綴合至siRNA，最終形成本發明的siRNA綴合物的特定化合物。

【0037】 如本文所使用的，“任選的”或“任選地”是指其後描述的事件或狀況可以發生或不發生，並且該描述包括事件或狀況發生的情況和不發生的情況。

例如，“任選地取代”的“烷基”包括下文定義的“烷基”和“取代烷基”。所屬技術領域具有通常知識者將理解的是，對於包含一個或多個取代基的任何基團，這些基團不打算引入空間上不切實際、合成上不可行和/或本身不穩定的任何取代或取代模式。

【0038】 如本文所使用的，“烷基”是指具有指定數量的碳原子的直鏈和支鏈，前述數量通常為1至20個碳原子，例如1至10個碳原子，如1至8個或1至6個碳原子。例如， C_1 - C_6 烷基包含1至6個碳原子的直鏈和支鏈烷基。當提及具有特定數量的碳的烷基殘基時，旨在涵蓋具有該數量的碳的所有支鏈和直鏈形式；因此，例如，“丁基”意味著包括正丁基、仲丁基、異丁基和叔丁基；“丙基”包括正丙基和異丙基。亞烷基是烷基的子集，指與烷基相同、但具有兩個連接點的殘基。

【0039】 如本文所使用的，“烯基”是指具有至少一個碳-碳雙鍵的不飽和支鏈或直鏈烷基，前述碳-碳雙鍵是通過從母體烷基的相鄰碳原子中除去一分子氫而獲得的。該基團可以處於雙鍵的順式或反式構型。典型的烯基基團包括但不限於：乙烯基；丙烯基，如丙-1-烯-1-基、丙-1-烯-2-基、丙-2-烯-1-基(烯丙基)、丙-2-烯-2-基；丁烯基，例如丁-1-烯-1-基、丁-1-烯-2-基、2-甲基丙-1-烯-1-基、丁-2-烯-1-基、丁-2-烯-2-基、丁-1,3-二烯-1-基、丁-1,3-二烯-2-基等等。在某些實施方案中，烯基基團具有2到20個碳原子，而在其他實施方案中，具有2至10個、2至8個或2至6個碳原子。亞烯基是烯基的一個子集，指與烯基相同、但具有兩個連接點的殘基。

【0040】 如本文所使用的，“炔基”是指具有至少一個碳-碳三鍵的不飽和支鏈或直鏈烷基，前述碳-碳三鍵是通過從母體烷基的相鄰碳原子中除去兩分子氫而獲得的。典型的炔基基團包括但不限於：乙炔基；丙炔基，如丙-1-炔-1-基、丙-2-炔-1-基；丁炔基，例如丁-1-炔-1-基、丁-1-炔-3-基、丁-3-炔-1-基等。在某些實施方案中，炔基具有2到20個碳原子，而在其他實施方案中，具有2至10、2

至8或2至6個碳原子。亞炔基是炔基的一個子集，指的是與炔基相同、但有兩個連接點的殘基。

【0041】如本文所使用的，“烷氧基”是指通過氧橋連接的指定數量碳原子的烷基，例如，甲氧基、乙氧基、丙氧基、異丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、戊氧基、2-戊氧基、異戊氧基、新戊氧基、己氧基、2-己氧基、3-己氧基、3-甲基戊氧基等。烷氧基通常具有1至10個、1至8個、1至6個或1至4個通過氧橋連接的碳原子。

【0042】如本文所使用的，“芳基”是指通過從環碳原子中除去氫原子而衍生自芳香族單環或多環烴環系統形成的基團。前述芳香族單環或多環烴環系統僅含有氫和6至18個碳原子的碳，其中前述環系統中的至少一個環是完全不飽和的，即，包含根據Hückel理論的環狀、離域的 $(4n+2)\pi$ -電子體系。芳基包括但不限於苯基、茚基和萘基等基團。亞芳基是芳基的子集，指與芳基相同、但具有兩個連接點的殘基。

【0043】如本文所使用的，“鹵素取代基”或“鹵素”指氟代、氯代、溴代或碘代，術語“鹵素”包括氟、氯、溴或碘。

【0044】如本文所使用的，“鹵代烷基”是指指定數量的碳原子被一個或多個、直至最大允許數量的鹵素原子取代的如上述所定義的烷基。鹵代烷基的實例包括但不限於三氟甲基、二氟甲基、2-氟乙基或五氟乙基。

【0045】“雜環基”是指穩定的3-至18-員非芳香族環基，包含2-12個碳原子和1-6個雜原子，前述雜原子選自氮、氧或硫。除非說明書中另有說明，雜環基是單環、雙環、三環或四環系統，可包括稠環或橋環系統。雜環基中的雜原子可以任選地被氧化。一個或多個氮原子(如果存在的話)任選地被季銨化。雜環基是部分飽和或完全飽和的。雜環基可以通過任何環原子連接至分子的其餘部分。此類雜環基的實例包括但不限於：二噁烷基、噻吩基[1,3]二硫鹽基(thienyl[1,3]dithianyl)、十氫異喹啉基、咪唑啉基、咪唑烷基、異噻唑烷基、異噻

唑烷基、嗎啉基、八氫吡啶基、八氫異吡啶基、2-氧雜呋喃基、2-氧雜呋啶基、2-氧雜吡咯烷基、噁唑烷基、呋啶基、呋喃基、4-呋啶酮基、吡咯烷基、吡唑烷基、奎寧環基、噻唑烷基、四氫呋喃基、三硫鹽基(trithianyl)、四氫吡喃基、硫代嗎啉基(thiomorpholinyl)、硫雜嗎啉基(thiamorpholinyl)、1-氧代硫嗎啉基(1-oxo-thiomorpholinyl)和1,1-二氧代硫嗎啉基(1,1-dioxo-thiomorpholinyl)。

【0046】“雜芳基”指由3-至18-員芳香環自由基衍生而成的基團，包含2個至17個碳原子和選自氮、氧和硫的1至6個雜原子。如本文所使用的，雜芳基可以是單環、雙環、三環或四環系統，其中環系統中的至少一個環是完全不飽和的，即，包含根據Hückel理論的環狀離域 $(4n+2)\pi$ -電子體系。雜芳基包括稠環或橋環系統。雜芳基中的雜原子被任選地氧化。一個或多個氮原子(如果存在的話)任選地被季銨化。雜芳基通過任何環原子連接至分子的其餘部分。雜芳基的實例包括但不限於：氮雜環庚三烯基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并吡啶基、1,3-苯并二噁唑基、苯并呋喃基、苯并噁唑基、苯并[d]噻唑基、苯并噻二唑基、苯并[b][1,4]二噁庚英基(benzo[b][1,4]dioxepinyl)、苯并[b][1,4]噁嗪基(benzo[b][1,4]oxazinyl)、1,4-苯并二噁烷基(1,4-benzodioxanyl)、苯并蔡并呋喃基、苯并噁唑基、苯并間二氧雜環戊烯基(benzodioxolyl)、苯并二噁英基(benzodioxinyl)、苯并吡喃基、苯并吡喃酮基、苯并呋喃基、苯并呋喃酮基、苯并噻吩基、苯并噻吩并[3,2-d]嘧啶基、苯并三唑基、苯并[4,6]咪唑并[1,2-a]吡啶基、喹唑基、噌啉基(cinnolinyl)、環戊烷并[d]嘧啶基、6,7-二氫-5H-環戊烷并[4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶基、5,6-二氫苯并[h]喹唑啉基(5,6-dihydrobenzo[h]quinazolinyl)、5,6-二氫苯并[h]噌啉基(5,6-dihydrobenzo[h]cinnolinyl)、6,7-二氫-5H-苯并[6,7]環庚烷并[1,2-c]噻嗪基、二苯并呋喃基、二苯并噻吩基、呋喃基、呋喃酮基、呋喃并[3,2-c]吡啶基、5,6,7,8,9,10-六氫環辛烷并[d]嘧啶基、5,6,7,8,9,10-六氫環辛烷并[d]噻嗪基、5,6,7,8,9,10-六氫環辛烷并[d]吡啶基、異噻唑基、咪唑基、吡唑基(indazolyl)、吡啶基、異吡啶基、

二氫吲哚基、異二氫吲哚基、異喹啉基、吲哚嗪基(indoliziny)l)、異噁唑基、5,8-
甲醇-5,6,7,8-四氫喹啉基(5,8-methano-5,6,7,8-tetrahydroquinazolinyl)、萘啶基
(naphthyridinyl)、1,6-萘啶酮基(1,6-naphthyridinonyl)、噁二唑基、2-氧雜吡庚因
基(2-oxoazepinyl)、噁唑基、氧雜環丙烷基(oxiranyl)、5,6,6a,7,8,9,10,10a-八氫苯
并[H]喹啉基、1-苯基-1*H*-吡咯基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、酞嗪基
(phthalazinyl)、蝶啶基(pteridinyl)、嘌呤基、吡咯基、吡唑基、吡啶并[3,4-*d*]嘧啶
基、吡啶基、吡啶并[3,2-*d*]嘧啶基、吡啶并[3,4-*d*]嘧啶基、吡嗪基、嘧啶基、噻
嗪基、吡咯基、喹啉基、喹喔啉基(quinoxaliny)l)、喹啉基、四氫喹啉基、5,6,7,8-
四氫喹啉基、5,6,7,8-四氫苯并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶基、6,7,8,9-四氫-5*H*-環庚
烷并[4,5]噻吩并[2,3-*d*]嘧啶基、5,6,7,8-四氫吡啶并[4,5-*c*]噻嗪基、噁唑基、噁二
唑基、三唑基、四唑基、三嗪基、噁吩并[2,3-*d*]嘧啶基、噁吩并[3,2-*d*]嘧啶基、
噁吩并[2,3-*c*]吡啶基(thieno[2,3-*c*]pridinyl)和噁吩基(thiophenyl/thienyl)。

【0047】 在本發明中可以使用各種羥基保護基團。一般來說，保護基團使化學官能團對特定的反應條件不敏感，並且可以在分子中的該官能團上添加以及去除，而不實質上損害分子的其餘部分。代表性的羥基保護基團公開於Beaucage等人，Tetrahedron 1992, 48, 2223-2311，以及Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Chapter 2, 2d ed, John Wiley & Sons, New York, 1991中，以引用的方式將上述文獻各自整體併入本文。在一些實施方案中，保護基團在鹼性條件下穩定，但可以在酸性條件下脫除。在一些實施方案中，本文可使用的羥基保護基的非排他性實例包括二甲氧基三苯甲基(DMT)、單甲氧基三苯甲基、9-苯基氧雜蒽-9-基(Pixyl)或9-(對甲氧基苯基) 氧雜蒽-9-基(Mox)。在一些實施方案中，本文可使用的羥基保護基的非排他性實例包括Tr(三苯甲基)、MMTr(4-甲氧基三苯甲基)、DMTr(4,4'-二甲氧基三苯甲基)或TMTr(4,4',4''-三甲氧基三苯甲基)。

【0048】 “受試者”一詞，如本文所使用的，指任何動物，例如哺乳動物或

有袋動物。本發明的受試者包括但不限於人類、非人靈長類(例如，恆河猴或其他類型的獼猴)、小鼠、豬、馬、驢、牛、綿羊、大鼠或任何種類的家禽。

【0049】如本文所使用的，“治療”是指獲得有益的或期望的結果的方法，包括但不限於治療益處。“治療益處”意味著根除或改善被治療的潛在障礙。此外，治療益處通過根除或改善與潛在障礙相關的一個或多個生理症狀，從而在受試者中觀察到改善而獲得，儘管受試者可能仍然受到潛在障礙的折磨。

【0050】如本文所使用的，“預防”指獲得有益或期望的結果的方法，包括但不限於預防性益處。為了獲得“預防性益處”，可將siRNA、siRNA綴合物或藥物組合物給予有罹患特定疾病風險的受試者，或給予報告疾病的一種或多種生理症狀的受試者，即便可能該疾病的診斷尚未作出。

【0051】在一方面，本發明提供了第一種至第九種能夠抑制FXI基因表達的siRNA。以下依次對其進行詳細描述。

【0052】本發明的siRNA含有核苷酸基團作為基本結構單元，所屬技術領域具有通常知識者公知，前述核苷酸基團含有磷酸基團、核糖基團和鹼基，在此不再贅述。

【0053】第一種siRNA

【0054】按照本發明，前述siRNA可以是第一種siRNA。

【0055】前述第一種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第一種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 1所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ₁ -3'(SEQ ID NO: 1)；

5'- Z₂UUGCUUGAAAGAAUACCC -3'(SEQ ID NO: 2)，

其中， Z_1 為 U， Z_2 為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z_1 的核苷酸 Z_3 ，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z_2 的核苷酸 Z_4 ，前述 Z_4 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0056】 在上文與下文中，“位置對應”是指從核苷酸序列相同端起算，處於核苷酸序列中相同的位置。例如，核苷酸序列I的3'端第1個核苷酸是位置對應於SEQ ID NO: 1的3'端第1個核苷酸的核苷酸。

【0057】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0058】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 1所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0059】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括 Z_4 位置處的差異，且 Z_4 選自U、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為 Z_4 位置處的差異， Z_4 選自U、C或G。在一些實施方案中， Z_3 是與 Z_4 互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0060】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補；前述基本上反向互補是指兩個核苷酸序列之間存在不多於3個的鹼基錯配；前述實質上反向互補是指兩個核苷酸序列之間存在不多於1個的鹼基錯配；完全反向互補是指兩個核苷酸序列之間沒有鹼基錯配。

【0061】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 3所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 4所示的核苷酸序列：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAA Z_3 -3'(SEQ ID NO: 3)；

5'- Z_4 UUGCUUGAAAGAAUACCC -3'(SEQ ID NO: 4)，

其中，前述 Z_4 是反義鏈 5' 末端的第一個核苷酸， Z_3 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_4 是與 Z_3 互補的核苷酸；在一些實施方案中， Z_3 為 U， Z_4 為 A；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。這樣，本發明提供的 siRNA 正義鏈和反義鏈的長度比可以是 19/19、19/20、19/21、19/22、19/23、19/24、19/25、19/26、20/20、20/21、20/22、20/23、20/24、20/25、20/26、21/20、21/21、21/22、21/23、21/24、21/25、21/26、22/20、22/21、22/22、22/23、22/24、22/25、22/26、23/20、23/21、23/22、23/23、23/24、23/25 或 23/26。在一些實施方案中，前述 siRNA 正義鏈和反義鏈的長度比為 19/21、21/23 或 23/25。

【0062】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列 III，前述反義鏈還含有核苷酸序列 IV，核苷酸序列 III 和核苷酸序列 IV 長度各自為 1-4 個核苷酸；前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列 III 連接在前述核苷酸序列 I 的 5' 末端，前述核苷酸序列 IV 連接在前述核苷酸序列 II 的 3' 末端。在一些實施方案中，前述核苷酸序列 IV 與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶 mRNA 中與由 SEQ ID NO: 1 表示的核苷酸序列的 5' 末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列 IV 相同的核苷酸序列。

【0063】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列 III 和核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，核苷酸序列 III 的鹼基為 U，核苷酸序列 IV 的鹼基為 A；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為 20/20；或者，核苷酸序列 III 和 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5' 末端到 3' 末端的方向，核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CU，核苷酸序列 IV 的鹼基組成為 AG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為 21/21；或者，核苷酸序列 III 和 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5' 末端到 3' 末端的方向，核苷酸序列 III 的鹼基組成為 UCU，核苷酸序列 IV 的鹼基組成為 AGA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為 22/22；或者，核苷酸序列 III 和 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5' 末端到 3' 末端

的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為UUCU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AGAA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0064】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0065】 第二種siRNA

【0066】 按照本發明，前述siRNA可以是第二種siRNA。

【0067】 前述第二種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第二種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 61所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 62所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ₅ -3' (SEQ ID NO: 61)；

5'- Z₆GCUGUUAUAGUUUAUGCC -3' (SEQ ID NO: 62)，

其中，Z₅為U，Z₆為A，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₅的核苷酸Z₇，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₆的核苷酸Z₈，前述Z₈是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0068】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0069】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 61所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 62所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0070】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 62所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₈位置處的差異，且Z₈選自U、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為Z₈位置處的差異，Z₈選自U、C或G。在一些實施方案中，Z₇是與Z₈互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0071】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0072】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 63所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 64所示的核苷酸序列：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ₇-3' (SEQ ID NO: 63)；

5'-Z₈ GCUGUUAUAGUUUAUGCC -3' (SEQ ID NO: 64)，

其中，前述 Z₈是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₇選自 A、U、G 或 C，並且 Z₈是與 Z₇互補的核苷酸；在一些實施方案中，Z₇為 U，Z₈為 A；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0073】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 61表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0074】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為G，核苷酸序列IV的鹼基為C；此時，正義

鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AAG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CUU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GAAG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CUUC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0075】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0076】 第三種siRNA

【0077】 按照本發明，前述siRNA可以是第三種siRNA。

【0078】 前述第三種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第三種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 121所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 122所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₉ -3' (SEQ ID NO: 121)；

5'- Z₁₀UUCUUGGCAUUCUUGAGC -3' (SEQ ID NO: 122)，

其中，Z₉為A，Z₁₀為U，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₉的核苷酸Z₁₁，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₁₀的核苷酸Z₁₂，前述Z₁₂是前述反

義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0079】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0080】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 121所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 122所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0081】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 122所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₁₂位置處的差異，且Z₁₂選自A、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為Z₁₂位置處的差異，Z₁₂選自A、C或G。在一些實施方案中，Z₁₁是與Z₁₂互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0082】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0083】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 123所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 124所示的核苷酸序列：

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₁₁ -3' (SEQ ID NO: 123)；

5'- Z₁₂UUCUUGGCAUUCUUGAGC -3' (SEQ ID NO: 124)，

其中，前述 Z₁₂是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₁₁ 選自 A、U、G 或 C，並且 Z₁₂是與 Z₁₁ 互補的核苷酸；在一些實施方案中，Z₁₁ 為 A，Z₁₂ 為 U；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0084】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全

反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 121表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0085】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為U，核苷酸序列IV的鹼基為A；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AGU，核苷酸序列IV的鹼基組成為ACU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GAGU，核苷酸序列IV的鹼基組成為ACUC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0086】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0087】 第四種siRNA

【0088】 按照本發明，前述siRNA可以是第四種siRNA。

【0089】 前述第四種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第四種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸

序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 181所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GCAACAAAGACAUUUAUGZ₁₃ -3' (SEQ ID NO: 181)；

5'-Z₁₄CAUAAAUGUCUUUGUUGC -3' (SEQ ID NO: 182)，

其中，Z₁₃為U，Z₁₄為A，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₁₃的核苷酸Z₁₅，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₁₄的核苷酸Z₁₆，前述Z₁₆是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0090】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0091】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 181所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0092】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 182所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₁₆位置處的差異，且Z₁₆選自U、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為Z₁₆位置處的差異，Z₁₆選自U、C或G。在一些實施方案中，Z₁₅是與Z₁₆互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0093】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0094】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 183所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 184所示的核苷酸序列：

5'- GCAACAAAGACAUUUAUGZ₁₅ -3' (SEQ ID NO: 183)；

5'- Z₁₆CAUAAAUGUCUUUGUUGC -3' (SEQ ID NO: 184)，

其中，前述 Z_{16} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{15} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{16} 是與 Z_{15} 互補的核苷酸；在一些實施方案中， Z_{15} 為 U， Z_{16} 為 A；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0095】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由 SEQ ID NO: 181 表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0096】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為U，核苷酸序列IV的鹼基為A；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為UU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CUU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AAG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GCUU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AAGC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為UU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0097】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0098】 第五種siRNA

【0099】 按照本發明，前述siRNA可以是第五種siRNA。

【0100】 前述第五種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第五種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 241所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 242所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₇ -3' (SEQ ID NO: 241)；

5'- Z₁₈ AAGAUUUCUUUGAGAUUC -3' (SEQ ID NO: 242)，

其中，Z₁₇為 U，Z₁₈為 A，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₁₇的核苷酸 Z₁₉，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₁₈的核苷酸 Z₂₀，前述 Z₂₀是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0101】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0102】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 241所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 242所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0103】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 242所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₂₀位置處的差異，且Z₂₀選自U、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為Z₂₀位置處的差異，Z₂₀選自U、C或G。在一些實施方案中，Z₁₉是與Z₂₀互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之

內。

【0104】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0105】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 243所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 244所示的核苷酸序列：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₉ -3' (SEQ ID NO: 243)；

5'- Z₂₀AAGA UUUCUUUGAGAUUC -3' (SEQ ID NO: 244)，

其中，前述 Z₂₀ 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₁₉ 選自 A、U、G 或 C，並且 Z₂₀ 是與 Z₁₉ 互補的核苷酸；在一些實施方案中，Z₁₉ 為 U，Z₂₀ 為 A；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0106】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 241表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0107】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為A，核苷酸序列IV的鹼基為U；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序

列III的鹼基組成為AAA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UUU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CAAA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UUUG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0108】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0109】 第六種siRNA

【0110】 按照本發明，前述siRNA可以是第六種siRNA。

前述第六種 siRNA 含有正義鏈和反義鏈，前述第六種 siRNA 中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列 I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列 II，前述核苷酸序列 I 和前述核苷酸序列 II 至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 301 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，且前述核苷酸序列 II 與 SEQ ID NO: 302 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異：

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₁ -3' (SEQ ID NO: 301)；

5'- Z₂₂ AGAAUCCAGUCCACGUAC -3' (SEQ ID NO: 302)，

其中，Z₂₁ 為 G，Z₂₂ 為 C，前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₂₁ 的核苷酸 Z₂₃，前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₂₂ 的核苷酸 Z₂₄，前述 Z₂₄ 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0111】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0112】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 301所示的核

核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 302所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0113】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 302所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括 Z_{24} 位置處的差異，且 Z_{24} 選自U、G或A。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為 Z_{24} 位置處的差異， Z_{24} 選自U、G或A。在一些實施方案中， Z_{23} 是與 Z_{24} 互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0114】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0115】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 303所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 304所示的核苷酸序列：

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₃ -3' (SEQ ID NO: 303)；

5'- Z₂₄ AGAAUCCAGUCCACGUAC -3' (SEQ ID NO: 304)，

其中，前述 Z_{24} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{23} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{24} 是與 Z_{23} 互補的核苷酸；在一些實施方案中， Z_{23} 為 G， Z_{24} 為 C；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0116】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 301表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相

同的核苷酸序列。

【0117】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為A，核苷酸序列IV的鹼基為U；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CGA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UCG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為UCGA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UCGA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0118】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0119】 第七種siRNA

【0120】 按照本發明，前述siRNA可以是第七種siRNA。

【0121】 前述第七種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第七種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 361所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 362所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₅ -3'(SEQ ID NO: 361)；

5'- Z₂₆ GAAAGAAUACCCAGAAAU -3'(SEQ ID NO: 362) ,

其中, Z₂₅ 為 A, Z₂₆ 為 U, 前述核苷酸序列 I 中包含位置對應於 Z₂₅ 的核苷酸 Z₂₇, 前述核苷酸序列 II 中包含位置對應於 Z₂₆ 的核苷酸 Z₂₈, 前述 Z₂₈ 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸。

【0122】 在一些實施方案中, 前述正義鏈僅包含核苷酸序列I, 前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0123】 在一些實施方案中, 前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 361所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異, 和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 362所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0124】 在一些實施方案中, 前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 362所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₂₈位置處的差異, 且Z₄選自A、C或G。在一些實施方案中, 前述核苷酸差異為Z₂₈位置處的差異, Z₄選自A、C或G。在一些實施方案中, Z₂₇是與Z₂₈互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力, 而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0125】 在一些實施方案中, 前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0126】 在一些實施方案中, 核苷酸序列I是SEQ ID NO: 363所示的核苷酸序列, 核苷酸序列II是SEQ ID NO: 364所示的核苷酸序列:

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇ -3'(SEQ ID NO: 363) ;

5'- Z₂₈ GAAAGAAUACCCAGAAAU -3'(SEQ ID NO: 364) ,

其中, 前述 Z₂₈ 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸, Z₂₇ 選自 A、U、G 或 C, Z₂₈ 是與 Z₂₇ 互補的核苷酸; 在一些實施方案中, Z₂₇ 為 A, Z₂₈ 為 U。

並且, 前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同, 前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸, 反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0127】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端。在一些實施方案中，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 361表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0128】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為G，核苷酸序列IV的鹼基為C；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GCG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CGC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AGCG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CGCU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CG，核苷酸序列IV的鹼基組成為CG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0129】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0130】 第八種siRNA

【0131】 按照本發明，前述siRNA可以是第八種siRNA。

【0132】 前述第八種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第八種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 421所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 422所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₂₉ -3' (SEQ ID NO: 421)；

5'- Z₃₀UAGUUUAUGCCCUUCAUG -3' (SEQ ID NO: 422)，

其中，Z₂₉為U，Z₃₀為A，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₂₉的核苷酸Z₃₁，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₃₀的核苷酸Z₃₂，前述Z₃₂是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0133】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0134】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列SEQ ID NO: 421所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 422所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0135】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 422所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₃₂位置處的差異，且Z₃₂選自U、C或G。在一些實施方案中，前述核苷酸差異為Z₃₂位置處的差異，Z₃₂選自U、C或G。在一些實施方案中，Z₃₁是與Z₃₂互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0136】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0137】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 423所示的核苷酸

序列，前述核苷酸序列II是SEQ ID NO: 424所示的核苷酸序列：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁ -3' (SEQ ID NO: 423)；

5'- Z₃₂ UAGUUUAUGCCCUUCAUG -3' (SEQ ID NO: 424)，

其中，前述 Z₃₂ 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₃₁ 選自 A、U、G 或 C，Z₃₂ 是與 Z₃₁ 互補的核苷酸；在一些實施方案中，Z₃₁ 為 U，Z₃₂ 為 A。

【0138】 並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為19-23個核苷酸，反義鏈的長度為19-26個核苷酸。

【0139】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端。在一些實施方案中，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 421表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0140】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為A，核苷酸序列IV的鹼基為U；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為AGA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UCU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為UAGA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UCUA；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，

前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GA，核苷酸序列IV的鹼基組成為UC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0141】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。

【0142】 第九種siRNA

【0143】 按照本發明，前述siRNA可以是第九種siRNA。

【0144】 前述第九種siRNA含有正義鏈和反義鏈，前述第九種siRNA中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列II，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II至少部分地反向互補形成雙鏈區，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 481所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，且前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 482所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₃ -3'(SEQ ID NO: 481)；

5'- Z₃₄GAGUUUUCUCCAGAAUCC -3'(SEQ ID NO: 482)，

其中，Z₃₃為A，Z₃₄為U，前述核苷酸序列I中包含位置對應於Z₃₃的核苷酸Z₃₅，前述核苷酸序列II中包含位置對應於Z₃₄的核苷酸Z₃₆，前述Z₃₆是前述反義鏈5'末端的第一個核苷酸。

【0145】 在一些實施方案中，前述正義鏈僅包含核苷酸序列I，前述反義鏈僅包含核苷酸序列II。

【0146】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 481所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異，和/或前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 2所示的核苷酸序列之間不多於1個核苷酸差異。

【0147】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列II與SEQ ID NO: 482所示的核苷酸序列之間的核苷酸差異包括Z₃₆位置處的差異，且Z₃₆選自A、C或G。在一些

實施方案中，前述核苷酸差異為 Z_{36} 位置處的差異， Z_{36} 選自A、C或G。在一些實施方案中， Z_{35} 是與 Z_{36} 互補的核苷酸。具有上述核苷酸差異的siRNA具有較高的靶mRNA抑制能力，而這些包含核苷酸差異的siRNA也在本發明的保護範圍之內。

【0148】 在一些實施方案中，前述核苷酸序列I和前述核苷酸序列II基本上反向互補、實質上反向互補或完全反向互補。

【0149】 在一些實施方案中，核苷酸序列I是SEQ ID NO: 483所示的核苷酸序列，核苷酸序列II是SEQ ID NO: 484所示的核苷酸序列：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₅-3'(SEQ ID NO: 483)；

5'- Z₃₆GAGUUUUCUCCAGAAUCC -3'(SEQ ID NO: 484)，

其中，前述 Z_{36} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{35} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{36} 是與 Z_{35} 互補的核苷酸；在一些實施方案中， Z_{35} 為 A， Z_{36} 為 U；

並且，前述正義鏈和反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸。

【0150】 在一些實施方案中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，核苷酸序列III和核苷酸序列IV長度各自為1-4個核苷酸；前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且實質上反向互補或者完全反向互補；前述核苷酸序列III連接在前述核苷酸序列I的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在前述核苷酸序列II的3'末端。在一些實施方案中，前述核苷酸序列IV與第二段核苷酸序列實質上反向互補或者完全反向互補，該第二段核苷酸序列是指和靶mRNA中與由SEQ ID NO: 481表示的核苷酸序列的5'末端相鄰，且長度與前述核苷酸序列IV相同的核苷酸序列。

【0151】 在一些實施方案中，按照5'-3'的方向，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，核苷酸序列III的鹼基為U，核苷酸序列IV的鹼基為A；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為20/20；或者，核苷酸序列III和IV的長

度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為ACU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AGU；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為22/22；或者，核苷酸序列III和IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為GACU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AGUC；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為23/23。在一些實施方案中，前述核苷酸序列III和核苷酸序列IV的長度為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，核苷酸序列III的鹼基組成為CU，核苷酸序列IV的鹼基組成為AG；此時，正義鏈和反義鏈的長度比為21/21。

【0152】 在一些實施方案中，核苷酸序列III和核苷酸序列IV完全反向互補，因此，給出了核苷酸序列III的鹼基，核苷酸序列IV的鹼基也就確定了。以下，對核苷酸序列V、核酸序列、siRNA中的核苷酸修飾以及修飾序列的描述適用於上述第一種siRNA至第九種siRNA中的任意一種。即如果沒有特指，下面對siRNA的描述應視為是對第一種siRNA、第二種siRNA、第三種siRNA、第四種siRNA、第五種siRNA、第六種siRNA、第七種siRNA、第八種siRNA和第九種siRNA逐一進行了描述。例如，如不特別指明具體的siRNA，“前述siRNA還含有核苷酸序列V”的意思是“第一種siRNA、第二種siRNA、第三種siRNA、第四種siRNA、第五種siRNA、第六種siRNA、第七種siRNA、第八種siRNA或第九種siRNA還含有核苷酸序列V”。

【0153】 在一些實施方案中，前述反義鏈還含有核苷酸序列V，核苷酸序列V的長度為1至3個核苷酸，連接在前述反義鏈的3'末端，構成反義鏈的3'突出端。由此，本發明提供的siRNA正義鏈和反義鏈的長度比可以是19/20、19/21、19/22、20/21、20/22、20/23、21/22、21/23、21/24、22/23、22/24、22/25、23/24、23/25或23/26。在一些實施方案中，前述核苷酸序列V的長度為2個核苷酸，由此，本

發明提供的siRNA正義鏈和反義鏈的長度比可以是19/21、21/23或23/25。

【0154】 前述核苷酸序列V中的每一個核苷酸可以是任意的核苷酸，為了便於合成並節約合成成本，前述核苷酸序列V為連續的2個胸腺嘧啶去氧核糖核苷酸(dTdT)或連續的2個尿嘧啶核糖核苷酸(UU)；或者，為了提高siRNA反義鏈與靶mRNA的親和力，核苷酸序列V與靶mRNA的相應位置的核苷酸互補。因此，在一些實施方案中，本發明的siRNA的正義鏈和反義鏈的長度之比為19/21或21/23，此時，本發明的siRNA具有更好的靶mRNA沉默活性。

【0155】 靶mRNA的相應位置的核苷酸是指與靶mRNA的一段核苷酸序列在5'末端相鄰的核苷酸或核苷酸序列。該段靶mRNA的核苷酸序列是與核苷酸序列II實質上反向互補或完全反向互補，或者與核苷酸序列II和核苷酸序列IV構成的核苷酸序列實質上反向互補或完全反向互補的那段核苷酸序列。

【0156】 在一些實施方案中，對於前述第一種siRNA，前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 5所示的核苷酸序列，前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 6所示的核苷酸序列：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ₃ -3'(SEQ ID NO: 5)；

5'- Z₄UUGCUUGAAAGAAUACCCAG -3'(SEQ ID NO: 6)；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 7 所示的核苷酸序列，前述反義鏈含有如 SEQ ID NO: 8 所示的核苷酸序列：

5'- CUGGGUAUUCUUUCAAGCAAZ₃ -3'(SEQ ID NO: 7)；

5'- Z₄UUGCUUGAAAGAAUACCCAGAA -3'(SEQ ID NO: 8)；

其中，前述 Z₄是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₃選自 A、U、G 或 C，並且 Z₄是與 Z₃互補的核苷酸。

【0157】 在一些實施方案中，對於前述第二種siRNA，前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 65所示的核苷酸序列，前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 66所示的核苷酸序列：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ₇ -3' (SEQ ID NO: 65) ;

5'- Z₈GCUGUUAUAGUUUAUGCCCU -3' (SEQ ID NO: 66) ,

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 67 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 68 所示的核苷酸序列:

5'- AGGGCAUAAACUAUAACAGCZ₇ -3' (SEQ ID NO: 67) ;

5'- Z₈GCUGUUAUAGUUUAUGCCCUUC -3' (SEQ ID NO: 68) ,

其中, 前述 Z₈是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸, Z₇選自 A、U、G 或 C, 並且 Z₈是與 Z₇互補的核苷酸。

【0158】 在一些實施方案中, 對於前述第三種siRNA, 前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 125所示的核苷酸序列, 前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 126所示的核苷酸序列:

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAA Z₁₁ -3' (SEQ ID NO: 125) ;

5'- Z₁₂UUCUUGGCAUUCUUGAGCAC -3' (SEQ ID NO: 126) ,

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 127 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 128 所示的核苷酸序列:

5'- GUGCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₁₁ -3' (SEQ ID NO: 127) ;

5'- Z₁₂UUCUUGGCAUUCUUGAGCACUC -3' (SEQ ID NO: 128) ,

其中, 前述 Z₁₂是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸, Z₁₁選自 A、U、G 或 C, 並且 Z₁₂是與 Z₁₁互補的核苷酸。

【0159】 在一些實施方案中, 對於前述第四種siRNA, 前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 185所示的核苷酸序列, 前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 186所示的核苷酸序列:

5'- GCAACAAAGACAUUUAUGZ₁₅ -3' (SEQ ID NO: 185) ;

5'- Z₁₆CAUAAAUGUCUUUGUUGCAA -3' (SEQ ID NO: 186) ,

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 187 所示的核苷酸序列, 前

述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 188 所示的核苷酸序列：

5'- UUGCAACAAAGACAUUUAUGZ₁₅ -3' (SEQ ID NO: 187)；

5'- Z₁₆CAUAAAUGUCUUUGUUGCAAGC -3' (SEQ ID NO: 188)，

其中，前述 Z₁₆ 是反義鏈 5' 末端的第一個核苷酸，Z₁₅ 選自 A、U、G 或 C，並且 Z₁₆ 是與 Z₁₅ 互補的核苷酸。

【0160】 在一些實施方案中，對於前述第五種 siRNA，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 245 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 246 所示的核苷酸序列：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₉ -3' (SEQ ID NO: 245)；

5'- Z₂₀AAGAUUUCUUUGAGAUUCUU -3' (SEQ ID NO: 246)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 247 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 248 所示的核苷酸序列：

5'- AAGAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₉ -3' (SEQ ID NO: 247)；

5'- Z₂₀AAGAUUUCUUUGAGAUUCUUUG -3' (SEQ ID NO: 248)，

其中，前述 Z₂₀ 是反義鏈 5' 末端的第一個核苷酸，Z₁₉ 選自 A、U、G 或 C，並且 Z₂₀ 是與 Z₁₉ 互補的核苷酸。

【0161】 在一些實施方案中，對於前述第六種 siRNA，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 305 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 306 所示的核苷酸序列：

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₃ -3' (SEQ ID NO: 305)；

5'- Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUACUC -3' (SEQ ID NO: 306)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 307 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 308 所示的核苷酸序列：

5'- GAGUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₃ -3' (SEQ ID NO: 307)；

5'- Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUACUCGA -3' (SEQ ID NO: 308)，

其中，前述 Z_{24} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{23} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{24} 是與 Z_{23} 互補的核苷酸。

【0162】 在一些實施方案中，對於前述第七種siRNA，前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 365所示的核苷酸序列，前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 366所示的核苷酸序列：

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUC Z_{27} -3'(SEQ ID NO: 365)；

5'- Z_{28} GAAAGAAUACCCAGAAAUCG -3'(SEQ ID NO: 366)；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 367 所示的核苷酸序列，前述反義鏈含有如 SEQ ID NO: 368 所示的核苷酸序列：

5'- CGAUUUCUGGGUAUUCUUUC Z_{27} -3'(SEQ ID NO: 367)；

5'- Z_{28} GAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU -3'(SEQ ID NO: 368)；

其中，前述 Z_{28} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{27} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{28} 是與 Z_{27} 互補的核苷酸。

【0163】 在一些實施方案中，對於前述第八種siRNA，前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 425所示的核苷酸序列，前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 426所示的核苷酸序列：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUA Z_{31} -3' (SEQ ID NO: 425)；

5'- Z_{32} UAGUUUAUGCCCUUCAUGUC -3' (SEQ ID NO: 426)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 427 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 428 所示的核苷酸序列：

5'- GACAUGAAGGGCAUAAACUA Z_{31} -3' (SEQ ID NO: 427)；

5'- Z_{32} UAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA -3' (SEQ ID NO: 428)，

其中，前述 Z_{32} 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， Z_{31} 選自 A、U、G 或 C，並且 Z_{32} 是與 Z_{31} 互補的核苷酸。

【0164】 在一些實施方案中，對於前述第九種siRNA，前述siRNA的正義鏈

含有如SEQ ID NO: 485所示的核苷酸序列，前述siRNA的反義鏈含有如SEQ ID NO: 486所示的核苷酸序列：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₅ -3'(SEQ ID NO: 485)；

5'- Z₃₆GAGUUUUCUCCAGAAUCCAG -3'(SEQ ID NO: 486)；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 487 所示的核苷酸序列，前述反義鏈含有如 SEQ ID NO: 488 所示的核苷酸序列：

5'- CUGGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₅ -3'(SEQ ID NO: 487)；

5'- Z₃₆GAGUUUUCUCCAGAAUCCAGUC -3'(SEQ ID NO: 488)；

其中，前述 Z₃₆是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸，Z₃₅選自 A、U、G 或 C，並且 Z₃₆是與 Z₃₅互補的核苷酸。

【0165】 在一些實施方案中，本發明前述siRNA為表1a-表1i中列出的 siFXIa1、siFXIa2、siFXIb1、siFXIb2、siFXIc1、siFXIc2、siFXId1、siFXId2、siFXIe1、siFXIe2、siFXIf1、siFXIf2、siFXIg1、siFXIg2、siFXIh1、siFXIh2 siFXIi1或siFXIi2。

【0166】 如前前述，本發明的siRNA中的核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸。在一些實施方案中，本發明的siRNA中的每個核苷酸均為未經修飾的核苷酸。在一些實施方案中，本發明的siRNA中的部分或全部核苷酸為修飾的核苷酸，核苷酸基團上的這些修飾不會導致本發明的siRNA綴合物抑制FXI基因表達的功能明顯削弱或喪失。

【0167】 在一些實施方案中，本發明的siRNA至少含有1個修飾的核苷酸。在本發明的上下文中，所使用的術語“修飾的核苷酸”是指核苷酸的核糖基2'位羥基被其他基團取代形成的核苷酸或核苷酸類似物，或者具有經修飾的鹼基的核苷酸。前述修飾的核苷酸不會導致siRNA抑制基因表達的功能明顯削弱或喪失。例如，可以選擇J.K. Watts, G.F. Deleavey, and M.J. Damha, Chemically modified siRNA: tools and applications. Drug Discov Today, 2008, 13(19-20): 842-55中公開的修飾的核苷酸。

【0168】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA的正義鏈或前述反義鏈中的至少一個核苷酸為修飾的核苷酸，和/或至少一個磷酸酯基為具有修飾基團的磷酸酯基。換句話說，前述正義鏈和前述反義鏈中至少一條單鏈的磷酸-糖骨架中的磷酸酯基和/或核糖基的至少一部分為具有修飾基團的磷酸酯基和/或具有修飾基團的核糖基。

【0169】 在一些實施方案中，前述正義鏈和/或前述反義鏈中的全部核苷酸均為修飾的核苷酸。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA的正義鏈和前述反義鏈中的每一個核苷酸獨立地為氟代修飾的核苷酸或非氟代修飾的核苷酸。

【0170】 本發明的發明人驚奇地發現，本發明記載之siRNA在動物實驗中獲得了血漿中穩定性和基因沉默效率的高度平衡。

【0171】 在一些實施方案中，前述氟代修飾的核苷酸位於核苷酸序列I和核苷酸序列II中，並且，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列I的至少第7、8、9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸；按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列II的至少第2、6、14、16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸。

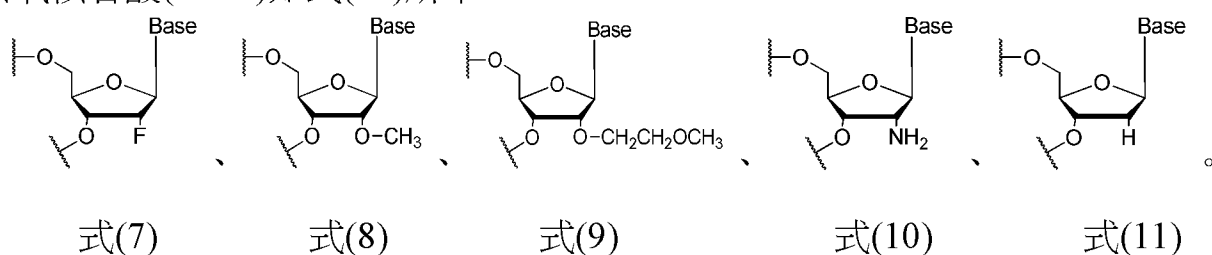
【0172】 在一些實施方案中，前述氟代修飾的核苷酸位於核苷酸序列I和核苷酸序列II中，前述核苷酸序列I中氟代修飾的核苷酸不多於5個，並且，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列I的至少第7、8、9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸；前述核苷酸序列II中氟代修飾的核苷酸不多於7個，並且，前述核苷酸序列II的至少第2、6、14、16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸。

【0173】 在一些實施方案中，按照5'末端到3'末端的方向，在前述正義鏈中，前述核苷酸序列I的第7、8、9位或者5、7、8、9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述正義鏈中其餘位置的核苷酸為非氟代修飾的核苷酸；按照5'末端到3'末端的方向，在前述反義鏈中，前述核苷酸序列II的第2、6、14、16位或者2、6、8、9、14、16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述反義鏈中其餘位置的核苷酸為非氟代修飾的核苷酸。

【0174】 在本發明的上下文中，“氟代修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基2'位的羥基被氟取代形成的核苷酸，其具有以下式(7)所示的結構。“非氟代修飾的核苷酸”指核苷酸的核糖基2'位的羥基被非氟基團取代形成的核苷酸或核苷酸類似物。在一些實施方案中，每一個非氟代修飾的核苷酸獨立地選自核苷酸的核糖基2'位的羥基被非氟基團取代形成的核苷酸或核苷酸類似物中的一種。

【0175】 這些核糖基2'位的羥基被非氟基團取代形成的核苷酸是所屬技術領域具有通常知識者所公知的，這些核苷酸可以選自2'-烷氧基修飾的核苷酸、2'-經取代的烷氧基修飾的核苷酸、2'-烷基修飾的核苷酸、2'-經取代的烷基修飾的核苷酸、2'-氨基修飾的核苷酸、2'-經取代的氨基修飾的核苷酸、2'-去氧核苷酸中的一種。

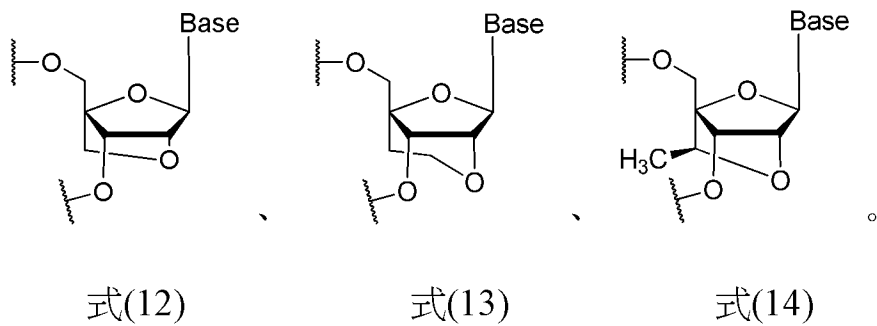
【0176】 在一些實施方案中，2'-烷氧基修飾的核苷酸為2'-甲氧基(2'-OMe)修飾的核苷酸，如式(8)所示。在一些實施方案中，2'-經取代的烷氧基修飾的核苷酸，例如可以是2'-甲氧基乙基(2'-MOE)修飾的核苷酸，如式(9)所示。在一些實施方案中，2'-氨基(2'-NH₂)修飾的核苷酸如式(10)所示。在一些實施方案中，2'-去氧核苷酸(DNA)如式(11)所示：



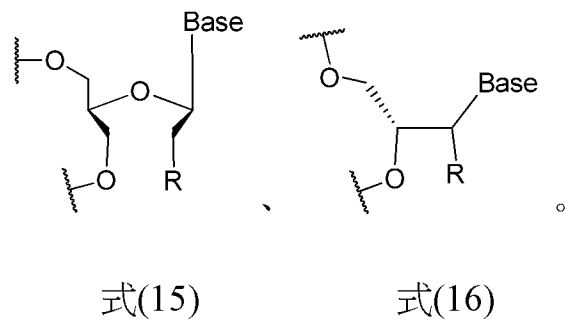
【0177】 核苷酸類似物指能夠在核酸中代替核苷酸，但結構不同於腺嘌呤核糖核苷酸、鳥嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸或胸腺嘧啶去氧核糖核苷酸的基團。在一些實施方案中，核苷酸類似物可以是異核苷酸、橋聯的核苷酸或無環核苷酸。

【0178】 橋聯的核苷酸(bridged nucleic acid, 簡稱BNA)是指受約束的或不能接近的核苷酸。BNA可以含有五員環、六員環或七員環的具有“固定的”C3'-內切糖縮攏的橋聯結構。通常將該橋摻入到該核糖的2'-、4'-位處以提供一個2',4'-BNA

核苷酸。在一些實施方案中，BNA可以是LNA、ENA、cET BNA等，其中，LNA如式(12)所示，ENA如式(13)所示，cET BNA如式(14)所示：

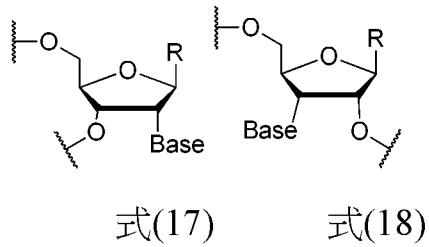


【0179】 無環核苷酸是核苷酸的糖環被打開形成的一類核苷酸。在一些實施方案中，無環核苷酸可以是解鎖核酸(UNA)或甘油核酸(GNA)，其中，UNA如式(15)所示，GNA如式(16)所示：



【0180】 上述式(15)和式(16)中，R選自H、OH或烷氧基(O-烷基)。

【0181】 異核苷酸是指核苷酸中鹼基在核糖環上的位置發生改變而形成的化合物。在一些實施方案中，異核苷酸可以是鹼基從核糖環的1'-位移動至2'-位或3'-位而形成的化合物，如式(17)或(18)所示。



【0182】 上述式(17)-式(18)所示化合物中，Base表示核酸鹼基，例如A、U、G、C或T；R選自H、OH、F或者如上記載之非氟基團。

【0183】 在一些實施方案中，核苷酸類似物選自異核苷酸、LNA、ENA、cET、UNA和GNA中的一種。在一些實施方案中，每一個非氟代修飾的核苷酸

均為甲氧基修飾的核苷酸，在上文和下文中，前述甲氧基修飾的核苷酸指核糖基的2'-羥基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

【0184】 在上文及下文中，“氟代修飾的核苷酸”、“2'-氟修飾的核苷酸”、“核糖基團的2'-羥基被氟取代的核苷酸”和“具有2'-氟代核糖基的核苷酸”意義相同，均指核苷酸的2'-羥基被氟取代，而形成的具有如式(7)所示結構的化合物；“甲氧基修飾的核苷酸”、“2'-甲氧基修飾的核苷酸”、“核糖基團的2'-羥基被甲氧基取代的核苷酸”和“具有2'-甲氧基核糖基的核苷酸”意義相同，均指核苷酸核糖基團的2'-羥基被甲氧基取代而形成的具有如式(8)所示結構的化合物。

【0185】 在一些實施方案中，本發明的siRNA是具有以下修飾的siRNA：按照5'末端到3'末端的方向，在前述正義鏈中，前述核苷酸序列I的第7、8、9位或者第5、7、8、9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述正義鏈中其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；在前述反義鏈中，前述核苷酸序列II的第2、6、14、16位或者第2、6、8、9、14、16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述反義鏈中其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸。

【0186】 在一些實施方案中，本發明的siRNA是具有以下修飾的siRNA：按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的正義鏈中核苷酸序列I的第5、7、8和9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的反義鏈中核苷酸序列II的第2、6、8、9、14和16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；

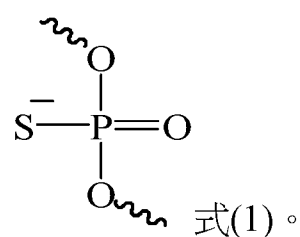
【0187】 或者，按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的正義鏈中核苷酸序列I的第5、7、8和9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的反義鏈中核苷酸序列II的第2、6、14和16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；

【0188】或者，按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的正義鏈中核苷酸序列I的第7、8和9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照5'末端到3'末端的方向，前述siRNA的反義鏈中核苷酸序列II的第2、6、14和16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，siRNA的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸。

【0189】在一些實施方案中，本發明提供的siRNA為表1a-表1i中列出的siFXIa1-M1、siFXIa1-M2、siFXIa1-M3、siFXIa2-M1、siFXIa2-M2、siFXIa2-M3、siFXIb1-M1、siFXIb1-M2、siFXIb1-M3、siFXIb2-M1、siFXIb2-M2、siFXIb2-M3、siFXIc1-M1、siFXIc1-M2、siFXIc1-M3、siFXIc2-M1、siFXIc2-M2、siFXIc2-M3、siFXId1-M1、siFXId1-M2、siFXId1-M3、siFXId2-M1、siFXId2-M2、siFXId2-M3、siFXIe1-M1、siFXIe1-M2、siFXIe1-M3、siFXIe2-M1、siFXIe2-M2、siFXIe2-M3、siFXIf1-M1、siFXIf1-M2、siFXIf1-M3、siFXIf2-M1、siFXIf2-M2、siFXIf2-M3、siFXIg1-M1、siFXIg1-M2、siFXIg1-M3、siFXIg2-M1、siFXIg2-M2、siFXIg2-M3、siFXIh1-M1、siFXIh1-M2、siFXIh1-M3、siFXIh2-M1、siFXIh2-M2、siFXIh2-M3、siFXIi1-M1、siFXIi1-M2、siFXIi1-M3、siFXIi2-M1、siFXIi2-M2、siFXIi2-M3中的任意一種。

【0190】具有上述修飾的siRNA不僅成本低，而且可使血液中的核糖核酸酶不易切割核酸，由此增加核酸的穩定性，使核酸具有更強的抵抗核酸酶水解的性能。同時，上述修飾的siRNA具有較高的抑制靶mRNA的活性。

【0191】在一些實施方案中，本發明提供的siRNA的正義鏈和反義鏈中至少一條單鏈的磷酸-糖骨架中的磷酸酯基中的至少一部分為具有修飾基團的磷酸酯基。在一些實施方案中，具有修飾基團的磷酸酯基為磷酸酯基中的磷酸二酯鍵中的至少一個氧原子被硫原子取代而形成的硫代磷酸酯基；在一些實施方案中，前述具有修飾基團的磷酸酯基為具有如式(1)所示結構的硫代磷酸酯基：



【0192】 這種修飾能穩定siRNA的雙鏈結構，保持鹼基配對的高特異性和高親和力。

【0193】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA中，硫代磷酸酯基連接存在於由以下位置組成的組中的至少一處：正義鏈或反義鏈任意一端的第一個和第二個核苷酸之間；正義鏈或反義鏈任意一端的第二個和第三個核苷酸之間；或上述的任意組合。在一些實施方案中，硫代磷酸酯基連接存在於除正義鏈5'末端以外的全部上述位置處。在一些實施方案中，硫代磷酸酯基連接存在於除正義鏈3'末端以外的全部上述位置處。在一些實施方案中，硫代磷酸酯基連接存在於以下位置中的至少一處：

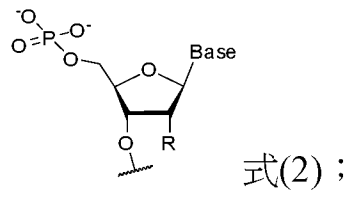
前述正義鏈的 5'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；
 前述正義鏈的 5'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；
 前述正義鏈的 3'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；
 前述正義鏈的 3'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；
 前述反義鏈的 5'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；
 前述反義鏈的 5'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；
 前述反義鏈的 3'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；以及
 前述反義鏈的 3'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間。

【0194】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA為表1a-表1i中列出的 siFXIa1-M1S、siFXIa1-M2S、siFXIa1-M3S、siFXIa2-M1S、siFXIa2-M2S、siFXIa2-M3S、siFXIb1-M1S、siFXIb1-M2S、siFXIb1-M3S、siFXIb2-M1S、siFXIb2-M2S、siFXIb2-M3S、siFXIc1-M1S、siFXIc1-M2S、siFXIc1-M3S、siFXIc2-M1S、siFXIc2-M2S、siFXIc2-M3S、siFXId1-M1S、siFXId1-M2S、

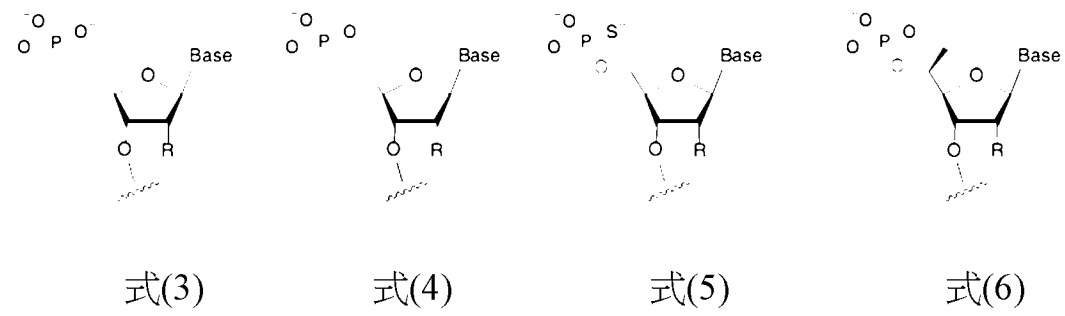
siFXId1-M3S 、 siFXId2-M1S 、 siFXId2-M2S 、 siFXId2-M3S 、 siFXIe1-M1S 、 siFXIe1-M2S 、 siFXIe1-M3S 、 siFXIe2-M1S 、 siFXIe2-M2S 、 siFXIe2-M3S 、 siFXIf1-M1S 、 siFXIf1-M2S 、 siFXIf1-M3S 、 siFXIf2-M1S 、 siFXIf2-M2S 、 siFXIf2-M3S 、 siFXIg1-M1S 、 siFXIg1-M2S 、 siFXIg1-M3S 、 siFXIg2-M1S 、 siFXIg2-M2S 、 siFXIg2-M3S 、 siFXIh1-M1S 、 siFXIh1-M2S 、 siFXIh1-M3S 、 siFXIh2-M1S 、 siFXIh2-M2S 、 siFXIh2-M3S 、 FXIi1-M1S 、 siFXIi1-M2S 、 siFXIi1-M3S 、 siFXIi2-M1S 、 siFXIi2-M2S 、 siFXIi2-M3S中的任意一種。

【0195】 在一些實施方案中，前述siRNA反義鏈的5'末端核苷酸為5'-磷酸核苷酸或5'-磷酸類似物修飾的核苷酸。

【0196】 常用的前述5'-磷酸核苷酸或5'-磷酸類似物修飾的核苷酸是所屬技術領域具有通常知識者所公知的，如5'-磷酸核苷酸可具有如下結構：



【0197】 再如，Anastasia Khvorova and Jonathan K. Watts, The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility. Nature Biotechnology, 2017, 35(3): 238-48中公開了如下4種5'-磷酸類似物修飾的核苷酸：



【0198】 其中，R選自H、OH、甲氧基、氟；Base表示核酸鹼基，選自A、U、C、G或T。

【0199】 在一些實施方案中，5'-磷酸核苷酸為式(2)所示的含有5'-磷酸修飾的核苷酸，5'-磷酸類似物修飾的核苷酸為含有乙烯基磷酸酯修飾的核苷酸，如

式(3)所示，或者為硫代磷酸酯修飾的核苷酸，如式(5)所示。

【0200】 在一些實施方案中，本發明提供的siRNA為表1a-表1i中列出的siFXIa1-M1P1、siFXIa1-M2P1、siFXIa1-M3P1、siFXIa2-M1P1、siFXIa2-M2P1、siFXIa2-M3P1、siFXIa1-M1SP1、siFXIa1-M2SP1、siFXIa1-M3SP1、siFXIa2-M1SP1、siFXIa2-M2SP1、siFXIa2-M3SP1、siFXIb1-M1P1、siFXIb1-M2P1、siFXIb1-M3P1、siFXIb2-M1P1、siFXIb2-M2P1、siFXIb2-M3P1、siFXIb1-M1SP1、siFXIb1-M2SP1、siFXIb1-M3SP1、siFXIb2-M1SP1、siFXIb2-M2SP1、siFXIb2-M3SP1、siFXIc1-M1P1、siFXIc1-M2P1、siFXIc1-M3P1、siFXIc2-M1P1、siFXIc2-M2P1、siFXIc2-M3P1、siFXIc1-M1SP1、siFXIc1-M2SP1、siFXIc1-M3SP1、siFXIc2-M1SP1、siFXIc2-M2SP1、siFXIc2-M3SP1、siFXId1-M1P1、siFXId1-M2P1、siFXId1-M3P1、siFXId2-M1P1、siFXId2-M2P1、siFXId2-M3P1、siFXId1-M1SP1、siFXId1-M2SP1、siFXId1-M3SP1、siFXId2-M1SP1、siFXId2-M2SP1、siFXId2-M3SP1、siFXIe1-M1P1、siFXIe1-M2P1、siFXIe1-M3P1、siFXIe2-M1P1、siFXIe2-M2P1、siFXIe2-M3P1、siFXIe1-M1SP1、siFXIe1-M2SP1、siFXIe1-M3SP1、siFXIe2-M1SP1、siFXIe2-M2SP1、siFXIe2-M3SP1、siFXIf1-M1P1、siFXIf1-M2P1、siFXIf1-M3P1、siFXIf2-M1P1、siFXIf2-M2P1、siFXIf2-M3P1、siFXIf1-M1SP1、siFXIf1-M2SP1、siFXIf1-M3SP1、siFXIf2-M1SP1、siFXIf2-M2SP1、siFXIf2-M3SP1、siFXIg1-M1P1、siFXIg1-M2P1、siFXIg1-M3P1、siFXIg2-M1P1、siFXIg2-M2P1、siFXIg2-M3P1、siFXIg1-M1SP1、siFXIg1-M2SP1、siFXIg1-M3SP1、siFXIg2-M1SP1、siFXIg2-M2SP1、siFXIg2-M3SP1、siFXIh1-M1P1、siFXIh1-M2P1、siFXIh1-M3P1、siFXIh2-M1P1、siFXIh2-M2P1、siFXIh2-M3P1、siFXIh1-M1SP1、siFXIh1-M2SP1、siFXIh1-M3SP1、siFXIh2-M1SP1、siFXIh2-M2SP1、siFXIh2-M3SP1、FXIi1-M1P1、siFXIi1-M2P1、siFXIi1-M3P1、siFXIi2-M1P1、siFXIi2-M2P1、siFXIi2-M3P1、siFXIi1-M1SP1、siFXIi1-M2SP1、

siFXIi1-M3SP1、siFXIi2-M1SP1、siFXIi2-M2SP1、siFXIi2-M3SP1中的任意一種。

【0201】本發明的發明人意外發現，本發明提供的上述siRNA不僅具有顯著增強的血漿和溶酶體穩定性，還具有很高的靶mRNA抑制活性。

【0202】本發明提供的siRNA可以通過本領域常規的siRNA製備方法(例如固相合成和液相合成的方法)得到。其中，固相合成已經有商業化訂製服務。可以通過使用具有相應修飾的核苷單體來將修飾的核苷酸基團引入本發明記載之siRNA中，製備具有相應修飾的核苷單體的方法及將修飾的核苷酸基團引入siRNA的方法也是所屬技術領域具有通常知識者所熟知的。

【0203】藥物組合物

【0204】本發明提供了一種藥物組合物，前述藥物組合物含有如上記載之siRNA作為活性成分和藥學上可接受的載體。

【0205】前述藥學上可接受的載體可以是siRNA給藥領域常規使用的載體，例如但不限於磁性奈米粒(magnetic nanoparticles，如基於 Fe_3O_4 或 Fe_2O_3 的奈米粒)、碳奈米管(carbon nanotubes)、介孔矽(mesoporous silicon)、磷酸鈣奈米粒(calcium phosphate nanoparticles)、聚乙烯亞胺(polyethylenimine，PEI)、聚醯胺型樹形高分子(polyamidoamine (PAMAM) dendrimer)、聚賴氨酸(poly(L-lysine)，PLL)、殼聚糖(chitosan)、1,2-二油醯基-3-三甲銨丙烷(1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane，DOTAP)、聚D型或L型乳酸/羟基乙酸共聚物(poly(D&L-lactic/glycolic acid)copolymer，PLGA)、聚(氨乙基乙撐磷酸酯)(poly(2-aminoethyl ethylene phosphate)，PPEEA)和聚(甲基丙烯酸-N,N-二甲氨基乙酯)(poly(2-dimethylaminoethyl methacrylate)，PDMAEMA)以及它們的衍生物中的一種或多種。

【0206】前述藥物組合物中，對siRNA和藥學上可接受的載體的含量沒有特別要求，可以是各組分常規的含量。在一些實施方案中，siRNA與藥學上可接受的載體的重量比可以為1:(1-500)，在一些的實施方案中，上述重量比為1:(1-50)。

【0207】 在一些實施方案中，前述藥物組合物中，還可以包含藥學上可接受的其它輔料，該輔料可以為本領域常規採用的各種製劑或化合物的一種或多種。例如，前述藥學上可接受的其它輔料可以包括pH緩衝液、保護劑和滲透壓調節劑中的至少一種。

【0208】 前述pH緩衝液可以為pH值7.5-8.5的三羥甲基胺基甲烷鹽酸鹽緩衝液和/或pH值5.5-8.5的磷酸鹽緩衝液，例如可以為pH值5.5-8.5的磷酸鹽緩衝液。

【0209】 前述保護劑可以為肌醇、山梨醇、蔗糖、海藻糖、甘露糖、麥芽糖、乳糖和葡萄糖中的至少一種。以前述藥物組合物的總重量為基準，前述保護劑的含量可以為0.01-30重量%。

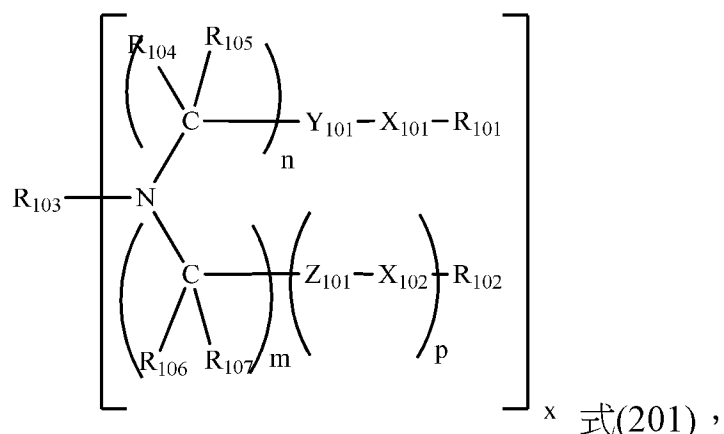
【0210】 前述滲透壓調節劑可以為氯化鈉和/或氯化鉀。前述滲透壓調節劑的含量使前述藥物組合物的滲透壓為200-700毫滲莫耳/千克(mOsm/kg)。根據所需滲透壓，所屬技術領域具有通常知識者可以容易地確定前述滲透壓調節劑的含量。

【0211】 在一些實施方案中，前述藥物組合物可以為液體製劑，例如注射液；也可以為凍乾粉針劑，實施給藥時與液體輔料混合，配製成液體製劑。前述液體製劑可以但不限於用於皮下、肌肉或靜脈注射給藥，也可以但不限於通過噴霧給藥到肺臟或通過噴霧經肺臟給藥到其它臟器組織(如肝臟)。在一些實施方案中，前述藥物組合物用於靜脈注射給藥。

【0212】 在一些實施方案中，前述藥物組合物可以為脂質體製劑的形式。在一些實施方案中，前述脂質體製劑中使用的藥學上可接受的載體包含含胺的轉染化合物(下文也可將其稱為有機胺)、輔助脂質和/或聚乙二醇化脂質。其中，前述有機胺、輔助脂質和聚乙二醇化脂質可分別選自於CN103380113A(通過引用的方式將其整體併入本文)中所描述的含胺的轉染化合物或其藥學上可接受的鹽或衍生物、輔助脂質和聚乙二醇化脂質中的一種或多種。

【0213】 在一些實施方案中，前述有機胺可為CN103380113A中描述的如式

(201)所示的化合物或其藥學上可接受的鹽：



其中：

每個 X_{101} 或 X_{102} 各自獨立地是 O、S、N-A 或 C-A，其中 A 是氫或 C_1 - C_{20} 烴鏈；

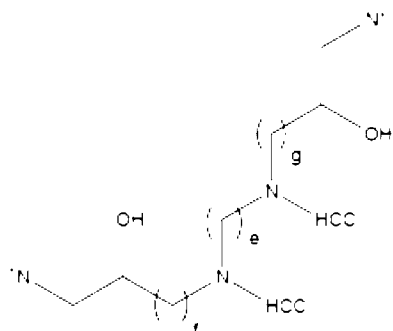
每個 Y_{101} 或 Z_{101} 各自獨立地是 C=O、C=S、S=O、CH-OH 或 SO_2 ；

每個 R_{101} 、 R_{102} 、 R_{103} 、 R_{104} 、 R_{105} 、 R_{106} 或 R_{107} 各自獨立地是氫，環狀或無環的、被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈脂族基團，環狀或無環的、被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈雜脂族基團，被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈醯基，被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈芳基，被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈雜芳基；

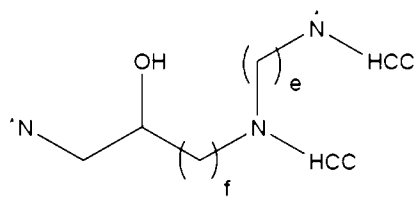
x 是 1-10 的整數；

n 是 1-3 的整數，m 是 0-20 的整數，p 是 0 或 1；其中，如果 $m=p=0$ ，則 R_{102} 是氫；

並且，如果 n 或 m 中的至少一個是 2，那麼 R_{103} 和在式(201)中的氮形成如式(202)或式(203)所示的結構：



式(202),

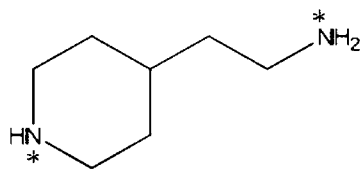


式(203);

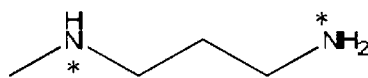
其中， g 、 e 和 f 各自獨立地是 1-6 的整數，“HCC”代表烴鏈，且每個 *N 代表式(201)中的氮原子。

【0214】 在一些實施方案中， R_{103} 是多胺。在其它實施方案中， R_{103} 是縮酮。在一些實施方案中，在式(201)中的 R_{101} 和 R_{102} 中的每一個獨立地是任意的被取代的或未被取代的、支鏈或直鏈烷基或烯基，前述烷基或烯基具有3至約20個碳原子，諸如8至約18個碳原子，和0至4個雙鍵，諸如0至2個雙鍵。

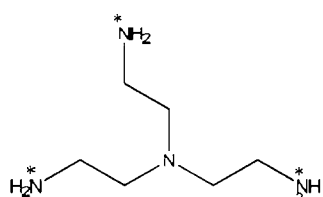
在一些實施方案中，如果 n 和 m 中的每一個獨立地具有 1 或 3 的值，那麼 R_{103} 可以是下述式(204)-式(213)中的任一個：



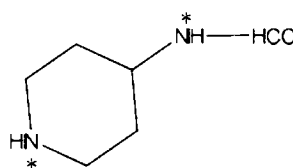
式(204),



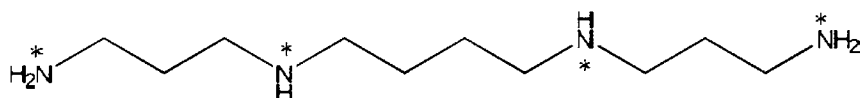
式(205),



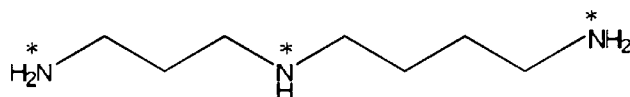
式(206),



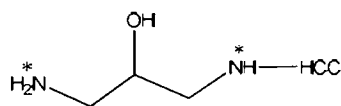
式(207),



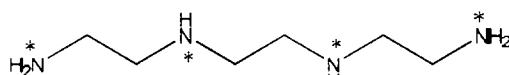
式(208),



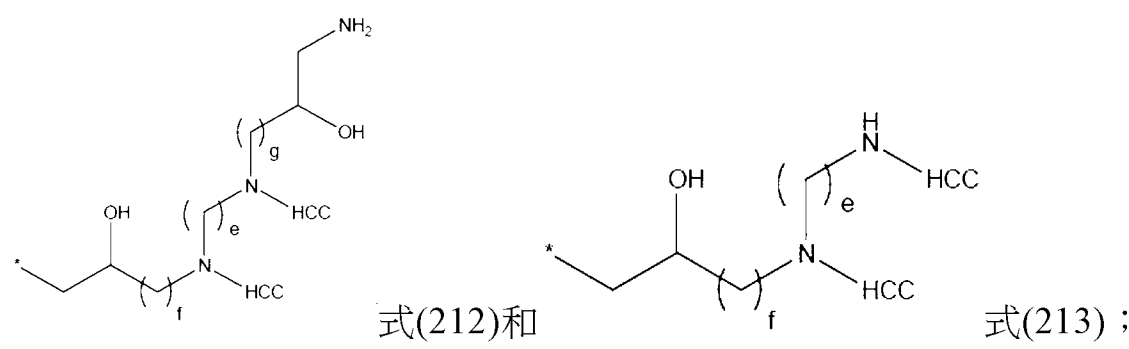
式(209),



式(210),



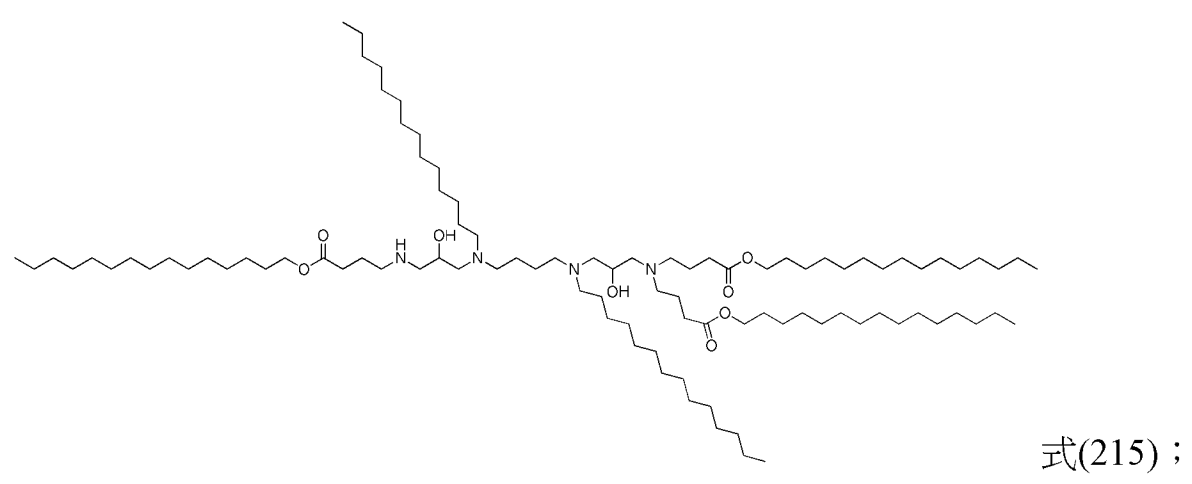
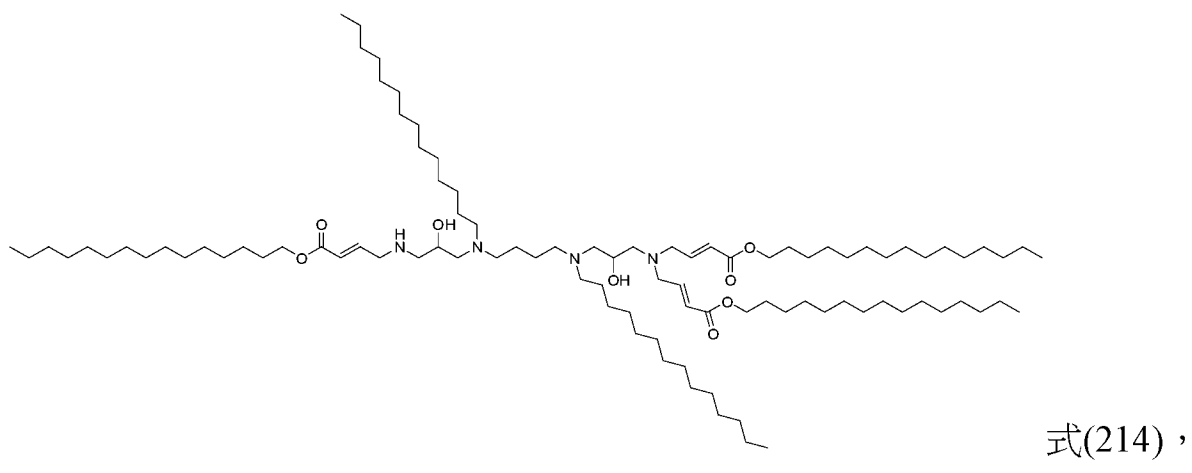
式(211),



其中，式(204)-式(213)中，g、e 和 f 各自獨立地是 1-6 的整數，每個“HCC”代表烴鏈，且每個*顯示 R₁₀₃ 與在式(201)中的氮原子的可能連接點，其中在任意*位置上的每個 H 可以被替換以實現與在式(201)中的氮原子的連接。

【0215】 其中，式(201)所示化合物可以根據CN103380113A中的描述製備。

【0216】 在一些實施方案中，前述有機胺為如式(214)所示的有機胺和/或如式(215)所示的有機胺：



前述輔助脂質為膽固醇、膽固醇的類似物和/或膽固醇的衍生物；

前述聚乙二醇化脂質為 1,2-二棕櫚醯胺-sn-甘油-3-磷脂醯乙醇胺-N-[甲氧基(聚乙二醇)]-2000。

【0217】 在一些實施方案中，前述藥物組合物中，前述有機胺、前述輔助脂質和前述聚乙二醇化脂質三者之間的莫耳比為(19.7-80):(19.7-80):(0.3-50)，例如可以為(50-70):(20-40):(3-20)。

【0218】 在一些實施方案中，由本發明的siRNA與上述含胺的轉染試劑形成的藥物組合物顆粒具有約30nm至約200nm的平均直徑，通常為約40nm至約135nm，更通常地，該脂質體顆粒的平均直徑是約50nm至約120nm、約50nm至約100nm、約60nm至約90nm或約70nm至約90nm，例如，該脂質體顆粒的平均直徑是約30、40、50、60、70、75、80、85、90、100、110、120、130、140、150或160nm。

【0219】 在一些實施方案中，由本發明的siRNA與上述含胺的轉染試劑形成的藥物組合物中，siRNA與全部脂質(例如有機胺、輔助脂質和/或聚乙二醇化脂質)的重量比(重量/重量比)在從約1:1至約1:50、從約1:1至約1:30、從約1:3至約1:20、從約1:4至約1:18、從約1:5至約1:17、從約1:5至約1:15、從約1:5至約1:12、從約1:6至約1:12或從約1:6至約1:10的範圍內，例如，本發明的siRNA與全部脂質的重量比為約1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17或1:18。

【0220】 在一些實施方案中，前述藥物組合物在銷售時各組分可以獨立存在，在使用時可以液體製劑的形式存在。在一些實施方案中，本發明提供的siRNA與上述藥學上可接受的載體形成的藥物組合物可以按照已知的各種方法製備，只是用本發明提供的siRNA替代現有siRNA即可；在一些實施方案中，可以按照如下方法製備：

【0221】 將有機胺、輔助脂質和聚乙二醇化脂質按照上述莫耳比懸浮於醇中並混勻得到脂質溶液；醇的用量使得到的脂質溶液的總品質濃度為

2-25mg/mL，例如可以為8-18mg/mL。前述醇選自藥學上可接受的醇，諸如在室溫附近為液體的醇，例如，乙醇、丙二醇、苯甲醇、甘油、聚乙二醇200、聚乙二醇300、聚乙二醇400中的一種或多種，例如可以為乙醇。

【0222】將本發明提供的siRNA溶解於緩衝鹽溶液中，得到siRNA水溶液。緩衝鹽溶液的濃度為0.05-0.5M，例如可以為0.1-0.2M，調節緩衝鹽溶液的pH至4.0-5.5，例如可以為5.0-5.2，緩衝鹽溶液的用量使siRNA的濃度不超過0.6mg/mL，例如可以為0.2-0.4mg/mL。前述緩衝鹽選自可溶性醋酸鹽、可溶性檸檬酸鹽中的一種或多種，例如可以為醋酸鈉和/或醋酸鉀。

【0223】將脂質溶液和siRNA水溶液混合，將混合後得到的產物在40-60°C培養至少2分鐘，例如可以為5-30分鐘，得到培養後的脂質體製劑。脂質溶液和siRNA水溶液的體積比為1:(2-5)，例如可以為1:4。

【0224】將培養後的脂質體製劑濃縮或稀釋，去除雜質，除菌，得到本發明提供的藥物組合物，其理化參數為pH值為6.5-8，包覆率不低於80%，粒徑為40-200nm，多分散指數不高於0.30，滲透壓為250-400mOsm/kg；例如理化參數可以為pH值為7.2-7.6，包覆率不低於90%，粒徑為60-100nm，多分散指數不高於0.20，滲透壓為300-400mOsm/kg。

【0225】其中，濃縮或稀釋可以在去除雜質之前、之後或同時進行。去除雜質的方法可以採用現有各種方法，例如可以使用切相流系統、中空纖維柱，在100K Da條件下超濾，超濾交換溶液為pH7.4的磷酸鹽緩衝液(PBS)。除菌的方法可以採用現有各種方法，例如可以在0.22μm濾器上過濾除菌。

【0226】 siRNA綴合物

【0227】本發明提供了一種siRNA綴合物，前述siRNA綴合物含有上述siRNA以及綴合連接至該siRNA的綴合基團。

【0228】一般來說，前述綴合基團包含藥學上可接受的至少一個靶向基團和任選的接頭(linker)，並且，前述siRNA、前述接頭和前述靶向基團依次連接。

在一些實施方案中，前述靶向基團為1-6個。在一些實施方案中，前述靶向基團為2-4個。前述siRNA分子可以非共價或共價綴合至前述綴合基團，例如可以共價綴合至前述綴合基團。siRNA與綴合基團的綴合位點可以在siRNA正義鏈的3'端或5'端，也可在反義鏈的5'端，還可以在siRNA的內部序列中。在一些實施方案中，前述siRNA與綴合基團的綴合位點在siRNA正義鏈的3'末端。

【0229】 在一些實施方案中，前述綴合基團可以連接在核苷酸的磷酸基團、2'-位羥基或者鹼基上。在一些實施方案中，前述綴合基團還可以連接在3'-位羥基上，此時核苷酸之間採用2'-5'磷酸二酯鍵連接。當綴合基團連接在siRNA鏈的末端時，前述綴合基團通常連接在核苷酸的磷酸基團上；當綴合基團連接在siRNA的內部序列時，前述綴合基團通常連接在核糖糖環或者鹼基上。各種連接方式可以參考文獻：Muthiah Manoharan *et.al.* siRNA conjugates carrying sequentially assembled trivalent N-acetylgalactosamine linked through nucleosides elicit robust gene silencing in vivo in hepatocytes. ACS Chemical biology, 2015, 10 (5): 1181-7.

【0230】 在一些實施方案中，前述siRNA與綴合基團間可以通過酸不穩定的或可還原的化學鍵相連，在細胞內涵體的酸性環境下，這些化學鍵可降解，從而使siRNA成為自由狀態。對於不可降解的綴合方式，綴合基團可連接在siRNA的正義鏈，從而儘量降低綴合對siRNA活性的影響。

【0231】 在一些實施方案中，前述藥學上可接受的靶向基團可以是siRNA給藥領域常規使用的配體，例如WO2009082607A2中描述的各种配體，以引用的方式將其全部公開內容併入本文。

【0232】 在一些實施方案中，前述藥學上可接受的靶向基團可以選自以下靶向分子或其衍生物形成的配體中的一種或多種：親脂分子，例如膽固醇、膽汁酸、維生素(例如維生素E)、不同鏈長的脂質分子；聚合物，例如聚乙二醇；多肽，例如透膜肽；適配體；抗體；量子點；糖類，例如乳糖、聚乳糖、甘露

糖、半乳糖、N-乙醯半乳糖胺(GalNAc)；葉酸(folate)；肝實質細胞表達的受體配體，例如去唾液酸糖蛋白、去唾液酸糖殘基、脂蛋白(如高密度脂蛋白、低密度脂蛋白等)、胰高血糖素、神經遞質(如腎上腺素)、生長因子、轉鐵蛋白等。

【0233】 在一些實施方案中，記載之每個配體獨立地選自一個能夠與細胞表面受體結合的配體。在一些實施方案中，至少一個配體是能夠與肝細胞表面受體結合的配體。在一些實施方案中，至少一個配體是能夠與哺乳動物細胞表面受體結合的配體。在一些實施方案中，至少一個配體是能夠與人肝細胞表面受體結合的配體。在一些實施方案中，至少一個配體是能夠與肝表面去唾液酸糖蛋白受體(ASGPR)結合的配體。這些配體的種類為所屬技術領域具有通常知識者所公知，其作用一般是與靶細胞表面的特異性受體相結合，介導與配體連接的siRNA遞送至靶細胞。

【0234】 在一些實施方案中，前述藥學上可接受的靶向基團可以是與哺乳動物肝細胞表面上的去唾液酸糖蛋白受體(ASGPR)結合的任意一種配體。在一些實施方案中，每個配體獨立地為去唾液酸糖蛋白，例如去唾液酸血清類黏蛋白(asialoorosomucoid，ASOR)或去唾液酸胎球蛋白(asialofetuin，ASF)。在一些實施方案中，前述配體為糖或糖的衍生物。

【0235】 在一些實施方案中，至少一個配體是糖。在一些實施方案中，每個配體均是糖。在一些實施方案中，至少一個配體是單糖、多糖、修飾的單糖、修飾的多糖或糖衍生物。在一些實施方案中，至少一個前述配體可以是單糖，雙糖或三糖。在一些實施方案中，至少有一個配體是修飾的糖。在一些實施方案中，每一個配體均為修飾的糖。在一些實施方案中，每個配體均獨立地選自多糖、修飾的多糖、單糖、修飾的單糖、多糖衍生物或單糖衍生物。在一些實施方案中，每一個或至少一個配體選自於由以下糖所組成的組：葡萄糖及其衍生物、甘露聚糖及其衍生物、半乳糖及其衍生物、木糖及其衍生物、核糖及其衍生物、岩藻糖及其衍生物、乳糖及其衍生物、麥芽糖及其衍生物，阿拉伯糖

及其衍生物、果糖及其衍生物和唾液酸。

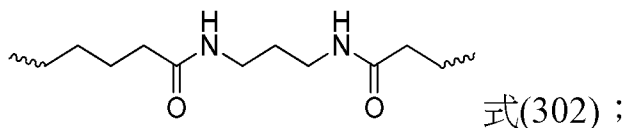
【0236】 在一些實施方案中，每個前述配體可獨立地選自D-吡喃甘露糖、L-吡喃甘露糖、D-阿拉伯糖、D-呋喃木糖、L-呋喃木糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-半乳糖、L-半乳糖、 α -D-呋喃甘露糖、 β -D-呋喃甘露糖、 α -D-吡喃甘露糖、 β -D-吡喃甘露糖、 α -D-吡喃葡萄糖、 β -D-吡喃葡萄糖、 α -D-呋喃葡萄糖、 β -D-呋喃葡萄糖、 α -D-呋喃果糖、 α -D-吡喃果糖、 α -D-吡喃半乳糖、 β -D-吡喃半乳糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、葡糖胺、唾液酸、半乳糖胺、N-乙醯半乳糖胺、N-三氟乙醯半乳糖胺、N-丙醯半乳糖胺、N-正丁醯半乳糖胺、N-異丁醯半乳糖胺、2-氨基-3-O-[(R)-1-羧乙基]-2-去氧- β -D-吡喃葡萄糖、2-去氧-2-甲基氨基-L-吡喃葡萄糖、4,6-二去氧-4-甲醯胺基-2,3-二-O-甲基-D-吡喃甘露糖、2-去氧-2-磺氨基-D-吡喃葡萄糖、N-乙醇醯基- α -神經氨酸、5-硫代- β -D-吡喃葡萄糖、2,3,4-三-O-乙醯基-1-硫代-6-O-三苯甲基- α -D-吡喃葡萄糖苷甲酯、4-硫代- β -D-吡喃半乳糖、3,4,6,7-四-O-乙醯基-2-去氧-1,5-二硫代- α -D-吡喃葡庚糖苷乙酯、2,5-脫水-D-阿洛糖脒、核糖、D-核糖、D-4-硫代核糖、L-核糖或L-4-硫代核糖。前述配體的其它選擇可參見例如CN105378082A的記載，以引用的方式將其全部公開內容併入本文。

【0237】 在一些實施方案中，前述siRNA綴合物中藥學上可接受的靶向基團可以是半乳糖或N-乙醯半乳糖胺，其中，半乳糖或N-乙醯半乳糖胺分子可以是一價、二價、三價、四價。應當理解的是，這裡記載之一價、二價、三價、四價分別指siRNA分子與含有作為靶向基團的半乳糖或N-乙醯半乳糖胺分子的綴合基團形成siRNA綴合物後，該siRNA綴合物中siRNA分子與半乳糖或N-乙醯半乳糖胺分子的莫耳比為1:1、1:2、1:3或1:4。在一些實施方案中，前述藥學上可接受的靶向基團是N-乙醯半乳糖胺。在一些實施方案中，當本發明記載之siRNA與含有N-乙醯半乳糖胺的綴合基團綴合時，N-乙醯半乳糖胺分子是三價或四價。在一些實施方案中，當本發明記載之siRNA與含有N-乙醯半乳糖胺的綴合

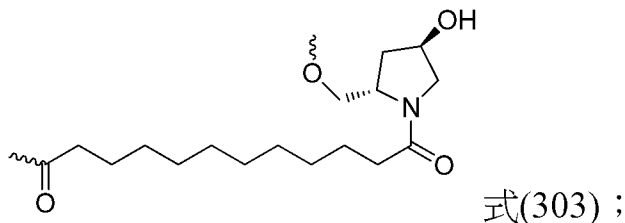
【0238】 靶向基團可經由合適的接頭與siRNA分子相連，所屬技術領域具有通常知識者可以根據靶向基團的具體類型選擇合適的接頭。這些接頭、靶向基團的種類以及與siRNA的連接方式，可參見WO2015006740A2的公開內容，通過引用的方式將其整體內容併入本文。

$$\left[\begin{array}{c} \text{L}^A \\ \text{wavy line} \end{array} \right]_k \text{L}^C - \text{L}^B \text{wavy line} \quad \text{式(301)}$$

L^A為具有如式(302)所示結構的包含醯胺鍵的鏈狀部分，每個前述 L^A在其兩端分別與一個前述靶向基團和前述 L^C部分通過醯鍵相連接：



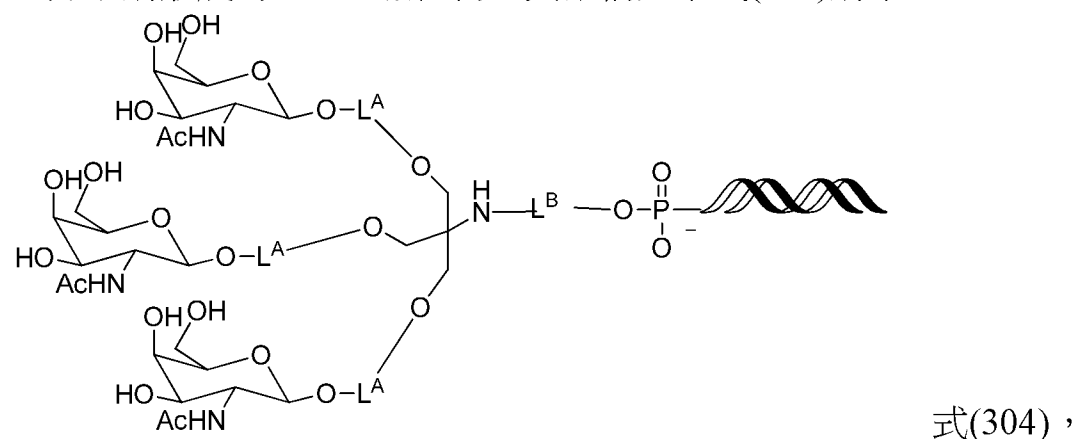
L^B 為具有如式(303)所示結構的包含 N-醯基吡咯烷的鏈狀部分，前述鏈狀部分在其一端具有羰基並與前述 L^C 部分通過醯胺鍵相連接，在另一端具有氧基並與前述 siRNA 通過磷酸酯鍵相連接：



L^C 為基於羥甲基氨基甲烷、二羥甲基氨基甲烷或三羥甲基氨基甲烷的 2-4 價連接基團，前述 L^C 經由氧原子與各個前述 L^A 部分通過醚鍵相連接，並且經由氮原子與前述 L^B 部分通過酰胺鍵相連接。

【0240】 在一些實施方案中，當 $n=3$ ， L^C 為基於三羥甲基氨基甲烷的4價連

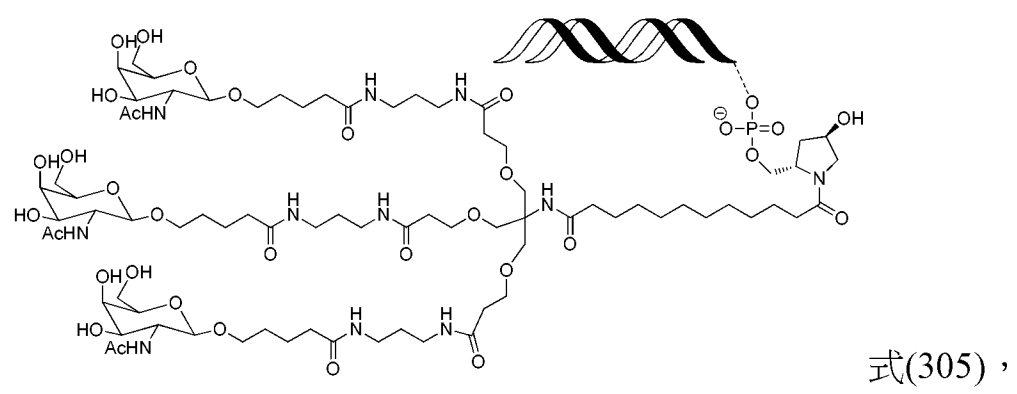
接基團時，由作為接頭的-(L^A)₃三羥甲基氨基甲烷-L^B-連接N-乙醯半乳糖胺分子和siRNA分子所形成的siRNA綴合物，其結構如下式(304)所示：



式中，雙螺旋結構表示 siRNA。

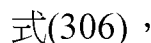
【0241】 同樣，siRNA與綴合基團的綴合位點可以在siRNA正義鏈的3'端或5'端，也可在反義鏈的5'端，還可以在siRNA的内部序列中。

【0242】 在一些實施方案中，本發明前述siRNA的正義鏈3'末端通過接頭-(L^A)₃三羥甲基氨基甲烷-L^B-與三個N-乙醯半乳糖胺(GalNAc)分子共價綴合，得到siRNA分子與GalNAc分子的莫耳比為1:3的siRNA綴合物，下文也可將其稱為(GalNAc)₃-siRNA，其結構如下式(305)所示：



其中，雙螺旋結構表示前述 siRNA，並且前述接頭連接至前述 siRNA 的正義鏈 3'末端。

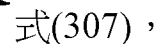
【0243】 在一些實施方案中，當前述靶向基團為N-乙醯半乳糖胺時，合適的接頭可以為如式(306)所示的結構：



1 為 0-3 的整數；

#表示接頭上通過磷酸酯鍵與 siRNA 連接的位點。

【0244】 在一些實施方案中，當 $l=2$ 時，前述siRNA綴合物具有如式(307)所

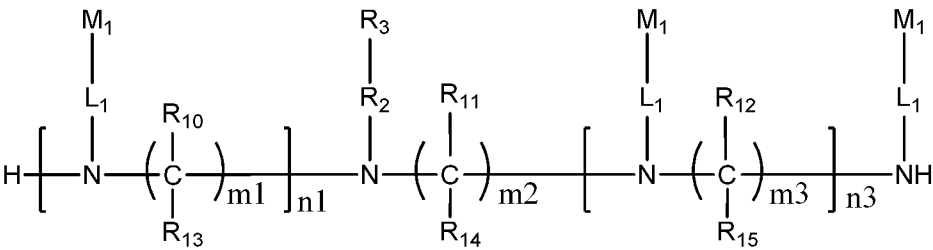


其中，雙螺旋結構表示前述 siRNA，並且前述接頭連接至前述 siRNA 的正

【0245】上述綴合物可以通過現有技術中已經詳細描述的方法進行合成。

域具有通常知識者熟知的方式，獲得本發明的 siRNA 綴合物。如 WO2014025805A1 中記載了式(305)所示結構的製備方法，Rajeev 等人在 ChemBioChem 2015, 16, 903-908 中描述了式(307)所示結構的製備方法。

【0246】 在一些實施方案中，前述siRNA綴合物具有如式(308)所示的結構：



式(308)，

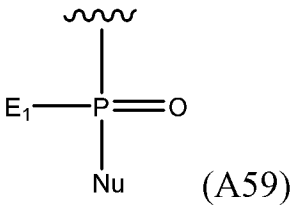
其中：

$n1$ 為選自 1-3 的整數， $n3$ 為選自 0-4 的整數；

每個 $m1$ 、 $m2$ 或 $m3$ 各自獨立地為選自 2-10 的整數；

每個 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 或 R_{15} 各自獨立地為 H，或選自於由以下基團所組成的組： $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 鹵代烷基以及 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷氧基；

R_3 為式 A59 所示結構的基團：



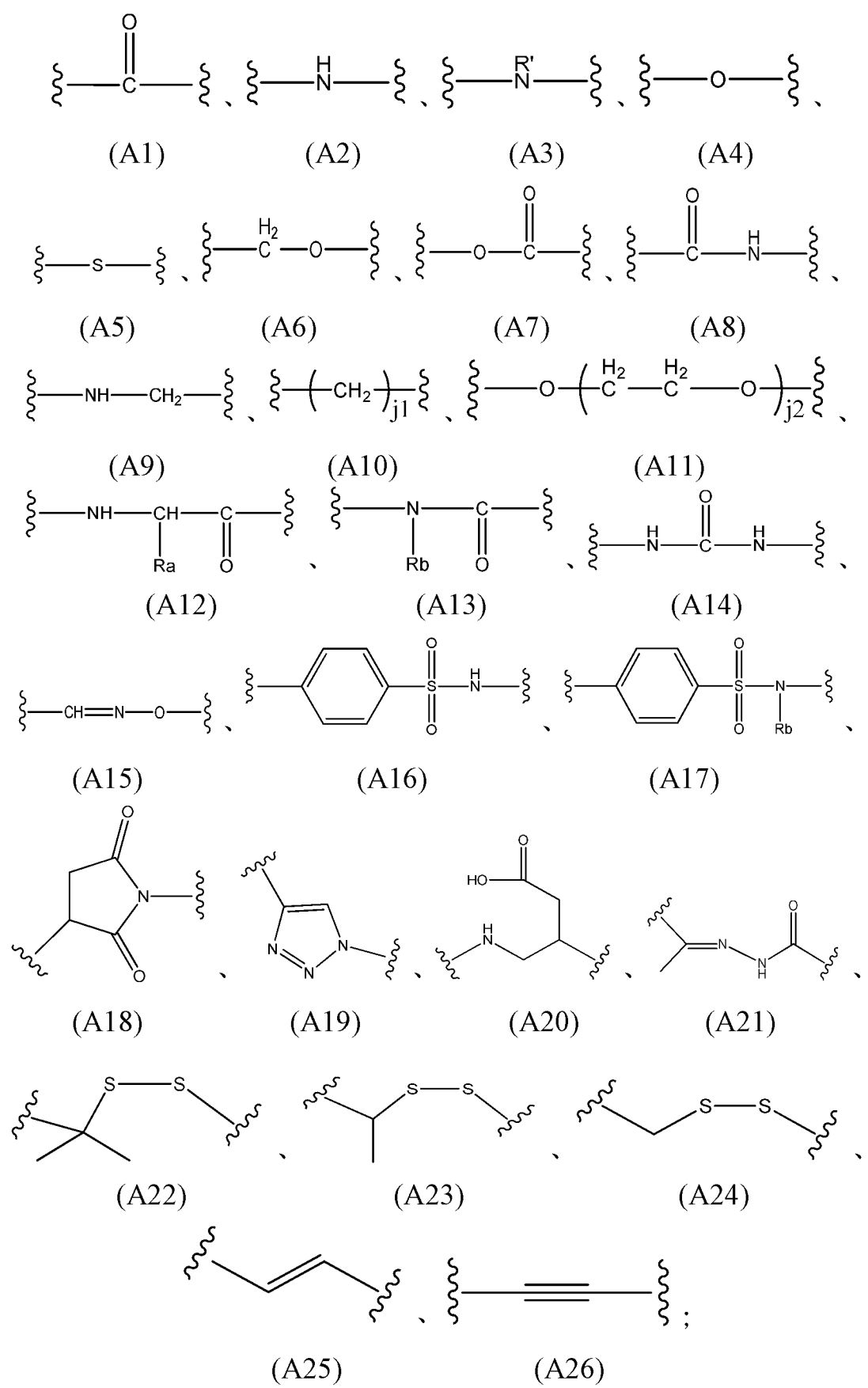
其中， E_1 為 OH、SH 或 BH_2 ， Nu 為本發明的 siRNA；

R_2 是長度為 1-20 個碳原子的直鏈亞烷基，其中一個或多個碳原子任選地被選自於以下基團所組成的組中的任何一個或多個所替換： $\text{C}(\text{O})$ 、 NH 、 O 、 S 、 $\text{CH}=\text{N}$ 、 $\text{S}(\text{O})_2$ 、 $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 亞烯基、 $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ 亞炔基、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 亞芳基、 $\text{C}_3\text{-C}_{18}$ 亞雜環基和 $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ 亞雜芳基；並且其中， R_2 可任選地具有由以下基團所組成的組中的任何一個或多個的取代基： $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ 芳基、 $\text{C}_5\text{-C}_{10}$ 雜芳基、 $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 鹵代烷基、 $-\text{OC}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $-\text{OC}_1\text{-C}_{10}$ 烷基苯基、 $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基-OH、 $-\text{OC}_1\text{-C}_{10}$ 鹵代烷基、 $-\text{SC}_1\text{-C}_{10}$ 烷基、 $-\text{SC}_1\text{-C}_{10}$ 烷基苯基、 $-\text{C}_1\text{-C}_{10}$ 烷基-SH、 $-\text{SC}_1\text{-C}_{10}$ 鹵代烷基、鹵素取

代基、-OH、-SH、-NH₂、-C₁-C₁₀ 烷基-NH₂、-N(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基)、-NH(C₁-C₁₀ 烷基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基苯基)、-NH(C₁-C₁₀ 烷基苯基)、氰基、硝基、-CO₂H、-C(O)O(C₁-C₁₀ 烷基)、-CON(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基)、-CONH(C₁-C₁₀ 烷基)、-CONH₂、-NHC(O)(C₁-C₁₀ 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)C(O)(C₁-C₁₀ 烷基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)C(O)(苯基)、-C(O)C₁-C₁₀ 烷基、-C(O)C₁-C₁₀ 烷基苯基、-C(O)C₁-C₁₀ 鹵烷基、-OC(O)C₁-C₁₀ 烷基、-SO₂(C₁-C₁₀ 烷基)、-SO₂(苯基)、-SO₂(C₁-C₁₀ 鹵代烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₁₀ 烷基)、-SO₂NH(苯基)、-NHSO₂(C₁-C₁₀ 烷基)、-NHSO₂(苯基)和-NHSO₂(C₁-C₁₀ 鹵代烷基)；

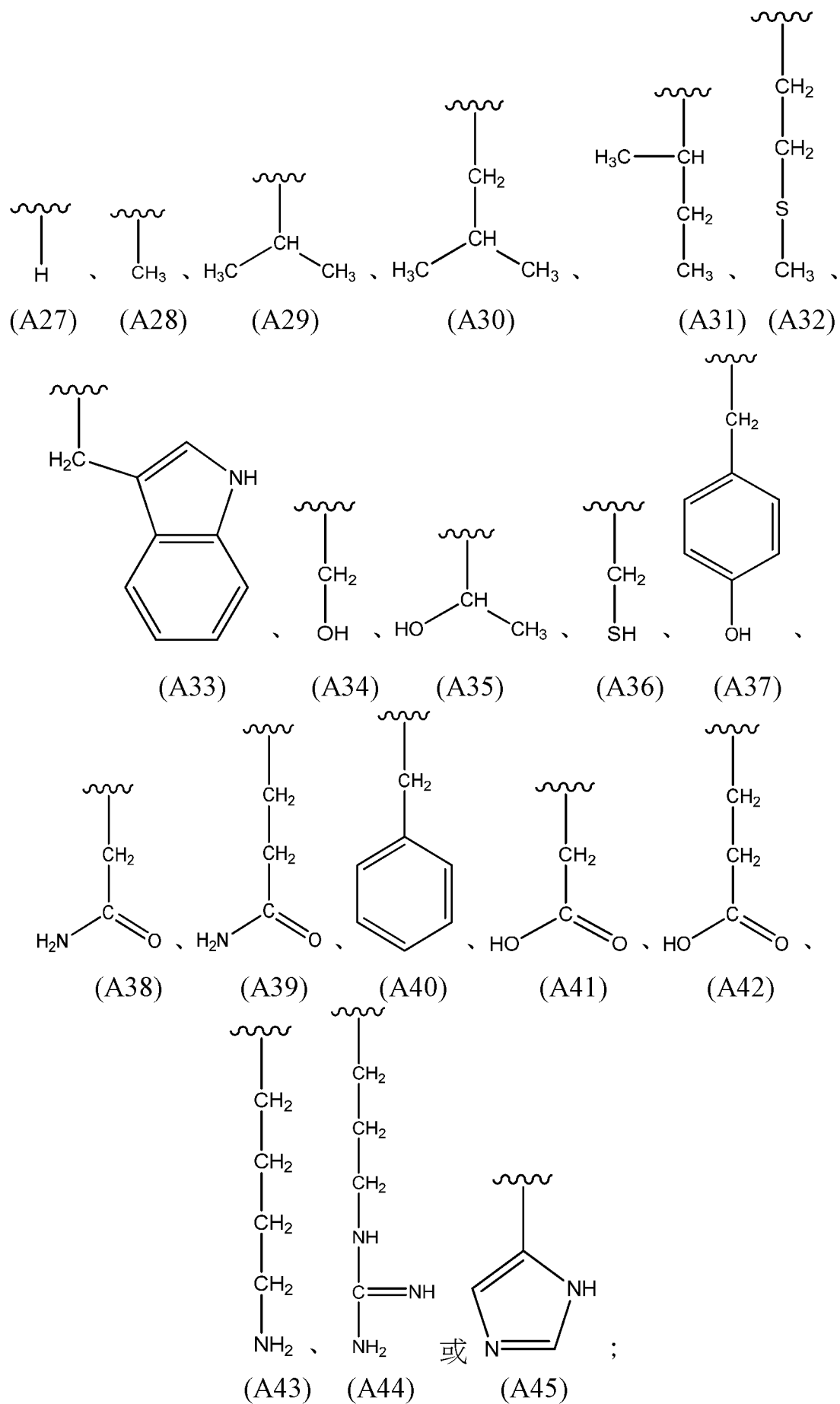
每個 L₁ 是長度為 1-70 個碳原子的直鏈亞烷基，其中一個或多個碳原子任選地被選自於以下基團所組成的組中的任何一個或多個所替換：C(O)、NH、O、S、CH=N、S(O)₂、C₂-C₁₀ 亞烯基、C₂-C₁₀ 亞炔基、C₆-C₁₀ 亞芳基、C₃-C₁₈ 亞雜環基和 C₅-C₁₀ 亞雜芳基；並且其中，L₁ 可任選地具有由以下基團所組成的組中的任何一個或多個的取代基：C₁-C₁₀ 烷基、C₆-C₁₀ 芳基、C₅-C₁₀ 雜芳基、C₁-C₁₀ 鹵代烷基、-OC₁-C₁₀ 烷基、-OC₁-C₁₀ 烷基苯基、-C₁-C₁₀ 烷基-OH、-OC₁-C₁₀ 鹵代烷基、-SC₁-C₁₀ 烷基、-SC₁-C₁₀ 烷基苯基、-C₁-C₁₀ 烷基-SH、-SC₁-C₁₀ 鹵代烷基、鹵素取代基、-OH、-SH、-NH₂、-C₁-C₁₀ 烷基-NH₂、-N(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基)、-NH(C₁-C₁₀ 烷基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基苯基)、-NH(C₁-C₁₀ 烷基苯基)、氰基、硝基、-CO₂H、-C(O)O(C₁-C₁₀ 烷基)、-CON(C₁-C₁₀ 烷基)(C₁-C₁₀ 烷基)、-CONH(C₁-C₁₀ 烷基)、-CONH₂、-NHC(O)(C₁-C₁₀ 烷基)、-NHC(O)(苯基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)C(O)(C₁-C₁₀ 烷基)、-N(C₁-C₁₀ 烷基)C(O)(苯基)、-C(O)C₁-C₁₀ 烷基、-C(O)C₁-C₁₀ 烷基苯基、-C(O)C₁-C₁₀ 鹵烷基、-OC(O)C₁-C₁₀ 烷基、-SO₂(C₁-C₁₀ 烷基)、-SO₂(苯基)、-SO₂(C₁-C₁₀ 鹵代烷基)、-SO₂NH₂、-SO₂NH(C₁-C₁₀ 烷基)、-SO₂NH(苯基)、-NHSO₂(C₁-C₁₀ 烷基)、-NHSO₂(苯基)和-NHSO₂(C₁-C₁₀ 鹵代烷基)。

【0247】 在一些實施方案中，L₁可選自於由A1-A26基團或其任意連接組合所組成的組，其中A1-A26的結構和定義如下所示：



其中，j1 為 1-20 的整數；j2 為 1-20 的整數；
R'為 C₁-C₁₀烷基；

Ra 選自式 A27-A45 基團或其任意連接組合所組成的組：



Rb 為 C_1-C_{10} 烷基； $\sim$ 表示基團共價連接的位點。

【0248】技術人員會理解的是，儘管為了方便起見， L_1 被定義為線性亞烷基，但是它可能不是線性基團或者名稱不同，例如由於上述替換和/或取代而產生的胺或烯基。為了本發明內容的目的， L_1 的長度是連接兩個連接點的鏈中的原子數。為此目的，將替換前述直鏈亞烷基的碳原子而得到的環(如亞雜環基或亞雜芳基)計為一個原子。

【0249】 M_1 表示靶向基團，其定義和可選擇的範圍與上述靶向基團相同。在一些實施方案中，每個 M_1 獨立地選自對哺乳動物肝臟細胞表面上的去唾液酸糖蛋白受體具有親合力的配體中的一種。

【0250】當 M_1 為對哺乳動物肝臟細胞表面上的去唾液酸糖蛋白受體具有親合力的配體時，在一些實施方案中， n_1 可以是 1-3 的整數， n_3 可以是 0-4 的整數，保證前述綴合物中 M_1 靶向基團的個數至少為 2；在一些實施方案中， $n_1+n_3 \geq 2$ ，這樣可以使得 M_1 靶向基團的個數至少為 3，從而使得 M_1 靶向基團與肝表面去唾液酸糖蛋白受體更容易結合，進而促進前述綴合物通過內吞作用進入細胞。實驗表示，當 M_1 靶向基團的個數大於 3 個時， M_1 靶向基團與肝表面去唾液酸糖蛋白受體結合的容易程度增加並不明顯，因此，從合成容易程度、結構/製程成本和遞送效率等多方面綜合考慮，在一些實施方案中， n_1 為 1-2 的整數， n_3 為 0-1 的整數，且 $n_1+n_3=2-3$ 。

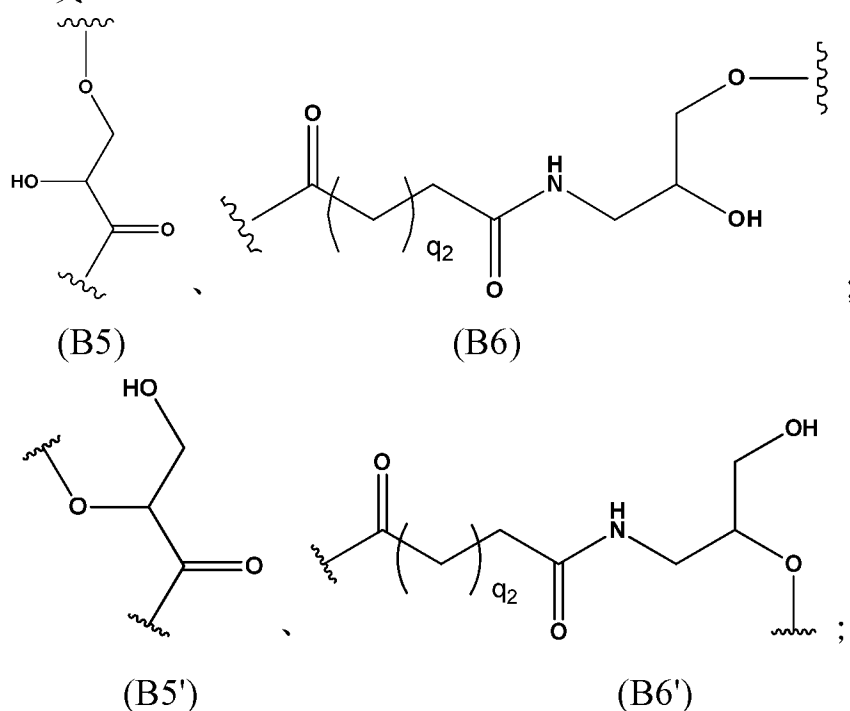
【0251】在一些實施方案中，每 m_1 、 m_2 或 m_3 各自獨立地選自 2-10 的整數時，可以使多個 M_1 靶向基團之間的空間位置適合 M_1 靶向基團與肝表面去唾液酸糖蛋白受體的結合，為了使本發明提供的 siRNA 綴合物更為簡單，更容易合成和/或降低成本，在一些實施方案中，每個 m_1 、 m_2 和 m_3 各自獨立地為 2-5 的整數，在一些實施方案中， $m_1=m_2=m_3$ 。

【0252】所屬技術領域具有通常知識者可以理解，當每個 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 或 R_{15} 各自獨立地選自 H、 C_1-C_{10} 烷基、 C_1-C_{10} 鹵代烷基、以及 C_1-C_{10} 烷氧

基中的一種時，不會改變本發明的siRNA綴合物的性質，均可以實現本發明的目的。在一些實施方案中，每個 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 或 R_{15} 各自獨立地選自H、甲基或乙基。在一些實施方案中，每個 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 和 R_{15} 均為H。

【0253】 R_3 為式A59所示結構的基團，其中， E_1 為OH、SH或 BH_2 ，基於製備原料易獲取性的考慮，在一些實施方案中， E_1 為OH或SH。

【0254】 R_2 的選擇是為了實現與含氮骨架上的N原子與A59的連接。在本發明的上下文中，“含氮骨架”是指連接有 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 和 R_{15} 的碳原子與N原子互相連接的鏈狀結構。因此， R_2 可以是任何能夠以適當方式將A59基團連接至含氮骨架上的N原子的連接基團。在一些實施方案中，在通過固相合成的製程製備式(308)所示的siRNA綴合物的情況下， R_2 基團中需要同時含有與含氮骨架上的N原子連接的連接位點和與 R_3 中的P原子相連接的連接位點。在一些實施方案中， R_2 中前述與含氮骨架上的N原子連接的位點與N原子形成醯胺鍵，前述與 R_3 上的P原子連接的位點與P原子形成磷酸酯鍵；在一些實施方案中， R_2 可以是B5、B6、B5'或B6'：



其中， 表示基團共價連接的位點。

【0255】 q_2 的取值範圍可以是1-10的整數，在一些實施方案中， q_2 為1-5的

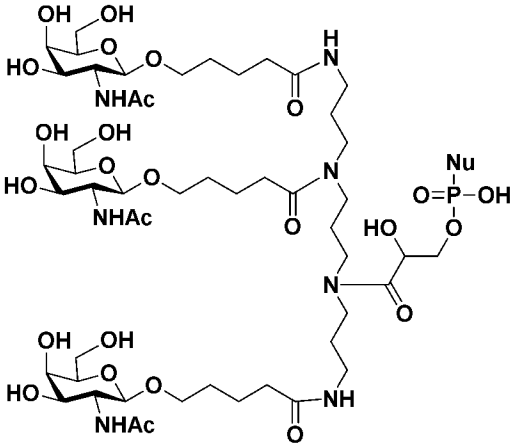
整數。

【0256】 L_1 的作用是將 M_1 靶向基團與含氮骨架上的N原子連接，為式(308)所示的siRNA綴合物提供肝靶向功能。在一些實施方案中， L_1 選自式A1-A26基團中的一種或多種的連接組合。在一些實施方案中， L_1 選自A1、A4、A5、A6、A8、A10、A11和A13中的一種或多種的連接組合。在一些實施方案中， L_1 選自A1、A4、A8、A10和A11中至少2個的連接組合。在一些實施方案中， L_1 選自A1、A8、A10中至少2個的連接組合。

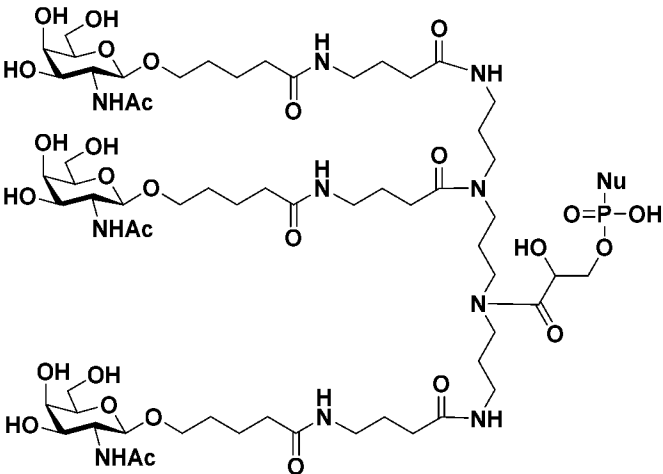
【0257】 在一些實施方案中， L_1 的長度可以為3-25個原子，3-20個原子、4-15個原子或5-12個原子。在一些實施方案中， L_1 的長度為3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個、25個、30個、35個、40個、45個、50個、55個、60個原子。

【0258】 在一些實施方案中， j_1 為2-10的整數，在一些實施方案中， j_1 為3-5的整數。在一些實施方案中， j_2 為2-10的整數，在一些實施方案中， j_2 為3-5的整數。 R' 為 C_1 - C_4 烷基，在一些實施方案中， R' 為甲基、乙基和異丙基中的一種。 R_a 為A27、A28、A29、A30和A31中的一種，在一些實施方案中， R_a 為A27或A28。 R_b 為 C_1 - C_5 烷基，在一些實施方案中， R_b 為甲基、乙基、異丙基和丁基中的一種。在一些實施方案中，在式A1-A26中各自對 j_1 、 j_2 、 R' 、 R_a 、 R_b 進行選擇，以實現 M_1 靶向基團與含氮骨架上的N原子連接，並使 M_1 靶向基團之間的空間位置更適合 M_1 靶向基團與肝表面去唾液酸糖蛋白受體結合。

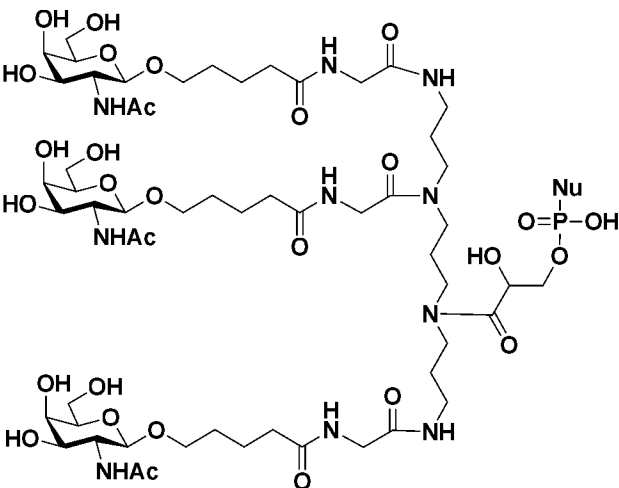
【0259】 在一些實施方案中，該綴合物具有式(403)、(404)、(405)、(406)、(407)、(408)、(409)、(410)、(411)、(412)、(413)、(414)、(415)、(416)、(417)、(418)、(419)、(420)、(421)或(422)所示的結構：



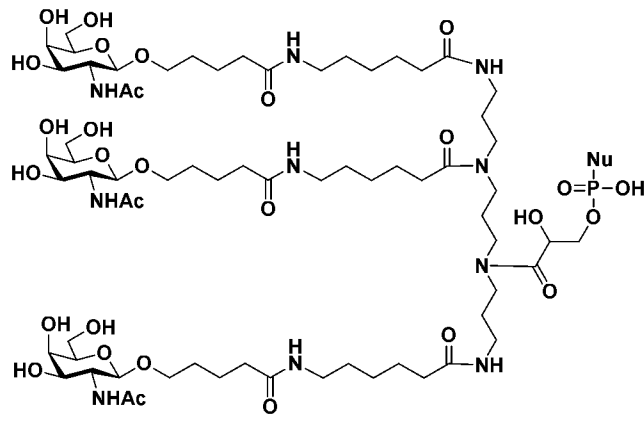
式(403)



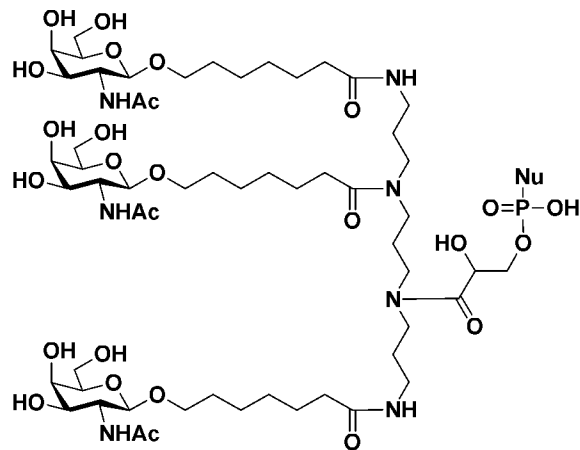
式(404)



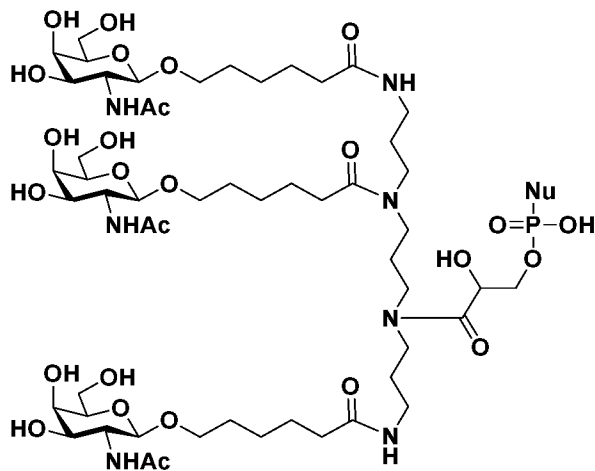
式(405)



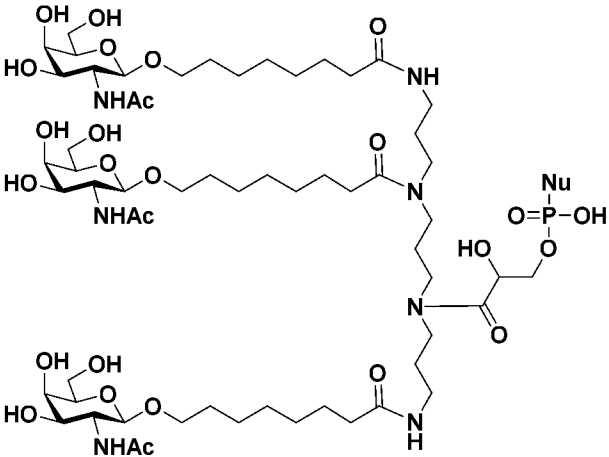
式(406)



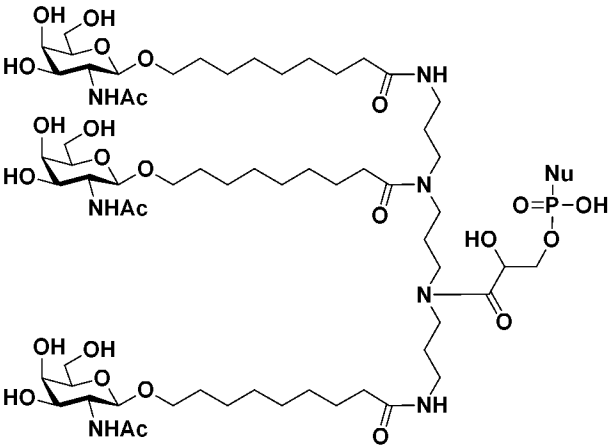
式(407)



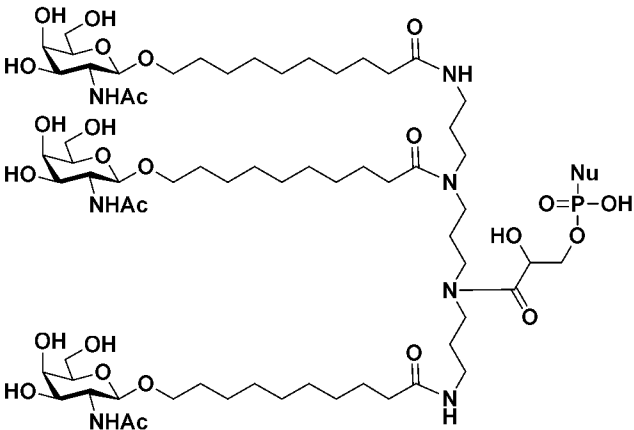
式(408)



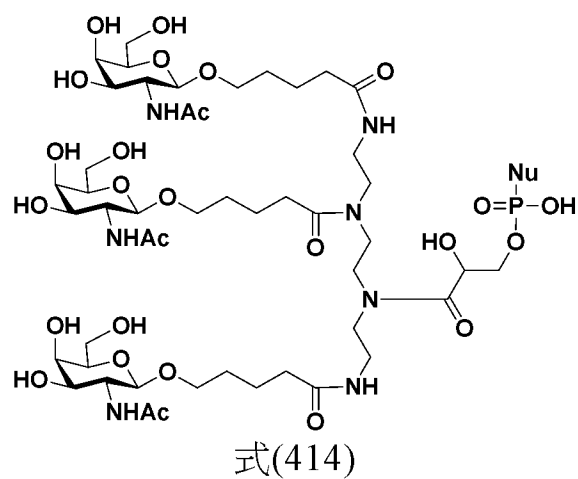
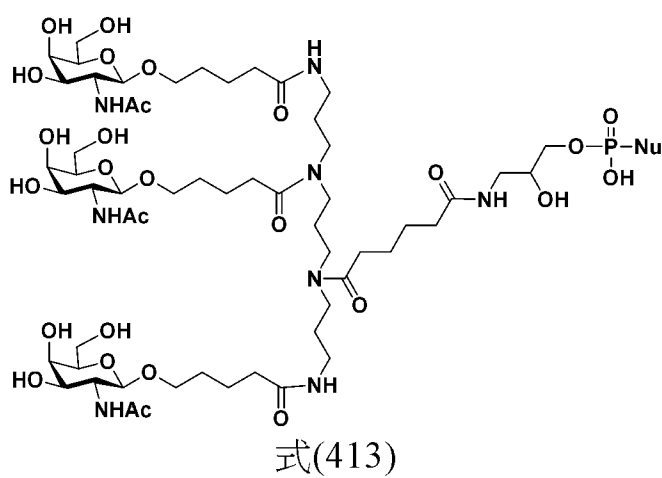
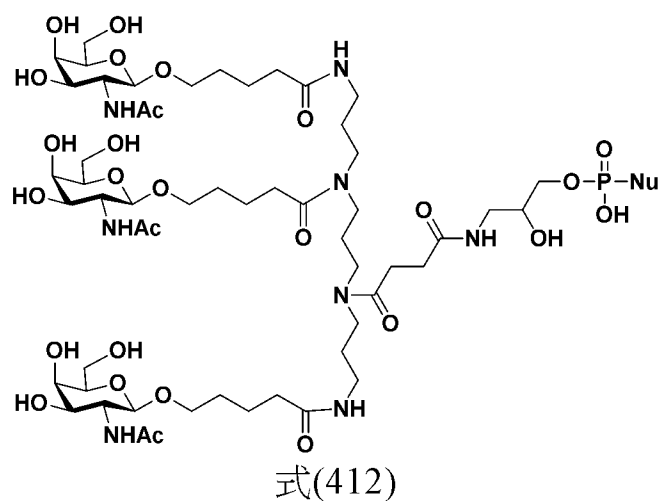
式(409)

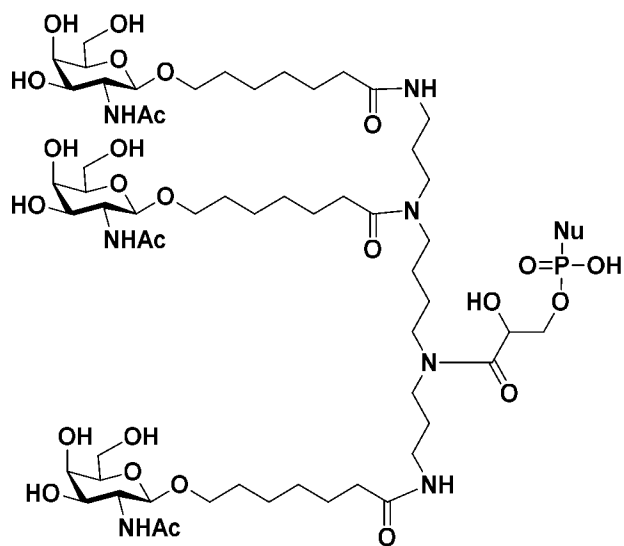


式(410)

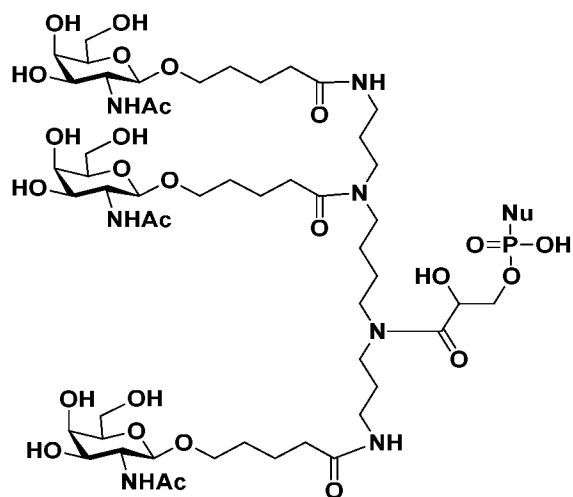


式(411)

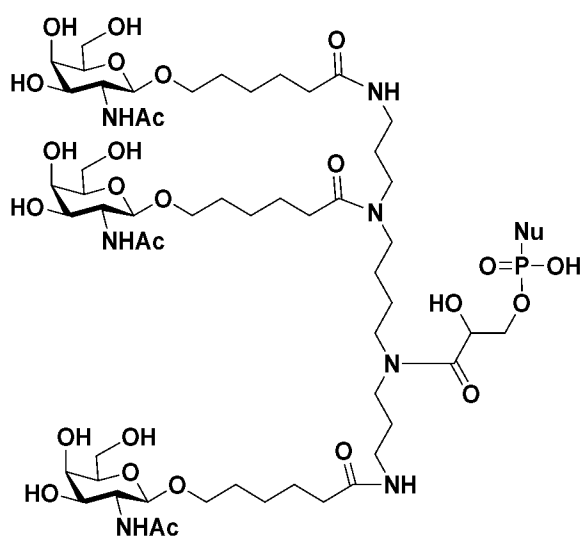




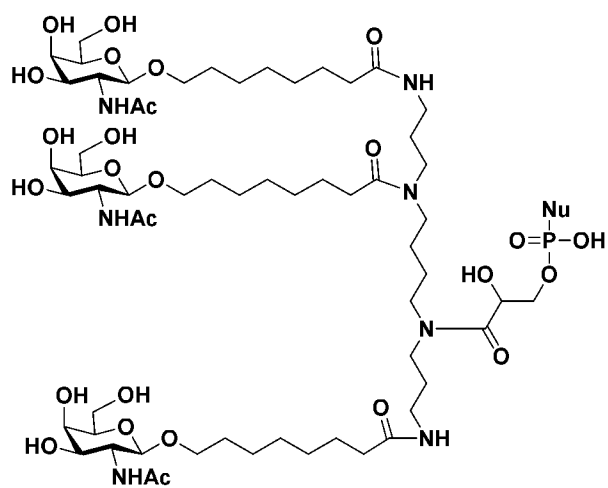
式(415)



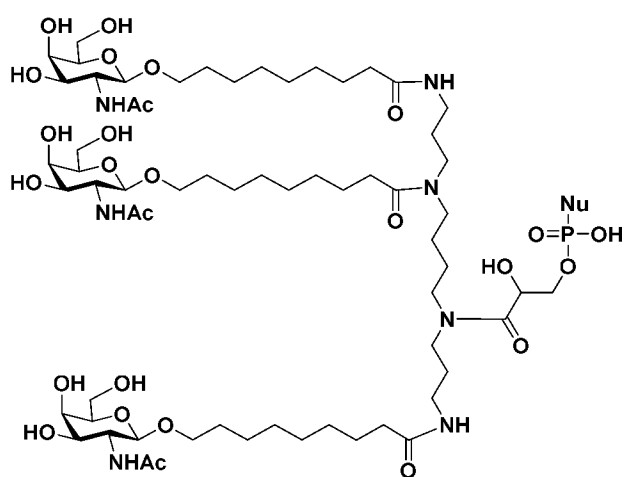
式(416)



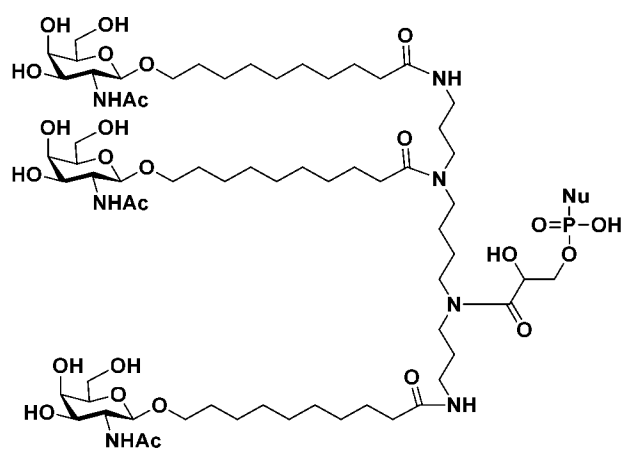
式(417)



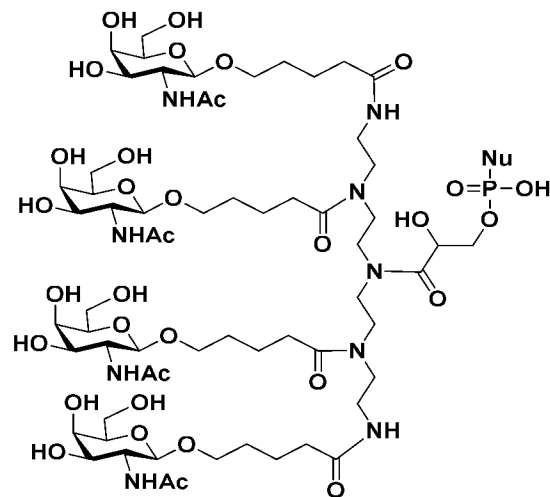
式(418)



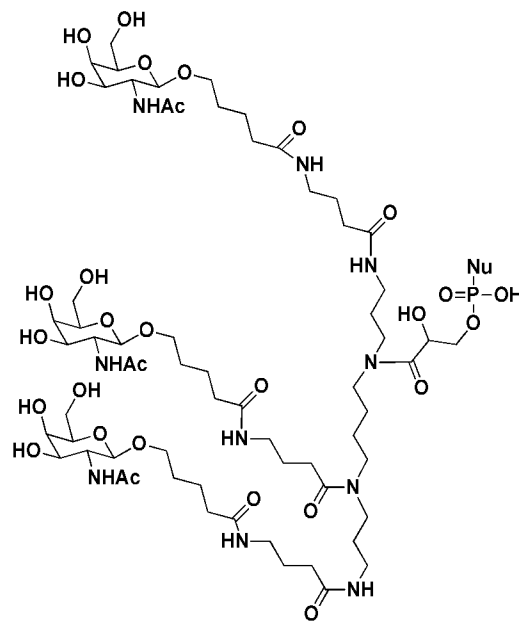
式(419)



式(420)



式(421)



式(422)

【0260】 在一些實施方案中，式A59中的P原子可以連接到siRNA序列中任何可能的位置，例如，式A59中的P原子可以連接到siRNA正義鏈或反義鏈的任何一個核苷酸上；在一些實施方案中，式A59中的P原子連接到siRNA正義鏈的任何一個核苷酸上。在一些實施方案中，式A59中的P原子連接到siRNA正義鏈或反義鏈的端部；在一些實施方案中，式A59中的P原子連接到siRNA正義鏈的端部。前述端部指前述正義鏈或前述反義鏈中從其一端起算的前4個核苷酸。在一些實施方案中，式A59中的P原子連接到siRNA正義鏈或反義鏈的末端；在一些實施方案中，式A59中的P原子連接到siRNA正義鏈的3'末端。在連接至siRNA的正義鏈的上述位置的情況下，式(308)所示的siRNA綴合物進入細胞後，在解

旋時，可以釋放出單獨的siRNA反義鏈，以阻斷FXI mRNA翻譯蛋白質的過程，抑制FXI基因表達。

【0261】 在一些實施方案中，式A59中的P原子可以連接到siRNA中的核苷酸上任何可能的位置，例如，核苷酸的5'位、核苷酸的2'位、核苷酸的3'位或核苷酸的鹼基上。在一些實施方案中，式A59中的P原子可通過形成磷酸二酯鍵連接至前述siRNA中的核苷酸的2'位、3'位或5'位。在一些實施方案中，式A59中的P原子連接在siRNA正義鏈3'末端核苷酸的3'羥基脫氫後形成的氧原子上(此時，A59中的P原子也可以看作是siRNA中含有的磷酸基團中的P原子)，或者式A59中的P原子通過取代siRNA正義鏈中的一個核苷酸的2'-羥基中的氫與核苷酸連接，或者式A59中的P原子通過取代siRNA正義鏈5'末端核苷酸的5'羥基中的氫與核苷酸連接。

【0262】 本發明的發明人意外發現，本發明的siRNA綴合物在具有顯著提高的血漿中穩定性、低脫靶效應的同時，還表現出較高的FXI mRNA沉默活性。在一些實施方案中，本發明的siRNA可以為表1a-1i中示出的siRNA中的一種。含有這些siRNA的siRNA綴合物表現出更高的FXI mRNA沉默活性。

【0263】 表1a：本發明的第一種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIa1	9	GGGUAUUCUUUCAAGCAAU
	10	AUUGCUUGAAAGAAUACCCAG
siFXIa2	11	CUGGGUAUUCUUUCAAGCAAU
	12	AUUGCUUGAAAGAAUACCCAGAA
siFXIa1-M1	13	GmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	14	AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm
siFXIa1-M2	15	GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	16	AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm
siFXIa1-M3	17	GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	18	AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm
siFXIa2-M1	19	CmUmGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	20	AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm
siFXIa2-M2	21	CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	22	AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm

siFXIa2-M3	23	CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	24	AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmA mAm
siFXIa1-M1S	25	GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	26	AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsG m
siFXIa1-M2S	27	GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	28	AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm
siFXIa1-M3S	29	GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	30	AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsG m
siFXIa2-M1S	31	CmsUmsGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmU m
	32	AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm sAmsAm
siFXIa2-M2S	33	CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	34	AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsA msAm
siFXIa2-M3S	35	CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	36	AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm sAmsAm
siFXIa1-M1P1	37	GmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	38	P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmG m
siFXIa1-M2P1	39	GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	40	P1AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm
siFXIa1-M3P1	41	GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	42	P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmG m
siFXIa2-M1P1	43	CmUmGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	44	P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmG mAmAm
siFXIa2-M2P1	45	CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	46	P1AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmA mAm
siFXIa2-M3P1	47	CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	48	P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmG mAmAm
siFXIa1-M1SP1	49	GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	50	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAm sGm
siFXIa1-M2SP1	51	GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	52	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsG m
siFXIa1-M3SP1	53	GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	54	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAm sGm
siFXIa2-M1SP1	55	CmsUmsGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmU m
	56	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAm GmsAmsAm
siFXIa2-	57	CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm

M2SP1	58	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm
siFXIa2-M3SP1	59	CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm
	60	P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm

【0264】 表1b：本發明的第二種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIb1	69	GGCAUAAACUAUAACAGCU
	70	AGCUGUUAUAGUUUAUGCCCU
siFXIb2	71	AGGGCAUAAACUAUAACAGCU
	72	AGCUGUUAUAGUUUAUGCCCUUC
siFXIb1-M1	73	GmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	74	AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb1-M2	75	GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	76	AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb1-M3	77	GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	78	AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb2-M1	79	AmGmGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	80	AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm
siFXIb2-M2	81	AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	82	AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm
siFXIb2-M3	83	AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	84	AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm
siFXIb1-M1S	85	GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	86	AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm
siFXIb1-M2S	87	GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	88	AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm
siFXIb1-M3S	89	GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	90	AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm
siFXIb2-M1S	91	AmsGmsGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	92	AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm
siFXIb2-M2S	93	GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	94	AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm
siFXIb2-M3S	95	AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	96	AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm
siFXIb1-M1P1	97	GmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	98	P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb1-	99	GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm

M2P1	100	P1AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb1-M3P1	101	GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	102	P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb2-M1P1	103	AmGmGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	104	P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb2-M2P1	105	AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	106	P1AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmU
siFXIb2-M3P1	107	AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	108	P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb1-M1SP1	109	GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	110	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCm
siFXIb1-M2SP1	111	GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	112	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsU
siFXIb1-M3SP1	113	GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	114	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCm
siFXIb2-M1SP1	115	AmsGmsGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	116	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCm
siFXIb2-M2SP1	117	AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	118	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm
siFXIb2-M3SP1	119	AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm
	120	P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCm

【0265】 表1c：本發明的第三種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIc1	129	GCUCAAGAAUGCCAAGAAA
	130	UUUCUUGGCAUUCUUGAGCAC
siFXIc2	131	GUGCUCAAGAAUGCCAAGAAA
	132	UUUCUUGGCAUUCUUGAGCACUC
siFXIc1-M1	133	GmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	134	UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc1-M2	135	GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	136	UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc1-M3	137	GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	138	UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc2-M1	139	GmUmGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	140	UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmU
siFXIc2-	141	GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm

M2	142	UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm
siFXIc2-M3	143	GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	144	UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm
siFXIc1-M1S	145	GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	146	UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc1-M2S	147	GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	148	UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc1-M3S	149	GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	150	UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc2-M1S	151	GmsUmsGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	152	UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm
siFXIc2-M2S	153	GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	154	UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm
siFXIc2-M3S	155	GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	156	UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm
siFXIc1-M1P1	157	GmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	158	P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc1-M2P1	159	GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	160	P1UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc1-M3P1	161	GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	162	P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm
siFXIc2-M1P1	163	GmUmGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	164	P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm
siFXIc2-M2P1	165	GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	166	P1UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm
siFXIc2-M3P1	167	GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	168	P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm
siFXIc1-M1SP1	169	GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	170	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc1-M2SP1	171	GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	172	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc1-M3SP1	173	GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	174	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm
siFXIc2-M1SP1	175	GmsUmsGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	176	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm
siFXIc2-	177	GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm

M2SP1	178	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm sUmsCm
siFXIc2- M3SP1	179	GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm
	180	P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmC msUmsCm

【0266】 表1d：本發明的第四種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXId1	189	GCAACAAAGACAUUUAUGU
	190	ACAUAAAUGUCUUUGUUGCAA
siFXId2	191	UUGCAACAAAGACAUUUAUGU
	192	ACAUAAAUGUCUUUGUUGCAAGC
siFXId1- M1	193	GmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	194	AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId1- M2	195	GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	196	AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId1- M3	197	GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	198	AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId2- M1	199	UmUmGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	200	AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmG mCm
siFXId2- M2	201	UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	202	AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGm Cm
siFXId2- M3	203	UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	204	AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmG mCm
siFXId1- M1S	205	GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	206	AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsA m
siFXId1- M2S	207	GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	208	AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm
siFXId1- M3S	209	GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	210	AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsA m
siFXId2- M1S	211	UmsUmsGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmU m
	212	AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm sGmsCm
siFXId2- M2S	213	UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	214	AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAms GmsCm
siFXId2- M3S	215	UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	216	AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm sGmsCm
siFXId1- M1P1	217	GmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	218	P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmA m
siFXId1-	219	GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm

M2P1	220	P1AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId1-M3P1	221	GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	222	P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId2-M1P1	223	UmUmGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	224	P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId2-M2P1	225	UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	226	P1AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm
siFXId2-M3P1	227	UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	228	P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId1-M1SP1	229	GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	230	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmAm
siFXId1-M2SP1	231	GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	232	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmAm
siFXId1-M3SP1	233	GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	234	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmAm
siFXId2-M1SP1	235	UmsUmsGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	236	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId2-M2SP1	237	UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	238	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm
siFXId2-M3SP1	239	UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm
	240	P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm

【0267】 表1e：本發明的第五種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIe1	249	GAAUCUCAAGAAAUUUU
	250	AAAGAUUUCUUUGAGAUUCUU
siFXIe2	251	AAGAAUCUCAAGAAAUUUU
	252	AAAGAUUUCUUUGAGAUUCUUUG
siFXIe1-M1	253	GmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	254	AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe1-M2	255	GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	256	AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe1-M3	257	GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	258	AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe2-M1	259	AmAmGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	260	AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe2-	261	AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm

M2	262	AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe2-M3	263	AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	264	AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe1-M1S	265	GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	266	AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe1-M2S	267	GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	268	AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe1-M3S	269	GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	270	AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe2-M1S	271	AmsAmsGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	272	AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm
siFXIe2-M2S	273	AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	274	AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm
siFXIe2-M3S	275	AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	276	AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm
siFXIe1-M1P1	277	GmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	278	P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe1-M2P1	279	GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	280	P1AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe1-M3P1	281	GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	282	P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm
siFXIe2-M1P1	283	AmAmGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	284	P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe2-M2P1	285	AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	286	P1AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe2-M3P1	287	AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	288	P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm
siFXIe1-M1SP1	289	GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	290	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe1-M2SP1	291	GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	292	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe1-M3SP1	293	GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	294	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm
siFXIe2-M1SP1	295	AmsAmsGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	296	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUm

		UmsUmsGm
siFXIe2-M2SP1	297	AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	298	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm
siFXIe2-M3SP1	299	AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm
	300	P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm

【0268】 表1f：本發明的第六種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIf1	309	GUACGUGGACUGGAUUCUG
	310	CAGAAUCCAGUCCACGUACUC
siFXIf2	311	GAGUACGUGGACUGGAUUCUG
	312	CAGAAUCCAGUCCACGUACUCGA
siFXIf1-M1	313	GmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	314	CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm
siFXIf1-M2	315	GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	316	CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm
siFXIf1-M3	317	GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	318	CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm
siFXIf2-M1	319	GmAmGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	320	CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm
siFXIf2-M2	321	GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	322	CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm
siFXIf2-M3	323	GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	324	CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm
siFXIf1-M1S	325	GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	326	CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm
siFXIf1-M2S	327	GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	328	CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm
siFXIf1-M3S	329	GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	330	CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm
siFXIf2-M1S	331	GmsAmsGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	332	CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm
siFXIf2-M2S	333	GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	334	CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm
siFXIf2-M3S	335	GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	336	CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm
siFXIf1-M1P1	337	GmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	338	P1CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm

siFXIf1-M 2P1	339	GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	340	P1CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm
siFXIf1-M 3P1	341	GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	342	P1CmAfGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm
siFXIf2-M 1P1	343	GmAmGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	344	P1CmAfGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm GmAm
siFXIf2-M 2P1	345	GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	346	P1CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmG mAm
siFXIf2-M 3P1	347	GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	348	P1CmAfGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm GmAm
siFXIf1-M 1SP1	349	GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	350	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmsUms Cm
siFXIf1-M 2SP1	351	GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	352	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsC m
siFXIf1-M 3SP1	353	GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	354	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmsUms Cm
siFXIf2-M 1SP1	355	GmsAmsGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmG m
	356	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmUmC msGmsAm
siFXIf2-M 2SP1	357	GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	358	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm sGmsAm
siFXIf2-M 3SP1	359	GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm
	360	P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAfCmGfUmAmCmUmC msGmsAm

【0269】 表1g：本發明的第七種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIg1	369	AUUUCUGGGUAUUCUUUCA
	370	UGAAAGAAUACCCAGAAAUCG
siFXIg2	371	CGAUUUCUGGGUAUUCUUUCA
	372	UGAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU
siFXIg1-M1	373	AmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	374	UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg1-M2	375	AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	376	UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg1-M3	377	AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	378	UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg2-M1	379	CmGmAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	380	UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmC mUm
siFXIg2-	381	CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm

M2	382	UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm
siFXIg2-M3	383	CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	384	UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm
siFXIg1-M1S	385	AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	386	UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg1-M2S	387	AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	388	UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg1-M3S	389	AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	390	UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg2-M1S	391	CmsGmsAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA
	392	UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm
siFXIg2-M2S	393	CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	394	UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm
siFXIg2-M3S	395	CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	396	UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm
siFXIg1-M1P1	397	AmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	398	P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg1-M2P1	399	AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	400	P1UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg1-M3P1	401	AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	402	P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm
siFXIg2-M1P1	403	CmGmAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	404	P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm
siFXIg2-M2P1	405	CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	406	P1UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm
siFXIg2-M3P1	407	CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	408	P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm
siFXIg1-M1SP1	409	AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	410	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg1-M2SP1	411	AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	412	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg1-M3SP1	413	AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	414	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm
siFXIg2-M1SP1	415	CmsGmsAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA
	416	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCm

		GmsCmsUm
siFXIg2-M2SP1	417	CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	418	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm
siFXIg2-M3SP1	419	CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm
	420	P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm

【0270】 表1h：本發明的第八種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列方向 5' - 3'
siFXIh1	429	CAUGAAGGGCAUAAACUAU
	430	AUAGUUUAUGCCCUUCAUGUC
siFXIh2	431	GACAUGAAGGGCAUAAACUAU
	432	AUAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA
siFXIh1-M1	433	CmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	434	AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm
siFXIh1-M2	435	CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	436	AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm
siFXIh1-M3	437	CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	438	AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm
siFXIh2-M1	439	GmAmCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	440	AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh2-M2	441	GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	442	AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh2-M3	443	GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	444	AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh1-M1S	445	CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	446	AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh1-M2S	447	CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	448	AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh1-M3S	449	CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	450	AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh2-M1S	451	GmsAmsCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	452	AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm
siFXIh2-M2S	453	GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	454	AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm
siFXIh2-M3S	455	GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	456	AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm
siFXIh1-M1P1	457	CmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	458	P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm

siFXIh1-M2P1	459	CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	460	P1AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm
siFXIh1-M3P1	461	CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	462	P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm
siFXIh2-M1P1	463	GmAmCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	464	P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh2-M2P1	465	GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	466	P1AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh2-M3P1	467	GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	468	P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm
siFXIh1-M1SP1	469	CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	470	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh1-M2SP1	471	CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	472	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh1-M3SP1	473	CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	474	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm
siFXIh2-M1SP1	475	GmsAmsCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	476	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm
siFXIh2-M2SP1	477	GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	478	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm
siFXIh2-M3SP1	479	GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm
	480	P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm

【0271】 表li：本發明的第九種siRNA序列

siRNA 編號	SEQ ID NO:	序列 5' - 3'
siFXIi1	489	GGAUUCUGGAGAAAACUCA
	490	UGAGUUUUCUCCAGAAUCCAG
siFXIi2	491	CUGGAUUCUGGAGAAAACUCA
	492	UGAGUUUUCUCCAGAAUCCAGUC
siFXIi1-M1	493	GmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	494	UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi1-M2	495	GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	496	UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi1-M3	497	GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	498	UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi2-M1	499	CmUmGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	500	UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm
siFXIi2-M	501	CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm

2	502	UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm
siFXIi2-M3	503	CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	504	UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm
siFXIi1-M1S	505	GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	506	UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm
siFXIi1-M2S	507	GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	508	UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm
siFXIi1-M3S	509	GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	510	UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm
siFXIi2-M1S	511	CmsUmsGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA m
	512	UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm sUmsCm
siFXIi2-M2S	513	CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	514	UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsU msCm
siFXIi2-M3S	515	CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	516	UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm sUmsCm
siFXIi1-M1P1	517	GmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	518	P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi1-M2P1	519	GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	520	P1UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi1-M3P1	521	GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	522	P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm
siFXIi2-M1P1	523	CmUmGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	524	P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm UmCm
siFXIi2-M2P1	525	CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	526	P1UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmU mCm
siFXIi2-M3P1	527	CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	528	P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm UmCm
siFXIi1-M1SP1	529	GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	530	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAm sGm
siFXIi1-M2SP1	531	GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	532	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsG m
siFXIi1-M3SP1	533	GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm
	534	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAm sGm
siFXIi2-M1SP1	535	CmsUmsGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA m
	536	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmG msUmsCm
siFXIi2-M	537	CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm

2SP1	538	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm
siFXIi2-M 3SP1	539	CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmCmUmCmAm
	540	P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm

【0272】 其中，大寫字母C、G、U、A表示核苷酸的鹼基組成；小寫字母m表示該字母m左側相鄰的一個核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；小寫字母f表示該字母f左側相鄰的一個核苷酸為氟代修飾的核苷酸；小寫字母s表示該字母左右兩個核苷酸之間為硫代磷酸酯基連接；P1表示該P1右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸或5'-磷酸類似物修飾的核苷酸。在一些實施方案中，P1是表示具體修飾的VP、Ps或P，其中，字母組合VP表示該字母組合VP右側相鄰的一個核苷酸為乙烯基磷酸酯修飾的核苷酸，字母組合Ps表示該字母組合Ps右側相鄰的一個核苷酸為硫代磷酸酯修飾的核苷酸，大寫字母P表示該字母P右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸。

【0273】 本發明前述siRNA或siRNA綴合物中，每個相鄰核苷酸之間由磷酸二酯鍵或硫代磷酸二酯鍵連接，磷酸二酯鍵或硫代磷酸二酯鍵中的非橋接氧原子或硫原子帶有負電荷，它可以以羥基或巯基的形式存在，羥基或巯基中的氫離子也可以部分或全部被陽離子取代。前述陽離子可以是任意的陽離子，如金屬陽離子、銨離子NH₄⁺、有機銨陽離子中的一種。出於提高溶解性考慮，在一種實施方案中，前述陽離子選自鹼金屬離子、三級胺形成的銨陽離子和季銨陽離子中的一種或多種。鹼金屬離子可以是K⁺和/或Na⁺，三級胺形成的陽離子可以是三乙胺形成的銨離子和/或N,N-二異丙基乙胺形成的銨離子。因此，本發明前述siRNA或siRNA綴合物可以至少部分以鹽的形式存在。在一種方式中，磷酸二酯鍵或硫代磷酸二酯鍵中的非橋接氧原子或硫原子至少部分與鈉離子結合，本發明前述siRNA或siRNA綴合物以鈉鹽或部分鈉鹽的形式存在。

【0274】 所屬技術領域具有通常知識者清楚知曉的是，可以通過使用具有相應修飾的核苷單體來將修飾的核苷酸基團引入本發明記載之siRNA中。製備具有相應修飾的核苷單體的方法及將修飾的核苷酸基團引入siRNA的方法也是所

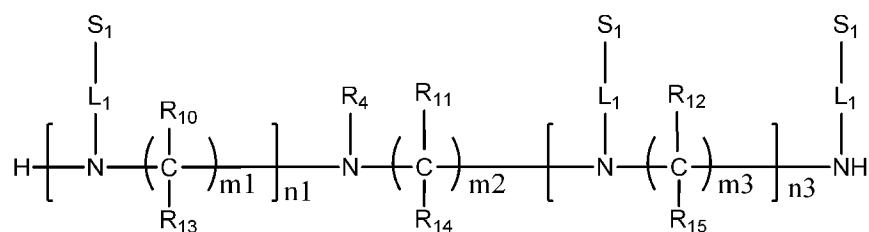
屬技術領域具有通常知識者所熟知的。所有修飾的核苷單體均可以商購得到或者採用已知方法製備得到。

【0275】 式(308)所示的siRNA綴合物的製備

【0276】 可以採用任意合理的合成路線製備式(308)所示的siRNA綴合物。

【0277】 在一些實施方案中，式(308)所示的siRNA綴合物可以採用如下方法製備，該方法包括在亞磷醯胺固相合成的條件下，分別按照siRNA正義鏈和反義鏈的核苷酸種類和順序，按照3'到5'的方向將核苷單體依次連接，每個核苷單體的連接包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應；分離出siRNA的正義鏈和反義鏈，退火，其中，前述siRNA為上述本發明的siRNA；

【0278】 並且，該方法還包括在偶聯反應條件和偶聯試劑存在下，將式(321)所示的化合物與核苷單體或連接在固相載體上的核苷酸序列接觸，使式(321)所示的化合物經偶聯反應連接至核苷酸序列。下文中，式(321)所示的化合物也稱作綴合分子。



式(321)

其中：

R_4 為能夠結合至式(308)所示的化合物中 Nu 代表的 siRNA 的基團。在一些實施方案中， R_4 為能夠通過共價鍵結合至 Nu 代表的 siRNA 的基團。在一些實施方案中， R_4 為能夠經反應而通過磷酸二酯鍵綴合至 Nu 代表的 siRNA 的任意官能團的基團；

每個 S_1 獨立地是 M_1 中全部活性羥基被 YCOO- 基團取代而形成的基團，其中，每個 Y 獨立地選自甲基、三氟甲基、二氟甲基、一氟甲基、三氯甲基、二氯甲基、一氯甲基、乙基、正丙基、異丙基、苯基、鹵代苯基以及烷基苯基中

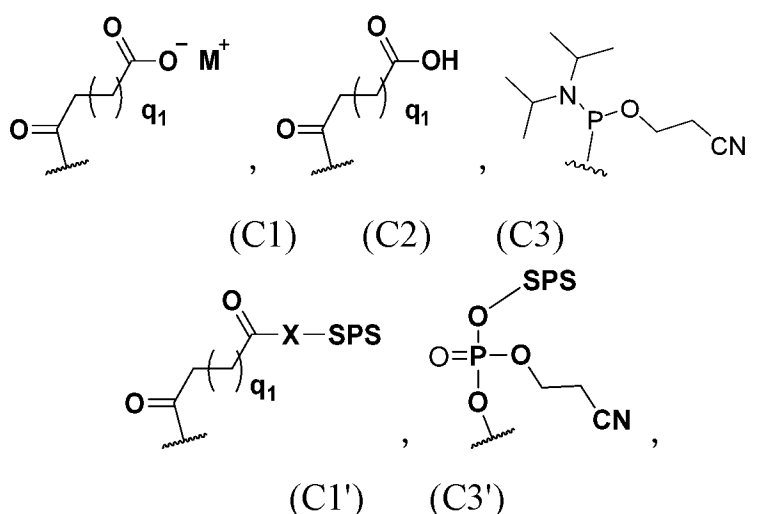
的一種；在一些實施方案中，Y 為甲基。

【0279】 n_1 、 n_3 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 L_1 、 M_1 各自的定義和可選擇的範圍如前前述。

【0280】 R_4 的選擇是為了實現與含氮骨架上的N原子的連接，並且為合成式(308)所示的siRNA綴合物提供合適的反應位點。在一些實施方案中， R_4 中包括 R_2 連接基團或經保護的 R_2 連接基團，以及可通過反應與siRNA形成A59所示結構的官能團。

【0281】 在一些實施方案中， R_4 包含可與Nu代表的siRNA或核苷單體上的基團形成亞磷酸酯的第1官能團以及可與羥基或氨基反應形成共價鍵的第2官能團或者含有由前述共價鍵連接的固相載體。在一些實施方案中，前述第1官能團為亞磷醯胺、羥基或被保護的羥基。在一些實施方案中，前述第2官能團為亞磷醯胺、羧基或羧酸鹽。在一些實施方案中，前述第2官能團為經由共價鍵連接至分子其他部分的固相載體，前述共價鍵由羥基或氨基形成。在一些實施方案中，前述固相載體經由磷酸酯鍵、羧酸酯鍵或醯胺鍵連接。在一些實施方案中，前述固相載體為樹脂。

【0282】 在一些實施方案中，前述第1官能團含有羥基、 $-OR_k$ 或式(C3)所示的基團；前述第2官能團含有式(C1)、(C2)、(C3)、(C1')或(C3')所示的結構：



【0283】 式中， q_1 為1-4的整數，X為O或NH， M^+ 為陽離子， R_k 為羥基保

護基團，SPS表示固相載體，表示基團連接共價部分的位點。

【0284】 在一些實施方案中，前述第1官能團含有亞磷醯胺基團，如式(C3)所示，該亞磷醯胺基團可以與核苷酸上的任意位置的羥基，如2'位羥基或3'位羥基發生偶聯反應形成亞磷酸酯，並經氧化或硫化形成式A59所示的磷酸二酯鍵或硫代磷酸酯鍵，將綴合分子綴合至siRNA。此時，即使前述第2官能團並不存在，式(321)所示化合物也能夠綴合至核苷酸，不影響式(308)所示的siRNA綴合物的獲得。在此情況下，在經由亞磷醯胺固相合成等方法獲得siRNA的正義鏈或反義鏈後，使式(321)所示化合物與核苷酸序列中末端核苷酸上的羥基反應，並在後續的氧化或硫化過程中形成磷酸二酯鍵連接或硫代磷酸酯連接，將式(321)所示化合物綴合至siRNA。

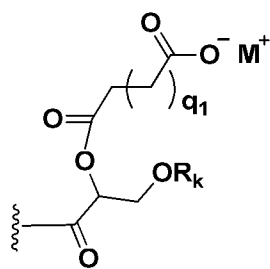
【0285】 在一些實施方案中，前述第1官能團含有被保護的羥基。在一些實施方案中，前述第2官能團包含可與固相載體反應的基團，前述反應提供包含固相載體的綴合分子。在一些實施方案中，前述第2官能團含有羧基、羧酸鹽或亞磷醯胺，如式(C1)、(C2)或(C3)所示，當前述第2官能團包含羧基或羧酸鹽時，式(321)所示化合物與固相載體，例如樹脂上的羥基或氨基進行酯化反應或醯胺化反應，形成經羧酸酯鍵連接的包含固相載體的綴合分子。當前述第2官能團包含亞磷醯胺官能團時，式(321)所示化合物與通用固相載體，例如樹脂上的羥基發生偶聯反應，並經氧化形成經磷酸二酯鍵連接的包含固相載體的綴合分子。隨後，以上述連接固相載體後的產物作為起始，按照亞磷醯胺固相合成方法依次連接核苷單體，獲得連接有綴合基團的siRNA的正義鏈或反義鏈。在亞磷醯胺固相合成過程中，前述第1官能團發生脫保護，隨後在偶聯反應條件下與核苷單體上的亞磷醯胺基團發生偶聯。

【0286】 在一些實施方案中，前述第1官能團含有羥基或被保護的羥基；前述第2官能團含有經羧酸酯鍵連接的固相載體或經醯胺鍵連接的固相載體或者經磷酸酯鍵連接的固相載體，如式(C1')或(C3')所示。此時，由式(321)所示化合

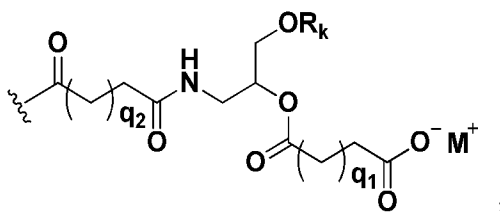
物代替固相載體作為起始，按照亞磷醯胺固相合成方法依次連接核苷單體，獲得連接有綴合基團的siRNA的正義鏈或反義鏈。

【0287】 在一些實施方案中，羧酸鹽可以表示為 $\text{-COO}^-\text{M}^+$ ，其中， M^+ 是陽離子，例如選自金屬陽離子、銨陽離子 NH_4^+ 、有機銨陽離子中的一種。在一種實施方案中，前述金屬離子選自鹼金屬離子中的一種，如 K^+ 或 Na^+ 。出於提高溶解性、使反應順利進行的考慮，在一些實施方案中，有機銨離子為三級胺形成的銨陽離子或季銨陽離子，如，三乙胺形成的銨離子或N,N-二異丙基乙胺形成的銨離子。在一些實施方案中，羧酸鹽是三乙胺羧酸鹽或N,N-二異丙基乙胺羧酸鹽。

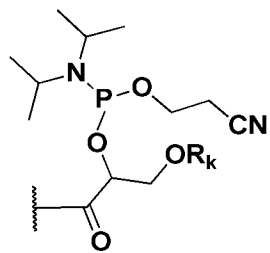
【0288】 在一些實施方案中， R_4 含有式(B9)、(B10)、(B9')、(B10')、(B11)、(B12)、(B11')或(B12')所示的結構：



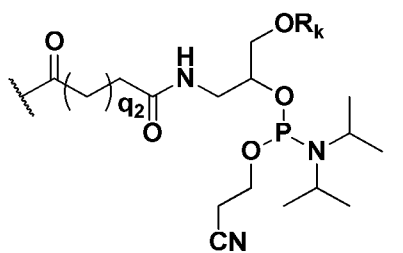
(B9)



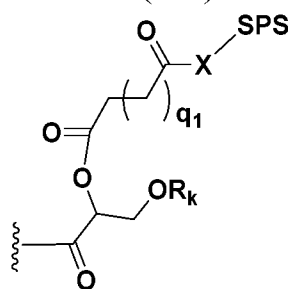
(B10)



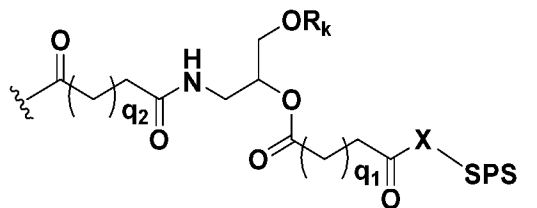
(B9')



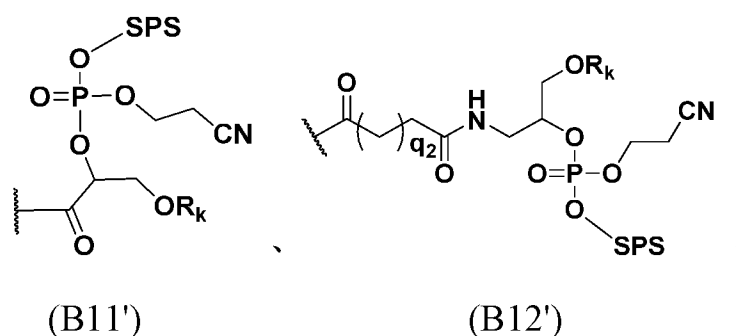
(B10')



(B11)



(B12)



【0289】 其中， q_1 為1-4的整數， q_2 為1-10的整數，X為O或NH， M^+ 為陽離子， R_k 為羥基保護基團，SPS表示固相載體， $\sim$ 表示基團連接共價部分的位點。在一些實施方案中， q_1 為1或2。在一些實施方案中， q_2 為1-5的整數。在一些實施方案中， R_4 含有式(B9)或(B10)所示的結構。在一些實施方案中， R_4 含有式(B11)或(B12)所示的結構。

【0290】 在一些實施方案中， R_k 是Tr(三苯甲基)、MMTr(4-甲氧基三苯甲基)、DMTr(4,4'-雙甲氧基三苯甲基)、TMTr(4,4',4''-三甲氧基三苯甲基)中的一種或多種。在一些實施方案中， R_k 可以是DMTr，即4,4'-雙甲氧基三苯甲基(4,4'-dimethoxytrityl)。

【0291】 L_1 的定義如前前述。

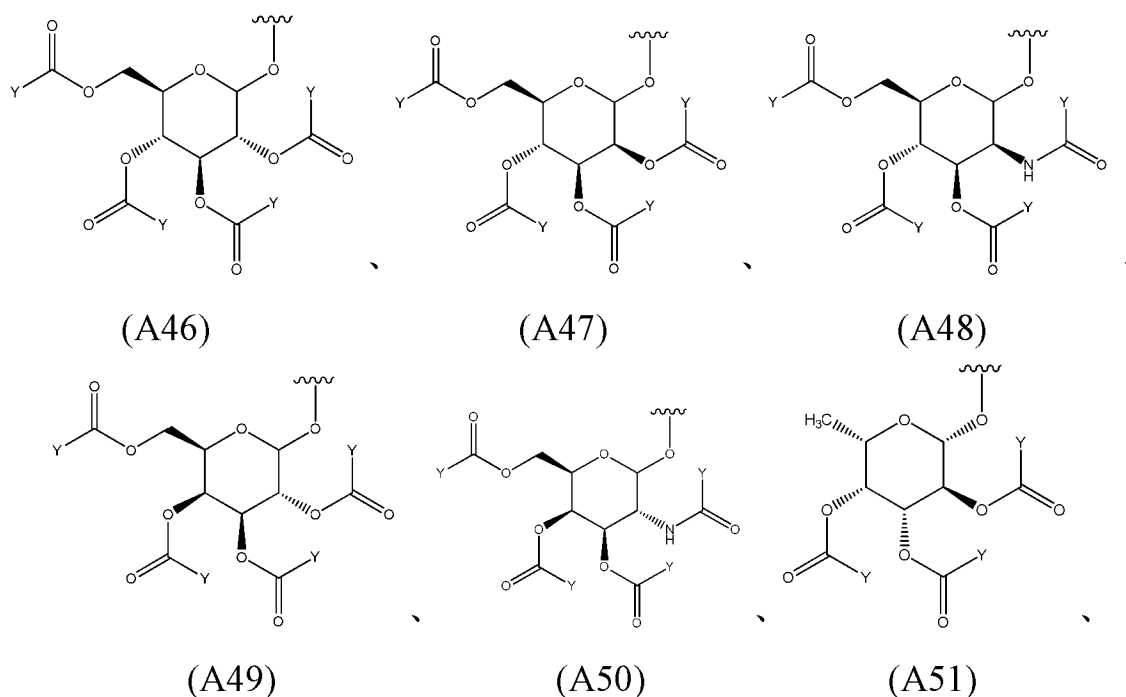
【0292】 在一些實施方案中， L_1 被用於將 M_1 靶向基團連接至含氮骨架上的N原子，從而為式(308)所示的siRNA綴合物提供肝靶向功能。在一些實施方案中， L_1 包含A1-A26中的任一個或其組合。

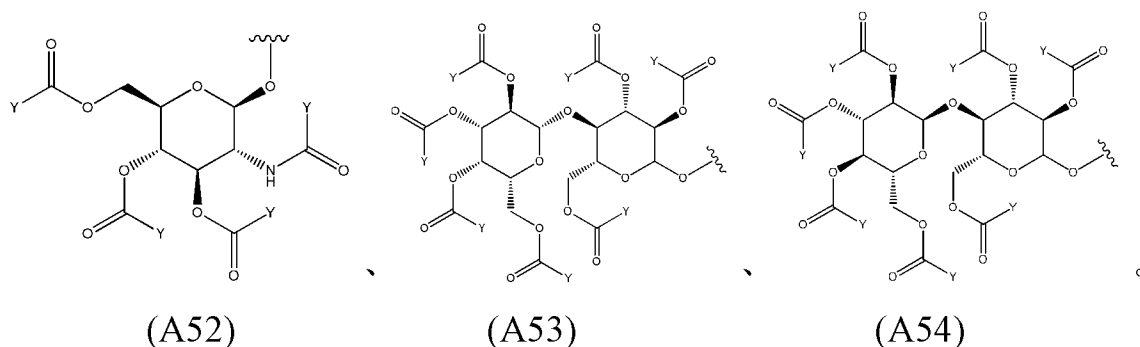
【0293】 根據上述描述，所屬技術領域具有通常知識者容易理解的是，相較於本領域公知的亞磷醯胺固相合成方法而言，可通過上述第1官能團以及任選的第2官能團，獲得將綴合分子連接至核苷酸序列的任意可能的位置的式(308)所示的siRNA綴合物，例如，綴合分子連接至核苷酸序列的端部，綴合分子連接至核苷酸序列的末端。相應地，除非另有說明，以下涉及綴合物和/或綴合分子的製備的描述中，當提及“脫保護”、“偶聯”、“蓋帽”、“氧化”、“硫化”等反應時，應當理解為本領域公知的亞磷醯胺核酸固相合成方法中所涉及的反應條件和試劑也同樣適用於這些反應。示例性的反應條件和試劑將在後文詳細

描述。

【0294】 在一些實施方案中，每個 S_1 獨立地是 M_1 。在一些實施方案中，每個 S_1 獨立地是 M_1 中至少一個活性羥基被羥基保護基團保護而形成的基團。在一些實施方案中，每個 S_1 獨立地是 M_1 中任何存在的活性羥基全部被羥基保護基團保護而形成的基團。在一些實施方案中，任何所屬技術領域具有通常知識者已知的羥基保護基團均可被用於保護 M_1 中的活性羥基。在一些實施方案中，被保護的羥基可以式 $YCOO-$ 表示，其中，每個 Y 獨立地選自於由 C_1-C_{10} 烷基和 C_6-C_{10} 芳基所組成的組，前述 C_1-C_{10} 烷基和 C_6-C_{10} 芳基任選地被一個或多個取代基取代，前述取代基選自於由鹵素和 C_1-C_6 烷基所組成的組。在一些實施方案中，每個 Y 獨立地選自於由以下基團所組成的組：甲基、三氟甲基、二氟甲基、單氟甲基、三氯甲基、二氯甲基、一氯甲基、乙基、正丙基、異丙基、苯基、鹵苯基，以及 C_1-C_6 烷基苯基。

【0295】 在一些實施方案中，每個 S_1 各自獨立地選自於由式A46-A54所組成的組：





【0296】 在一些實施方案中， S_1 為式A49或A50。

【0297】 在一些實施方案中，每個Y獨立地選自甲基、三氟甲基、二氟甲基、一氟甲基、三氯甲基、二氯甲基、一氯甲基、乙基、正丙基、異丙基、苯基、鹵代苯基以及烷基苯基中的一種；在一些實施方案中，Y為甲基。

【0298】 如前前述，式(308)所示的siRNA綴合物的製備方法還包括以下步驟：合成siRNA的另一鏈(例如，當上述步驟合成了連接有綴合分子的siRNA正義鏈時，還包括按照固相合成方法合成siRNA的反義鏈，反之亦然)，分離正義鏈和反義鏈，以及退火。具體地，在分離步驟中，連接至核苷酸序列和/或綴合分子的固相載體被切割下來，同時必要的保護基團被脫除(此時，式(321)所示化合物中的各 S_1 基團轉化為對應的 M_1 靶向基團)，獲得連接有綴合分子的siRNA正義鏈(或反義鏈)以及對應的反義鏈(或正義鏈)，正義鏈與反義鏈退火形成雙鏈RNA結構，獲得式(308)所示的siRNA綴合物。

【0299】 在一些實施方案中，式(308)所示的siRNA綴合物的製備方法包含以下步驟：在偶聯反應條件和偶聯試劑存在下，將式(321)所示的化合物與正義鏈或反義鏈的3'端的第一個核苷單體接觸，使式(321)所示的化合物連接上序列中第一個核苷酸，在亞磷醯胺固相合成的條件下，按照期望的正義鏈或反義鏈核苷酸種類和順序，按照3'到5'的方向將核苷單體依次連接，合成siRNA的正義鏈或反義鏈；其中，式(321)所示化合物為 R_4 中含有第1官能團和第2官能團，第1官能團含有被保護的羥基，第2官能團具有如式(C1')或(C3')所示結構的化合物，與第一個核苷單體連接前，式(321)所示化合物經過脫保護；每個核苷單體的連接包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應；得到連接有綴

合基團的核酸的正義鏈或反義鏈；在亞磷醯胺固相合成的條件下，按照反義鏈或正義鏈核苷酸種類和順序，按照3'到5'的方向將核苷單體依次連接，合成核酸的反義鏈或正義鏈；每個核苷單體的連接包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應；脫除保護基並與固相載體切割，分離純化獲得正義鏈和反義鏈，退火。

【0300】 在一些實施方案中，式(308)所示的siRNA綴合物的製備方法包含以下步驟：按照該雙鏈siRNA中正義鏈或反義鏈的核苷酸種類和順序，按照3'到5'的方向將核苷單體依次連接，合成正義鏈和反義鏈，每個核苷單體的連接包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應，得到連接在固相載體上的正義鏈和連接在固相載體上的反義鏈；在偶聯反應條件和偶聯試劑存在下，將式(321)所示的化合物與連接在固相載體上的正義鏈或連接在固相載體上的反義鏈接觸，將式(321)所示化合物連接至正義鏈或反義鏈，其中，式(321)所示化合物是 R_4 中含有第1官能團，第1官能團為亞磷醯胺基團的式(321)所示化合物；脫除保護基並與固相載體切割，分別分離純化，獲得siRNA的正義鏈或反義鏈，退火，其中，前述siRNA的正義鏈或反義鏈上連接有綴合基團。

【0301】 在一些實施方案中，式A59中的P原子連接至siRNA中的正義鏈的3'末端，式(308)所示的siRNA綴合物的製備方法包括：

- (1)脫除式(321)所示化合物(其中，式(321)所示化合物為 R_4 中含有第 1 官能團和第 2 官能團，第 1 官能團含有被保護的羥基 OR_k ，第 2 官能團具有如式(C1')或(C3')所示結構的化合物)中的羥基保護基團 R_k ；在偶聯反應條件和偶聯試劑存在下，將脫保護得到的產物與核苷單體接觸，得到通過綴合分子連接至固相載體的核苷單體；
- (2)以該通過綴合分子連接至固相載體的核苷單體起始，按照 3'-5'的方向通過亞磷醯胺固相合成方法合成 siRNA 的正義鏈；
- (3)通過亞磷醯胺固相合成方法，合成 siRNA 的反義鏈；

(4)分離出 siRNA 的正義鏈和反義鏈並退火，獲得式(308)所示的 siRNA 綴合物。

【0302】其中，在步驟(1)中，脫除上述式(321)所示化合物中的保護基團 R_k 的方法包括在脫保護條件下，將式(321)所示化合物與脫保護試劑接觸。脫保護條件包括溫度為0-50°C，在一些實施方案中為15-35°C，反應時間為30-300秒，在一些實施方案中為50-150秒，脫保護試劑可以選自三氟乙酸、三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸中的一種或多種，在一些實施方案中為二氯乙酸。脫保護試劑與式(321)所示化合物的莫耳比為10:1-1000:1，在一些實施方案中為50:1-500:1。

【0303】前述偶聯反應條件和偶聯試劑可使用任何適合於上述偶聯反應的條件和試劑。在一些實施方案中，可使用與所採用的固相合成方法中的偶聯反應相同的條件與試劑。

【0304】在一些實施方案中，前述偶聯反應的條件包括反應溫度為0-50°C，在一些實施方案中為15-35°C。式(321)所示化合物與核苷單體的莫耳比為1:1-1:50，在一些實施方案中為1:2-1:5；式(321)所示化合物和偶聯試劑的莫耳比可以為1:1-1:50，在一些實施方案中為1:3-1:10，反應時間為200-3000秒，在一些實施方案中為500-1500秒。偶聯試劑選自1H-四氫唑、5-乙硫基1H-四氫唑、5-苄硫基1H-四氫唑中的一種或多種，在一些實施方案中為5-乙硫基1H-四氫唑。前述偶聯反應可在有機溶劑中進行，前述有機溶劑選自無水乙腈、無水DMF、無水二氯甲烷中的一種或多種，在一些實施方案中為無水乙腈。相對於式(321)所示化合物，前述有機溶劑的用量為3-50L/mol，在一些實施方案中為5-20L/mol。

【0305】在步驟(2)中，通過亞磷醯胺核酸固相合成的方法，利用上述步驟製備的通過綴合分子連接至固相載體的核苷單體起始，按照3'-5'的方向合成第二種siRNA綴合物的正義鏈SS。此時，綴合基團連接至所得到的正義鏈的3'

末端。

【0306】步驟(2)和(3)中前述固相合成的其它條件，包括核苷單體脫保護條件、脫保護試劑種類和用量、偶聯反應條件、偶聯試劑的種類和用量、蓋帽反應的條件、蓋帽試劑的種類和用量、氧化反應條件、氧化試劑種類和用量、硫化反應條件、硫化試劑種類和用量採用本領域中常規使用的各種試劑、用量和條件。

【0307】例如，在一些實施方案中，步驟(2)和(3)中前述固相合成可使用如下條件：

核苷單體脫保護條件包括溫度為 0-50°C，在一些實施方案中為 15-35°C，反應時間為 30-300 秒，在一些實施方案中為 50-150 秒，脫保護試劑可以選自三氟乙酸、三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸、中的一種或多種，在一些實施方案中為二氯乙酸。脫保護試劑與固相載體上 4,4'-二甲氧基三苯甲基保護基的的莫耳比可以為 2:1-100:1，在一些實施方案中為 3:1-50:1。

【0308】偶聯反應條件包括溫度為 0-50°C，在一些實施方案中為 15-35°C，固相載體上連接的核酸序列與核苷單體的莫耳比可以為 1:1-1:50，在一些實施方案中為 1:5-1:15；固相載體上連接的核酸序列和偶聯試劑的莫耳比為 1:1-1:100，在一些實施方案中為 1:50-1:80，反應時間和偶聯試劑的選擇與前述相同。

【0309】蓋帽反應條件包括溫度為 0-50°C，在一些實施方案中為 15-35°C，反應時間為 5-500 秒，在一些實施方案中為 10-100 秒，蓋帽試劑的選擇與前述相同。蓋帽試劑的總量與固相載體上連接的核酸序列的莫耳比為 1:100-100:1，在一些實施方案中為 1:10-10:1。在蓋帽試劑使用等莫耳量的乙酸酐與 N-甲基咪唑的情況下，乙酸酐、N-甲基咪唑以及固相載體上連接的核酸序列的莫耳比可為 1:1:10-10:10:1，在一些實施方案中為 1:1:2-2:2:1。

【0310】氧化反應條件包括溫度為 0-50°C，在一些實施方案中為

15-35°C，反應時間為1-100秒，在一些實施方案中為5-50秒，氧化試劑在一些實施方案中為碘(在一些實施方案中，以碘水的形式提供)。氧化試劑與偶聯步驟中固相載體上連接的核酸序列的莫耳比可以為1:1-100:1，在一些實施方案中為5:1-50:1。在一些實施方案中，前述氧化反應在四氫呋喃:水:吡啶=3:1:1-1:1:3的混合溶劑中進行。硫化反應條件包括溫度為0-50°C，在一些實施方案中為15-35°C，反應時間為50-2000秒，在一些實施方案中為100-1000秒，硫化試劑在一些實施方案中為氫化黃原素。硫化試劑與偶聯步驟中固相載體上連接的核酸序列的莫耳比為10:1-1000:1，在一些實施方案中為10:1-500:1。在一些實施方案中，前述硫化反應在乙腈:吡啶=1:3-3:1的混合溶劑中進行。

【0311】在將所有核苷單體連接之後，退火之前，該方法還包括分離出siRNA的正義鏈和反義鏈。分離的方法為所屬技術領域具有通常知識者所公知，一般包括將合成得到的核苷酸序列從固相載體上切割下來，脫除鹼基上、磷酸基上和配體上的保護基團，純化和脫鹽。

【0312】將合成得到的核苷酸序列從固相載體上切割下來，並脫除鹼基上、磷酸基上和配體上的保護基團可按照siRNA合成中常規的切割和脫保護方法進行。例如，將得到的連接有固相載體的核苷酸序列與濃氨水接觸；在脫保護的過程中，A46-A54基團的保護基團YCOO-轉化為羥基，S₁基團轉化為相應的M₁基團，生成式(308)所示的siRNA綴合物。其中，前述濃氨水可以是25-30重量%的氨水，濃氨水的用量與目標siRNA序列相比可以為0.2ml/μmol-0.8ml/μmol。

【0313】在所合成的核苷酸序列上存在至少一個2'-TBDMS保護時，前述方法還包括將脫除了固相載體的核苷酸序列與三乙胺三氫氟酸鹽接觸，以脫除該2'-TBDMS保護。此時，所得到的目標siRNA序列中的相應核苷酸具有游離的2'-羥基。三乙胺三氫氟酸鹽純品的用量與目標siRNA序列相比可以為0.4ml/μmol-1.0ml/μmol。這樣即可得到式(308)所示的siRNA綴合物。

【0314】純化和脫鹽的方法是所屬技術領域具有通常知識者熟知的。例如，可利用製備型離子色譜純化柱，通過NaBr或NaCl的梯度洗脫，完成核酸的純化；產品收集合併後，可採用反相色譜純化柱進行脫鹽。

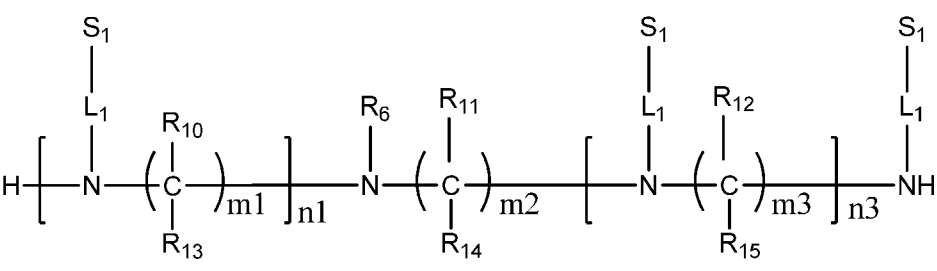
【0315】這樣得到的式(308)所示的siRNA綴合物中，核苷酸之間的磷酸二酯鍵或硫代磷酸二酯鍵中的非橋接氧原子或硫原子基本與鈉離子結合，式(308)所示的siRNA綴合物基本以鈉鹽形式存在。可以採用熟知的離子交換方法，用氫離子和/或其他陽離子取代前述鈉離子，得到其他形式的式(308)所示的siRNA綴合物。前述陽離子如前所述。

【0316】在合成過程中，可隨時對核酸序列的純度和分子量進行檢測，更好地控製成品質，此類檢測的方法為所屬技術領域具有通常知識者所公知。例如，可通過離子交換色譜檢測核酸純度，並通過液質聯用色譜(LC-MS)測定分子量。

【0317】退火的方法也是所屬技術領域具有通常知識者熟知的。例如，可簡單地將所合成的正義鏈(S鏈)與反義鏈(AS鏈)以等莫耳比混合在注射用水中加熱至70-95°C，隨後室溫冷卻，使其通過氫鍵形成雙鏈結構。這樣即可得到式(308)所示的siRNA綴合物。

【0318】在獲得前述綴合物後，在一些實施方案中，還可利用例如液質聯用色譜等方法，通過分子量檢測等方式對所合成的式(308)所示的siRNA綴合物進行表徵，確定所合成的siRNA綴合物為目標設計的式(308)所示的siRNA綴合物，且所合成的siRNA的序列為期望的siRNA的序列，例如為表1中所列的序列之一。

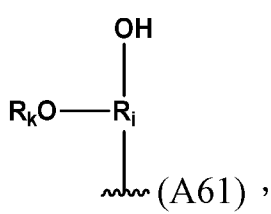
【0319】式(321)所示化合物可以通過以下製備方法得到：該方法包括在有機溶劑中，在酯化反應條件下，以及在鹼和酯化催化劑存在下，將式(313)所示化合物與環狀酸酐接觸，離子交換，分離得到式(321)所示化合物：



式(313)

其中，n1、n3、m1、m2、m3、R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄、R₁₅、L₁、S₁各自的定義和可選擇的範圍如前前述；

R₆ 為提供式(321)中 R₄的基團；在一些實施方案中，R₆具有式(A61)所示的結構：



其中，R_i為能夠實現與含氮骨架上的 N 原子連接、與 R_kO 連接並且連接有一個游離羥基的任意基團，R_k為羥基保護基團。此時，所獲得的是 R₄中含有作為羥基保護基團的第1官能團和第2官能團，前述第2官能團含有如式(C1)或(C2)所示結構的式(321)所示化合物。

【0320】 前述酯化反應條件包括反應溫度為0-100℃，反應時間為8-48小時，在一些實施方案中，前述酯化反應條件為反應溫度為10-40℃，反應時間為20-30小時。

【0321】 在一些實施方案中，前述有機溶劑包含環氧類溶劑、醚類溶劑、鹵代烷類溶劑、二甲基亞砷、N,N-二甲基甲醯胺和N,N-二異丙基乙胺中的一種或多種。在一些實施方案中，前述環氧類溶劑為二氧六環和/或四氫呋喃，前述醚類溶劑為乙醚和/或甲基叔丁基醚，前述鹵代烷類溶劑為二氯甲烷、三氯甲烷和1,2-二氯乙烷中的一種或多種。在一些實施方案中，前述有機溶劑為二氯甲烷。相對於前述式(313)所示化合物，前述有機溶劑的用量為3-50L/mol，在一些實施方案中為5-20L/mol。

【0322】 在一些實施方案中，前述環狀酸酐為丁二酸酐、戊二酸酐、己二酸酐或庚二酸酐中的一種，在一些實施方案中為丁二酸酐。前述環狀酸酐與前述式(313)所示化合物的莫耳比為1:1-10:1，在一些實施方案中為2:1-5:1。

【0323】 前述酯化催化劑可以是任何對該酯化反應起到催化作用的催化劑，例如該催化劑可以是4-二甲氨基吡啶。前述催化劑與式(313)所示化合物的莫耳比為1:1-10:1，在一些實施方案中為2:1-5:1。

【0324】 在一些實施方案中，前述鹼可以是任意的無機鹼，有機鹼或者它們的結合。考慮溶解性和產物穩定性，前述鹼可以是例如三級胺。在一些實施方案中，前述三級胺為三乙胺或N,N-二異丙基乙胺。前述三級胺與式(313)所示化合物的莫耳比為1:1-20:1，在一些實施方案中為3:1-10:1。

【0325】 前述離子交換作用是將式(321)所示化合物轉化為期望的羧酸或羧酸鹽的形式，離子交換的方法為所屬技術領域具有通常知識者所公知，可以使用合適的離子交換溶液和交換條件，得到具有 M^+ 陽離子的綴合分子，在此不做詳述。在一些實施方案中，前述離子交換反應使用三乙胺磷酸鹽溶液進行，前述三乙胺磷酸鹽溶液的濃度為0.2-0.8M，在一些實施方案中，前述三乙胺磷酸鹽溶液的濃度為0.4-0.6M，相對於式(313)所示化合物，前述三乙胺磷酸鹽溶液的用量為3-6L/mol，在進一步的實施方案中為4-5L/mol。

【0326】 可使用任何合適的分離方法從反應混合物中分離式(321)所示化合物。在一些實施方案中，可通過蒸發除去溶劑、隨後通過色譜方法分離式(321)所示化合物，例如，可使用如下兩種色譜條件進行分離：(1)正相純化矽膠：200-300目矽膠填料，使用含1wt%三乙胺的二氯甲烷:甲醇=100:18-100:20梯度洗脫；或者(2)反相純化：C18、C8反相填料，使用甲醇:乙腈=0.1:1-1:0.1梯度洗脫。在一些實施方案中，可以直接除去溶劑得到式(321)所示化合物粗產品，該粗產品可以直接用於後續反應。

【0327】 在一些實施方案中，式(321)所示化合物的製備方法還進一步包括

在縮合反應條件下，在有機溶劑中，在縮合劑、縮合催化劑和三級胺的存在下，將上述離子交換反應得到的產物進一步與含有氨基或羥基的固相載體進行接觸。此時，所獲得的是R₄中含有第1官能團和第2官能團，第1官能團含有羥基保護基團，第2官能團含有如式(C1')所示結構的式(321)所示化合物。

【0328】 前述固相載體為固相合成siRNA中所用的載體中的一種，其中的一些為所屬技術領域具有通常知識者所公知。例如，前述固相載體可以選自含有活性羥基或氨基官能團的固相載體，在一些實施方案中，前述固相載體為氨基樹脂或羥基樹脂。在一些實施方案中，前述氨基或羥基樹脂具有如下參數：粒徑100-400目(mesh)，表面氨基或羥基載量為0.2-0.5mmol/g。前述式(321)所示化合物與固相載體的用量比為10-400 μmol化合物/每克固相載體(μmol/g)。在一些實施方案中，前述式(321)所示化合物與固相載體的用量比為50-200μmol/g。

【0329】 前述有機溶劑可以是所屬技術領域具有通常知識者已知的任何合適的溶劑或混合溶劑。在一些實施方案中，前述有機溶劑為乙腈、環氧類溶劑、醚類溶劑、鹵代烷類溶劑、二甲基亞砷、N,N-二甲基甲醯胺和N,N-二異丙基乙胺中的一種或多種。在一些實施方案中，前述環氧類溶劑為二氧六環和/或四氫呋喃，前述醚類溶劑為乙醚和/或甲基叔丁基醚，前述鹵代烷類溶劑為二氯甲烷、三氯甲烷和1,2-二氯乙烷中的一種或多種。在一些實施方案中，前述有機溶劑為乙腈。相對於式(321)所示化合物，前述有機溶劑的用量為20-200L/mol，在一些實施方案中為50-100L/mol。

【0330】 在一些實施方案中，前述縮合劑可以是苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸酯/鹽 (benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino phosphonium hexafluorophosphate, PyBop)、3-二乙氧基磷醯基-1,2,3-苯唑4(3H)-酮 (3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-one, DEPBT)和/或O-苯並三唑-四甲基脲六氟磷酸酯/鹽 (O-benzotriazol-1-yl-tetramethyluronium hexafluorophosphate)，在一些實施方案中，前述縮合劑為O-苯並三氮唑-四甲基

脲六氟磷酸鹽/酯。前述縮合劑與式(321)所示化合物的莫耳比為1:1-20:1，在其它實施方案中為1:1-5:1。

【0331】 在一些實施方案中，前述三級胺為三乙胺和/或N,N-二異丙基乙胺，在一些實施方案中為N,N-二異丙基乙胺；前述三級胺與式(321)所示化合物的莫耳比為1:1-20:1，在一些實施方案中為1:1-5:1。

【0332】 在一些實施方案中，式(321)所示化合物的製備方法還可以包括在蓋帽反應條件下，在有機溶劑中，將得到的縮合產物與蓋帽試劑和醃化催化劑接觸，分離得到式(321)所示化合物。前述蓋帽反應的作用在於除去任何尚未反應完全的活性反應官能團，以避免在後續反應中產生不必要的副產物。前述蓋帽反應的條件包括反應溫度為0-50°C，在一些實施方案中為15-35°C，反應的時間為1-10h，在一些實施方案中為3-6h。蓋帽試劑可以使用siRNA固相合成中所使用的蓋帽試劑，siRNA固相合成中所使用的蓋帽試劑為所屬技術領域具有通常知識者所公知。

【0333】 在一些實施方案中，前述蓋帽試劑由蓋帽試劑1(cap1)和蓋帽試劑2(cap2)組成，其中，蓋帽試劑1為N-甲基咪唑，在一些實施方案中以N-甲基咪唑的吡啶/乙腈混合溶液形式提供，其中，吡啶與乙腈的體積比為1:10-1:1，在一些實施方案中為1:3-1:1，吡啶與乙腈的總體積與N-甲基咪唑的體積比為1:1-10:1，在一些實施方案中為3:1-7:1。前述蓋帽試劑2為乙酸酐。在一些實施方案中，前述蓋帽試劑2以乙酸酐的乙腈溶液形式提供，其中，乙酸酐和乙腈的體積比為1:1-1:10，在進一步的實施方案中為1:2-1:6。

【0334】 在一些實施方案中，前述N-甲基咪唑的吡啶/乙腈混合溶液的體積與式(321)所示化合物的品質之比為5ml/g-50ml/g，在一些實施方案中為15ml/g-30ml/g。前述乙酸酐的乙腈溶液的體積與式(321)所示化合物的品質之比為0.5ml/g-10ml/g，在一些實施方案中為1ml/g-5ml/g。

【0335】 在一些實施方案中，蓋帽試劑使用等莫耳量的乙酸酐與N-甲基咪

唑。在一些實施方案中，前述有機溶劑為乙腈、環氧類溶劑、醚類溶劑、鹵代烷類溶劑、二甲基亞砷、N,N-二甲基甲醯胺和N,N-二異丙基乙胺中的一種或多種。在一些實施方案中，前述有機溶劑為乙腈。相對於式(321)所示化合物，前述有機溶劑的用量為10-50L/mol，在一些實施方案中為5-30L/mol。

【0336】 在一些實施方案中，前述醯化催化劑可以選自任何可用於酯化縮合或醯胺化縮合的催化劑，例如鹼性雜環化合物。在一些實施方案中，前述醯化催化劑為4-二甲氨基吡啶。前述催化劑與式(321)所示化合物的品質之比為0.001:1-1:1，在一些實施方案中為0.01:1-0.1:1。

【0337】 在一些實施方案中，可使用任何合適的分離方法從反應混合物中分離式(321)所示化合物。在一些實施方案中，可通過以有機溶劑充分洗滌，並過濾，去除未反應的反應物、過量的蓋帽試劑及其它雜質，得到式(321)所示化合物，前述有機溶劑選自乙腈、二氯甲烷、甲醇，在一些實施方案中為乙腈。

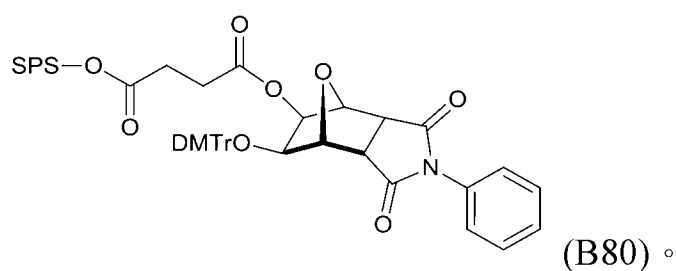
【0338】 在一些實施方案中，式(321)所示綴合分子的製備方法包括在有機溶劑中，在偶聯反應條件下，以及在偶聯試劑存在下，將式(313)所示化合物與亞磷醯二胺接觸，分離得到式(321)所示化合物。此時，所獲得的是R₄中含有第1官能團和第2官能團，第1官能團含有羥基保護基團，第2官能團含有如式(C3)所示結構的式(321)所示化合物。

【0339】 在一些實施方案中，偶聯反應條件包括溫度可以為0-50°C，例如為15-35°C，式(313)所示化合物與亞磷醯二胺的莫耳比可以為1:1-1:50，例如為1:5-1:15；式(313)所示化合物和偶聯試劑的莫耳比可以為1:1-1:100，例如為1:50-1:80；反應時間可以為200-3000秒，例如為500-1500秒。前述亞磷醯二胺例如可使用雙(二異丙基氨基)(2-氰基乙氧基)膦，其可商購獲得或按照本領域中公知的方法合成獲得。偶聯試劑選自1H-四氮唑、5-乙硫基1H-四氮唑、5-苄硫基1H-四氮唑中的一種或多種，例如為5-乙硫基1H-四氮唑。前述偶聯反應可在有機溶劑中進行，前述有機溶劑選自無水乙腈、無水DMF、無水二氯甲烷中的一種或

多種，例如為無水乙腈。在一些實施方案中，相對於式(313)所示化合物，前述有機溶劑的用量為3-50L/mol，例如可以為5-20L/mol。通過進行該偶聯反應，式(313)所示化合物中的羥基與亞磷醯二胺反應形成亞磷醯胺基團。在一些實施方案中，可以直接除去溶劑得到式(321)所示化合物粗產品，該粗產品可以直接用於後續反應。

【0340】 在一些實施方案中，式(321)所示化合物的製備方法還進一步包括以下步驟：在偶聯反應條件下，在有機溶劑中，以及在偶聯試劑存在下，將分離得到的產物進一步與含有羥基的固相載體進行接觸。隨後，經蓋帽反應、氧化反應，分離得到式(321)所示化合物。此時，所獲得的是R₄中含有第1官能團和第2官能團，第1官能團含有羥基保護基團，第2官能團具有如式(C3')所示結構的式(321)所示化合物。

【0341】 在一些實施方案中，前述固相載體為本領域中公知的可用於核酸固相合成的固相載體，例如，可以是經脫保護反應後的市售的通用固相載體 (NittoPhase®HL UnyLinker™ 300 Oligonucleotide Synthesis Support, Kinovate Life Sciences公司，結構如式B80所示)：



【0342】 脫保護反應為所屬技術領域具有通常知識者所公知。在一些實施方案中，脫保護條件包括溫度為0-50°C，例如為15-35°C；反應時間為30-300秒，例如為50-150秒。脫保護試劑可以選自三氟乙酸、三氯乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸中的一種或多種，在一些實施方案中，脫保護試劑為二氯乙酸。脫保護試劑與固定相上的-DMTr(4,4'-二甲氧基三苯甲基)保護基的莫耳比為2:1-100:1，例如為3:1-50:1。通過進行前述脫保護，在前述固相載體表面上獲

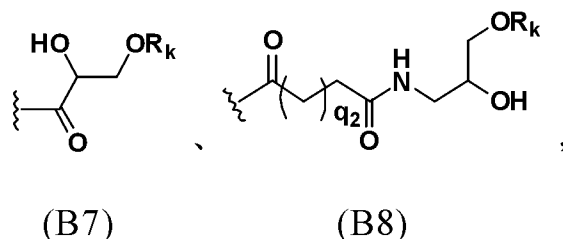
得具有反應活性的游離羥基，便於進行後續的偶聯反應。

【0343】 偶聯反應條件以及偶聯試劑的選擇可如上前述。通過進行該偶聯反應，脫保護反應中形成的游離羥基與亞磷醯胺基團反應形成亞磷酸酯連接。

【0344】 在一些實施方案中，蓋帽反應條件包括溫度為0-50°C，例如為15-35°C，反應時間為5-500秒，例如為10-100秒，前述蓋帽反應在蓋帽試劑存在下進行。蓋帽試劑的選擇和用量可如上前述。

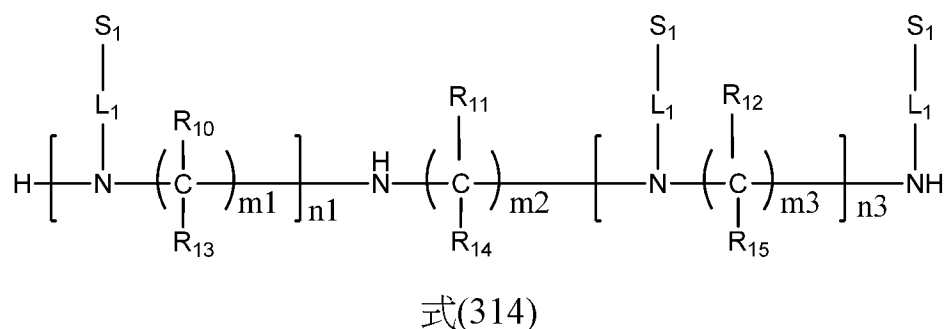
【0345】 氧化反應條件包括溫度為0-50°C，例如可以為15-35°C，反應時間為1-100秒，例如可以為5-50秒，氧化試劑例如可以為碘(在一些實施方案中，以碘水的形式提供)。在一些實施方案中，氧化試劑與連接至固相載體的核酸序列的莫耳比為1:1-100:1，例如可以為5:1-50:1。在一些實施方案中，前述氧化反應在四氫呋喃:水:吡啶=3:1:1-1:1:3的混合溶劑中進行。

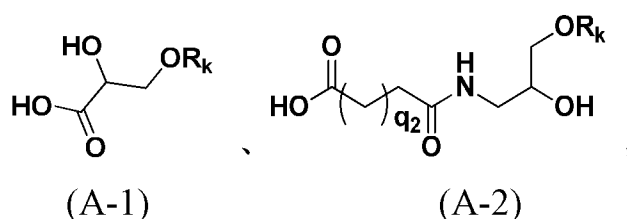
【0346】 在一些實施方案中，R₆為式B7或B8基團中的一種，



其中 q₂ 的定義如前前述，

此時，式(313)所示化合物可以通過以下製備方法得到：在有機溶劑中，在醯胺化反應條件下，以及在醯胺化反應縮合劑和三級胺存在下，將式(314)所示化合物與式(A-1)所示化合物或式(A-2)所示化合物接觸，隨後進行分離：





其中， n_1 、 n_3 、 m_1 、 m_2 、 m_3 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 、 L_1 、 S_1 、 q_2 和 R_k 各自的定義和可選擇的範圍如前前述。

【0347】 前述醯胺化反應條件可包括反應溫度為0-100°C，反應時間為1-48小時，在一些實施方案中，前述醯胺化反應條件為反應溫度為10-40°C，反應時間為2-16小時。

【0348】 在一些實施方案中，前述有機溶劑為醇類溶劑、環氧類溶劑、醚類溶劑、鹵代烷類溶劑、二甲基亞砜、N,N-二甲基甲醯胺和N,N-二異丙基乙胺中的一種或多種。前述醇類溶劑在一些實施方案中為甲醇、乙醇、丙醇中的一種或多種，在一些實施方案中為乙醇。前述環氧類溶劑在一些實施方案中為二氧六環和/或四氫呋喃。前述醚類溶劑在一些實施方案中為乙醚和/或甲基叔丁基醚。前述鹵代烷類溶劑在一些實施方案中為二氯甲烷、三氯甲烷和1,2-二氯乙烷中的一種或多種。在一些實施方案中，前述有機溶劑為二氯甲烷。相對於式(314)所示化合物，有機溶劑用量為3-50L/mol，在進一步的實施方案中為3-20L/mol。

【0349】 在一些實施方案中，前述醯胺化反應縮合劑為苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸鹽/酯、3-二乙氧基磷醯基-1,2,3-苯唑4(3H)-酮、4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基嗎啉鹽酸鹽、2-乙氧基-1-乙氧羰醯基-1,2-二氫喹啉(EEDQ)或O-苯並三氮唑-四甲基脲六氟磷酸鹽/酯，在進一步的實施方案中為3-二乙氧基磷醯基-1,2,3-苯唑4(3H)-酮。前述醯胺化反應縮合劑與式(314)所示化合物的莫耳比可以為1:1-10:1，在一些實施方案中為2.5:1-5:1。

【0350】 在一些實施方案中，前述三級胺為三乙胺或N,N-二異丙基乙胺，在進一步的實施方案中為N,N-二異丙基乙胺。前述三級胺與式(314)所示化合物

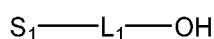
的莫耳比為3:1-20:1，在一些實施方案中為5:1-10:1。

【0351】 在一些實施方案中，式(A-1)和式(A-2)所示化合物可通過任何適當的方式製備。例如，當 R_k 為DMTr基團時，可通過甘油酸鈣與DMTrCl反應製備式(A-1)所示化合物；類似地，可先將3-氨基-1,2-丙二醇與環狀酸酐接觸，隨後再與DMTrCl反應製備式(A-2)所示化合物，前述環狀酸酐可以是碳原子數為4-13、在一些實施方案中為4-8的環狀酸酐。所屬技術領域具有通常知識者容易理解的是，前述環狀酸酐的選擇對應於(A-2)所示化合物中 q_2 的不同值，例如，當前述環狀酸酐為丁二酸酐時， $q_2=1$ ，當前述環狀酸酐為戊二酸酐時， $q_2=2$ ，以此類推。

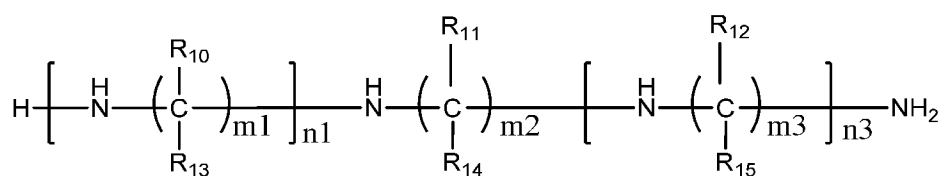
【0352】 在一些變型中，也可通過使式(314)所示化合物依次與前述環狀酸酐、3-氨基-1,2-丙二醇和DMTrCl反應，製備式(313)所示化合物。所屬技術領域具有通常知識者容易理解的是，這些變型不會影響式(313)所示化合物的結構與功能，並且這些變型是所屬技術領域具有通常知識者在上述方法的基礎上容易實現的。

【0353】 與上述類似地，可使用任何合適的分離方法從反應混合物中分離式(313)所示化合物。在一些實施方案中，可通過蒸發除去溶劑、隨後通過色譜方法分離式(313)所示化合物，例如，可使用如下兩種色譜條件進行分離：(1)正相純化矽膠：200-300目矽膠填料，使用石油醚:乙酸乙酯:二氯甲烷:N,N-二甲基甲醯胺=1:1:1:0.5-1:1:1:0.6梯度洗脫；以及(2)反相純化：C18、C8反相填料，使用甲醇:乙腈=0.1:1-1:0.1梯度洗脫。在一些實施方案中，可以直接除去溶劑得到式(313)所示化合物粗產品，該粗產品可以直接用於後續反應。

【0354】 在一些實施方案中，式(314)所示化合物可以通過以下製備方法得到：該方法包括在有機溶劑中，在醯胺化反應縮合劑和三級胺存在下，在縮合反應條件下，將式(320)所示化合物與式(316)所示化合物接觸，隨後進行分離：



式(316)



式(320)

【0355】 其中， $n1$ 、 $n3$ 、 $m1$ 、 $m2$ 、 $m3$ 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 各自的定義和可選擇的範圍如前前述。

【0356】 式(316)所示化合物可使用例如J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 16958-16961中所公開的化合物，或者，式(316)所示化合物可由所屬技術領域具有通常知識者通過各種方法製備，例如，可參照美國專利US 8,106,022 B2實施例1中所公開的方法製備某些式(316)所示化合物，以引用的方式將以上文獻的全部內容整體併入本文。

【0357】 在一些實施方案中，前述縮合反應條件包括反應溫度為0-100°C，反應時間為0.1-24小時，在一些實施方案中為反應溫度為10-40°C，反應時間為0.5-16小時。

【0358】 考慮到期望產物式(314)所示化合物的結構，前述式(316)所示化合物與前述式(320)所示化合物的莫耳比應當基於與式(320)中 $n1$ 與 $n3$ 的和而確定。在一些實施方案中，例如，當 $n1+n3=3$ 時，為了保證反應完全而不過度，式(316)所示化合物與前述式(320)所示化合物的莫耳比可以為3:1-3.5:1，在一些實施方案中為3.01:1-3.15:1。

【0359】 在一些實施方案中，前述有機溶劑為乙腈、環氧類溶劑、醚類溶劑、鹵代烷類溶劑、二甲基亞砜、N,N-二甲基甲醯胺和N,N-二異丙基乙胺中的一種或多種，前述環氧類溶劑在一些實施方案中為二氧六環和/或四氫呋喃，前述醚類溶劑在一些實施方案中為乙醚和/或甲基叔丁基醚，前述鹵代烷類溶劑在一些實施方案中為二氯甲烷、三氯甲烷和1,2-二氯乙烷中的一種或多種，在一些實施方案中，前述有機溶劑為二氯甲烷。相對於式(320)所示化合物，前述有機溶劑的用量為3-50L/mol，在一些實施方案中為5-20L/mol。

【0360】 在一些實施方案中，前述醯胺化反應縮合劑為苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸鹽/酯、3-二乙氧基磷醯基-1,2,3-苯唑4(3H)-酮(DEPBT)、O-苯並三氮唑-四甲基脲六氟磷酸鹽/酯、4-(4,6-二甲氧基三嗪-2-基)-4-甲基嗎啉鹽酸鹽或1-羥基苯並三唑中的一種或多種，在進一步的實施方案中為苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸鹽/酯和1-羥基苯並三唑的混合物，其中苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸酯/鹽和1-羥基苯並三唑為等莫耳用量。前述總的醯胺化反應縮合劑與式(316)所示化合物的莫耳比可以為1:1-3:1，在一些實施方案中為1.05:1-1.5:1。

【0361】 前述三級胺可以為N-甲基嗎啉、三乙胺或N,N-二異丙基乙胺，在一些實施方案中為N-甲基嗎啉；前述三級胺與式(316)所示化合物的莫耳比可以為2:1-10:1，在一些實施方案中為2:1-5:1。

【0362】 與上述類似地，可使用任何合適的分離方法從反應混合物中分離式(314)所示化合物。在一些實施方案中，可通過蒸發除去溶劑、隨後通過色譜方法分離式(314)所示化合物例如，可使用如下兩種色譜條件進行分離：(1)正相純化矽膠：200-300目矽膠填料，使用二氯甲烷:甲醇=100:5-100:7梯度洗脫；以及(2)反相純化：C18、C8反相填料，使用甲醇:乙腈=0.1:1-1:0.1梯度洗脫。在一些實施方案中，可以直接除去溶劑得到式(314)所示化合物粗產品，該粗產品可以直接用於後續反應。

【0363】 式(320)所示化合物可商購獲得，或者由所屬技術領域具有通常知識者使用已知的方法獲得。例如，當 $m_1=m_2=m_3=3$ ， $n_1=1$ ， $n_3=2$ ，且每個 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} 、 R_{14} 、 R_{15} 均為H時，式(320)所示化合物可自阿法埃莎公司商購獲得。

【0364】 本發明的siRNA綴合物也可以與藥學上可接受的其它輔料聯用，該輔料可以為本領域常規採用的各種製劑或化合物的一種或多種，詳情可參見上文關於本發明的藥物組合物的描述。

【0365】 本發明的siRNA、含該siRNA的藥物組合物及綴合物的應用

【0366】 在一些實施方案中，本發明提供了本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物在製備用於治療和/或預防血栓性疾病和/或缺血性卒中的藥物中的用途。

【0367】 在一些實施方案中，本發明提供了一種預防和/或治療血栓性疾病和/或缺血性卒中的方法，該方法包括將有效量的本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物給予有需要的受試者。

【0368】 通過將本發明的siRNA活性成分給予有需要的受試者，可以通過RNA干擾的機制達到預防和/或治療血栓性疾病和/或缺血性卒中的目的。因此，本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物可用於預防和/或治療血栓性疾病和/或缺血性卒中，或用於製備用於預防和/或治療血栓性疾病和/或缺血性卒中的藥物。

【0369】 本文所使用的術語“給藥/給予”是指通過使得至少部分地將本發明的siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物定位於期望的位點以產生期望效果的方法或途徑，將本發明的siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物放置入受試者體內。適於本發明方法的給藥途徑包括局部給藥和全身給藥。一般而言，局部給藥導致與受試者體循環相比將更多siRNA綴合物遞送至特定位點；而全身給藥導致將本發明的siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物遞送至受試者的基本體循環。考慮到本發明旨在提供預防和/或治療血栓性疾病和/或缺血性卒中的手段，在一些實施方案中採用能夠將藥物遞送至肝臟的給藥方式。

【0370】 可通過本領域已知的任何合適途徑向受試者給藥，前述途徑包括但不僅限於：口服或胃腸外途徑，如靜脈內給藥、肌肉內給藥、皮下給藥、經皮給藥、氣道給藥(氣霧劑)、肺部給藥、鼻部給藥、直腸給藥和局部給藥(包括口腔含化給藥和舌下給藥)。給藥頻率可以是每天、每週、每兩周、每三周、每個月或每年一次或多次。

【0371】 本發明記載之siRNA、藥物組合物或siRNA綴合物的使用劑量可為本領域常規的劑量，前述劑量可以根據各種參數、尤其是受試者的年齡、體重和性別來確定。可在細胞培養或實驗動物中通過標準藥學程式測定毒性和療效，例如測定LD₅₀(使50%的群體死亡的致死劑量)和ED₅₀(在量反應中指能引起50%最大反應強度的劑量，在質反應中指能引起50%實驗物件出現陽性反應時的劑量)。可基於由細胞培養分析和動物研究得到的資料得出人用劑量的範圍。

【0372】 在給予本發明記載之siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物時，例如，對於雄性或雌性、6-12周齡、體重18-25g的C57BL/6N小鼠，以siRNA的量計：(i)對於siRNA綴合物，其siRNA用量可以為0.001-100mg/kg體重，在一些實施方案中為0.01-50mg/kg體重，在一些實施方案中為0.05-20mg/kg體重，另一些實施方案中為0.1-15mg/kg體重，另一些實施方案中為0.1-10mg/kg體重；(ii)對於siRNA與藥學上可接受的載體形成的藥物組合物，其siRNA用量可以為0.001-50mg/kg體重，在一些實施方案中為0.01-10mg/kg體重，在一些實施方案中為0.05-5mg/kg體重，在一些實施方案中為0.1-3mg/kg體重。

【0373】 在一些實施方案中，本發明提供了一種抑制肝細胞中FXI基因表達的方法，該方法包括將有效量的本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物與前述肝細胞接觸，將本發明的siRNA和/或藥物組合物和/或siRNA綴合物導入前述肝細胞，通過RNA干擾的機制達到抑制肝細胞中FXI基因表達的目的。前述肝細胞可以選自SMMC-7721、HepG2、Huh7等肝癌細胞系或分離的肝原代細胞。在一些實施方案中，前述細胞為HepG2肝癌細胞。

【0374】 採用本發明提供的方法抑制FXI基因在細胞中表達，所提供的修飾的siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物中的siRNA用量一般是這樣的量：其足以減少靶基因的表達，並導致在靶細胞表面處1pM至1μM、0.01nM至100nM、0.05nM至50nM或0.05nM至約5nM的細胞外濃度。達到該局部濃度所需的量將隨各種因素而變化，前述因素包括遞送方法、遞送部位、在遞送部位和靶細胞或

組織之間的細胞層的數目、遞送途徑(局部還是全身)等。在遞送部位處的濃度可以顯著高於在靶細胞或組織的表面處的濃度。

【0375】 試劑盒

【0376】 本發明提供了一種試劑盒，前述試劑盒包含有效量的本發明的修飾的siRNA、藥物組合物和siRNA綴合物的至少一種。

【0377】 在一些實施方案中，本文記載之試劑盒可在一個容器中提供修飾的siRNA。在一些實施方案中，本文記載之試劑盒可包含一個提供藥學上可接受的賦形劑的容器。在一些實施方案中，前述試劑盒中還可包含其它成分，如穩定劑或防腐劑等。在一些實施方案中，本文記載之試劑盒可在不同於提供本文前述修飾的siRNA的容器以外的其它容器中包含至少一種其它治療劑。在一些實施方案中，前述試劑盒可包含用於將修飾的siRNA與藥學上可接受的載體和/或輔料或其它成分(若有的話)進行混合的說明書。

【0378】 在本發明的試劑盒中，前述修飾的siRNA和藥學上可接受的載體和/或輔料以及前述修飾的siRNA、藥物組合物和/或siRNA綴合物和/或綴合物，和/或藥學上可接受的輔料可以任何形式提供，例如液體形式、乾燥形式或凍乾形式。在一些實施方案中，前述修飾的siRNA和藥學上可接受的載體和/或輔料以及前述藥物組合物和/或綴合物和任選的藥學上可接受的輔料基本上純淨和/或無菌。在一些實施方案中，可在本發明的試劑盒中提供無菌水。

【0379】 下面將通過實施例來進一步說明本發明，但是本發明並不因此而受到任何限制。

【0380】 實施例

【0381】 除非特別說明，以下實施例中所用到的試劑、培養基均為市售商品，所用到的核酸電泳、real-time PCR等操作均參照Molecular Cloning(Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989))所記載的方法進行。

【0382】 本發明合成的針對FXI基因的siRNA、siRNA綴合物或作為陰性對

照的siRNA、siRNA綴合物轉染細胞時，使用Lipofectamine™2000(Invitrogen)作為轉染試劑，具體操作參照製造商提供的說明書。

【0383】 C57BL/6N小鼠：6-8周齡，購自北京維通利華實驗動物技術有限公司，以下簡稱為C57小鼠。

【0384】 雜合子人源化小鼠：6-8周齡，購自賽業生物科技有限公司。

【0385】 若無其它說明，以下提供的試劑比例均按體積比(v/v)計算。

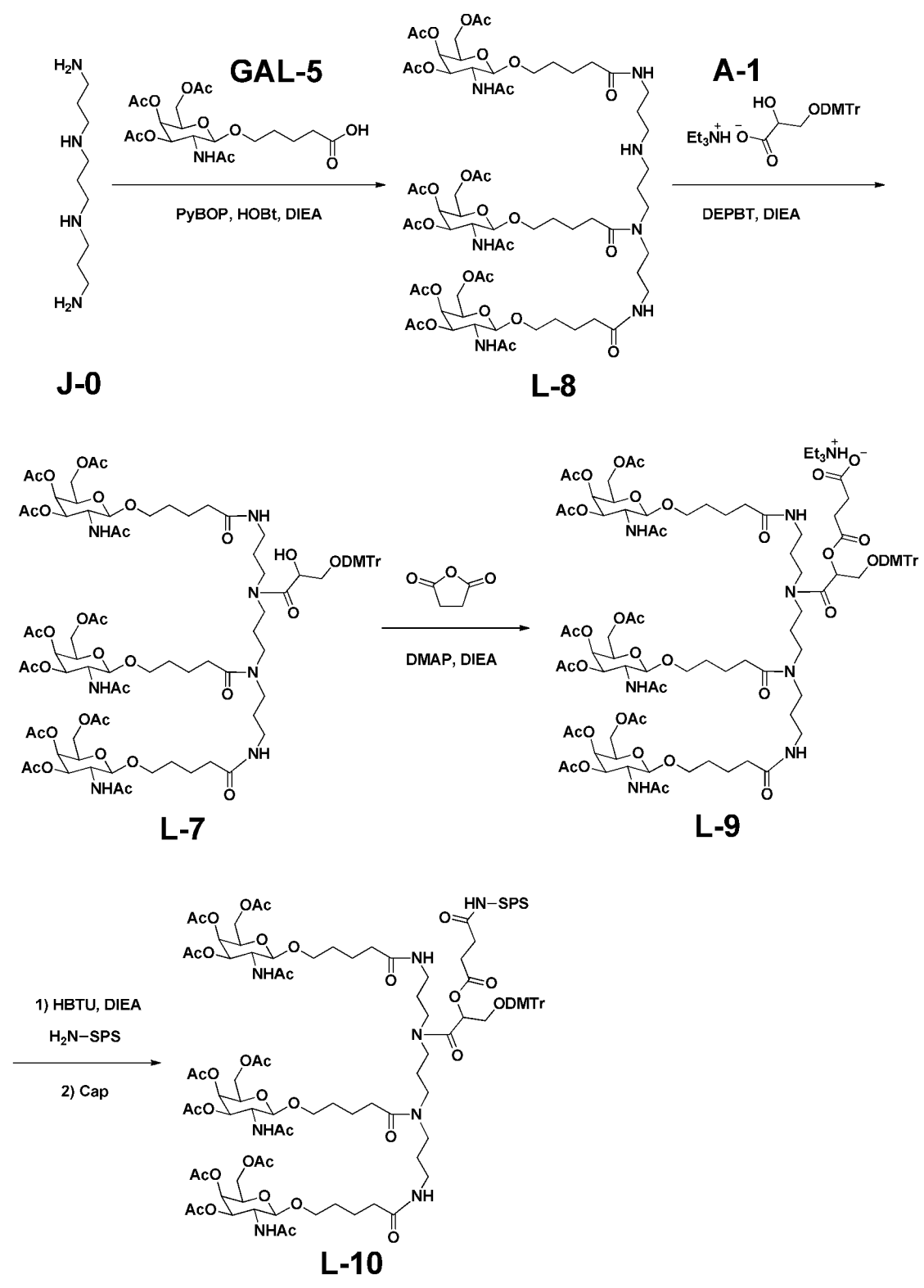
【0386】 若無特別說明，以下體內/體外效果實驗資料均以 $X \pm SEM$ 表示，資料分析採用Graphpad prism5.0統計分析軟體。

【0387】 製備例1：綴合物L10-siFXIf1M1S的製備

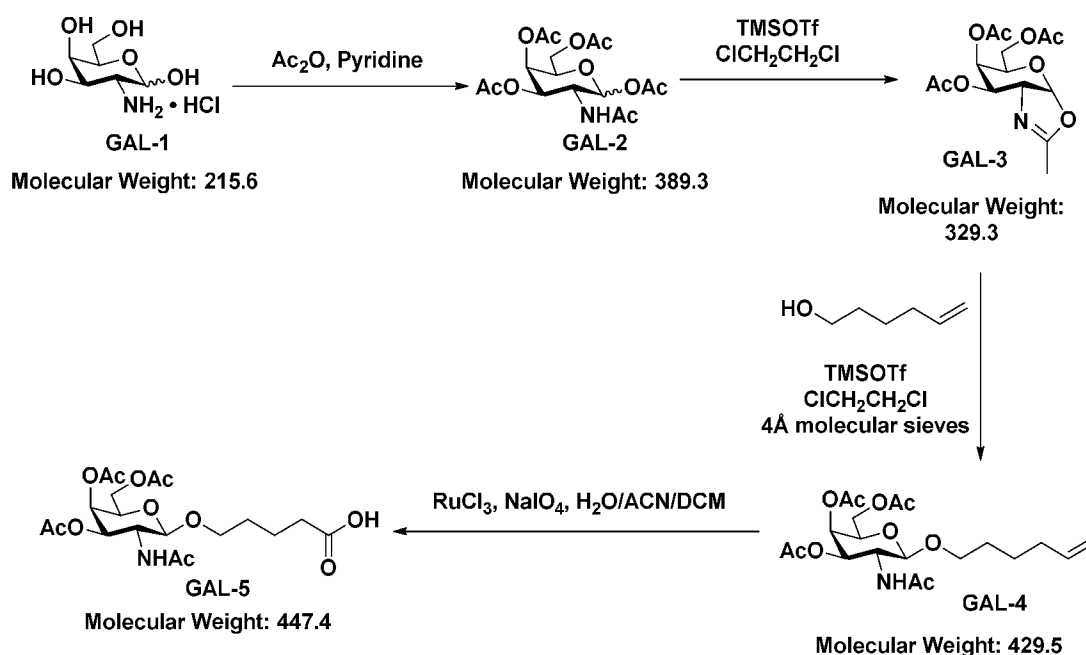
【0388】 本製備例合成了綴合物L10-siFXIf1M1S。該綴合物為L-9綴合分子與編號為siFXIf1M1S的siRNA綴合後形成的siRNA綴合物。該綴合物中所綴合的siRNA的序列參見表3。

【0389】 (1-1)L-10化合物的合成

【0390】 按照以下方法，合成了L-10化合物：



綴合末端段 GAL-5 的合成



(1-1-1a)GAL-2 的合成

【0391】 將100.0g GAL-1(N-乙醯-D-半乳糖胺鹽酸鹽，CAS號：1772-03-8，購自寧波弘翔生化公司，463.8 mmol)溶於1000ml無水吡啶，冰水浴下加入540ml 乙酸酐(購自Enox公司，5565.6mmol)，室溫攪拌反應1.5小時。將反應液倒入10L 冰水中，減壓抽濾，濾餅用2L冰水洗滌後，加乙腈/甲苯混合溶劑(體積比乙腈: 甲苯=1:1)至完全溶解，蒸乾溶劑，得到白色固體產品GAL-2 130.0g。

【0392】 (1-1-1b)GAL-3的合成

【0393】 將步驟(1-1-1a)中獲得的GAL-2(35.1g，90.0mmol)溶解於213ml無水1,2-二氯乙烷中，在冰水浴且氮氣保護條件下，加入24.0g TMSOTf(CAS號：27607-77-8，購自麥克林公司，108.0mmol)，室溫反應過夜。

【0394】 在反應液中加入400ml二氯甲烷稀釋，以矽藻土過濾，再加入1L 飽和碳酸氫鈉水溶液，攪拌均勻，分出有機相，水相用二氯乙烷萃取兩次，每次300ml，合併有機相，分別用300ml飽和碳酸氫鈉水溶液和300ml飽和食鹽水洗滌，分出有機相，無水硫酸鈉乾燥，減壓蒸乾溶劑，得到淺黃色黏稠糖稀狀產品GAL-3 26.9g。

【0395】 (1-1-1c)GAL-4的合成

【0396】 將步驟(1-1-1b)中獲得的GAL-3(26.9g，81.7mmol)溶於136ml無水

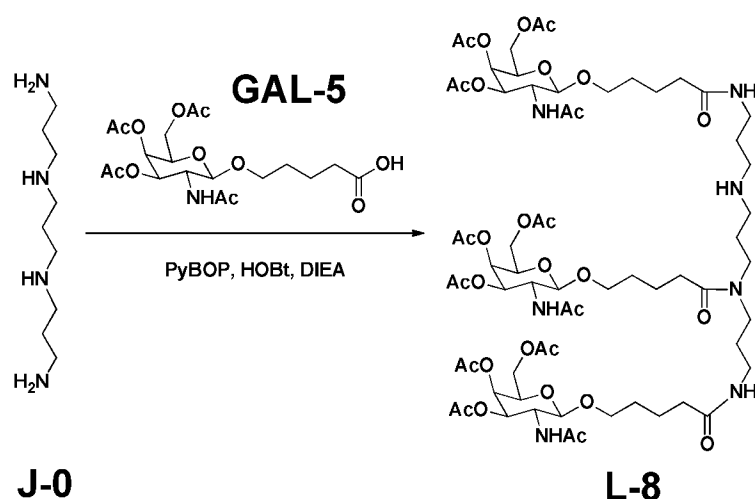
第 120 頁，共 151 頁(發明說明書)

1,2-二氯乙烷中，加入乾燥的4Å分子篩粉末30g，再加入9.0g 5-己烯-1-醇(CAS號：821-41-0，購自Adamas-beta公司，89.9mmol)，室溫下攪拌30分鐘，冰浴和氮氣保護下加入9.08g TMSOTf(40.9mmol)，室溫下攪拌反應過夜。過濾除去4 Å分子篩粉末，濾液中加入300ml二氯甲烷稀釋，以矽藻土過濾，再加入500ml飽和碳酸氫鈉水溶液攪拌10分鐘洗滌，分出有機相，水相用300ml二氯乙烷萃取一次，合併有機相並分別用300ml飽和碳酸氫鈉水溶液和300ml飽和食鹽水洗滌，分出有機相，無水硫酸鈉乾燥，減壓蒸乾溶劑，得到黃色糖稀狀產品GAL-4 41.3g，不進行純化直接進行下一步氧化反應。

【0397】 (1-1-1d)GAL-5的合成

【0398】 將按照步驟(1-1-1c)中描述的方法得到的 GAL-4(14.9g，34.7mmol，)溶於77ml二氯甲烷和77ml乙腈的混合溶劑中，分別加入103ml去離子水和29.7g高碘酸鈉(CAS號：7790-28-5，購自阿拉丁公司，138.8mmol)，冰水浴下攪拌10分鐘，加入三氯化釕(CAS號：14898-67-0，購自安耐吉公司，238mg，1.145mmol)，室溫反應過夜。反應液加入300ml水稀釋攪拌，加飽和碳酸氫鈉調pH約為7.5，分出並棄去有機相，水相用二氯甲烷萃取三次，每次200ml，棄去有機相。水相用檸檬酸固體調節pH約為3，用二氯甲烷萃取三次，每次200ml，合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，減壓蒸乾溶劑，得到白色泡沫狀固體產品GAL-5 6.85g。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.01 (br, 1H), 7.83 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H), 5.21 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.96 (dd, *J* = 11.2, 3.2 Hz, 1H), 4.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.07 – 3.95 (m, 3H), 3.92 – 3.85 (m, 1H), 3.74 – 3.67 (m, 1H), 3.48 – 3.39 (m, 1H), 2.20 (t, *J* = 6.8 Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 2.00 (s, 3H), 1.90 (s, 3H), 1.77 (s, 3H), 1.55 – 1.45 (m, 4H).

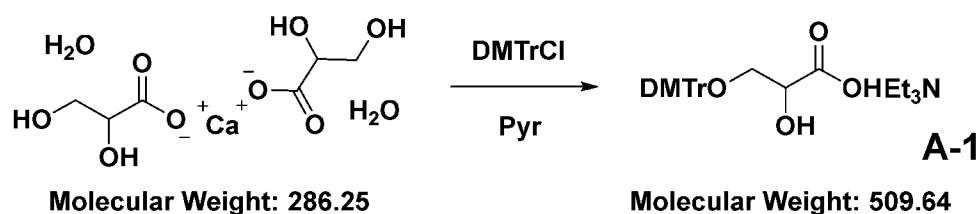
【0399】 (1-1-2)L-8的合成



【0400】將J-0(9.886g, 52.5mmol, 商購自阿法埃沙公司)和步驟(1-1-1)中得到的GAL-5(72.819g, 162.75mmol, 由多批次產物合併而得)溶於525ml二氯甲烷, 加入二異丙基乙胺(DIEA, 44.782g, 346.50mmol)、苯並三唑-1-基-氧基三吡咯烷基磷六氟磷酸酯/鹽(PyBOP, 90.158g, 173.25mmol)和羥基苯並三唑(HOBT, 23.410g, 173.25mmol), 室溫下反應4h, 加入20ml飽和碳酸氫鈉和200ml飽和食鹽水進行洗滌, 水相用二氯甲烷萃取2次, 每次100ml, 合併有機相, 用無水硫酸鈉乾燥, 過濾後減壓蒸乾溶劑得粗品。純化使用200-300目正相矽膠, 以10wt%三乙胺中和矽膠酸性, 1wt%三乙胺平衡管柱, 以二氯甲烷:甲醇=100:25-100:40梯度洗脫, 收集產物洗脫液, 減壓蒸乾溶劑得到純品L-8 38.8g。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.84 (d, J = 9.0 Hz, 3H), 7.27 – 7.23 (m, 1H), 7.13 – 7.18 (m, 1H), 5.22 (d, J = 3.1 Hz, 3H), 4.97 (dd, J = 11.3, 3.1 Hz, 3H), 4.48 (d, J = 8.4 Hz, 3H), 4.09 – 3.98 (m, 9H), 3.88 (dd, J = 19.3, 9.3 Hz, 3H), 3.75 – 3.66 (m, 3H), 3.44 – 3.38 (m, 3H), 3.17 – 3.30 (m, 4H), 3.10 – 2.97 (m, 4H), 2.35 – 2.20 (m, 6H), 2.15 – 2.08 (m, 9H), 2.07 – 1.98 (m, 13H), 1.94 – 1.87 (m, 9H), 1.81 – 1.74 (m, 9H), 1.65 – 1.42 (m, 18H). MS m/z : $C_{85}H_{119}N_7O_{30}$, $[M+H]^+$, 理論: 1477.59, 實測: 1477.23。

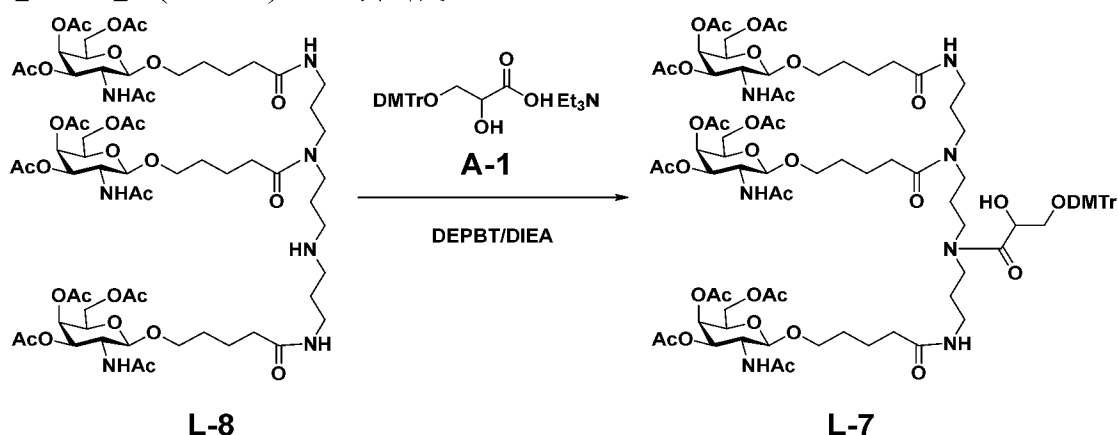
【0401】(1-1-3)L-7的合成

【0402】(1-1-3a)A-1的合成



【0403】將DMTrCl(4,4'-雙甲氧基三苯甲基氯，101.65g，300mmol)溶於1000ml無水吡啶中，加入DL-甘油酸鈣水合物(28.63g，100mmol)，在45°C反應20h，將反應液過濾，濾餅用200ml DCM洗滌，濾液減壓濃縮至乾，剩餘物用500ml二氯甲烷重新溶解，0.5M三乙胺磷酸鹽(pH=7-8)洗滌2次，每次200ml，水相以二氯甲烷萃取2次，每次200ml，合併有機相，用無水硫酸鈉乾燥，過濾，減壓蒸乾溶劑，200-300目正相矽膠柱純化，以石油醚:乙酸乙酯:二氯甲烷:甲醇=1:1:1:0.35-1:1:1:0.55梯度洗脫，收集產物洗脫液，減壓蒸乾溶劑，600ml二氯甲烷重新溶解，以200ml 0.5M三乙胺磷酸鹽洗滌1次，水相用200ml二氯甲烷萃取1次，合併有機相，無水硫酸鈉乾燥，過濾，減壓蒸乾溶劑，真空油泵減壓下過夜，得到白色固體產品A-1 50.7g。¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.46 (ddd, J = 6.5, 2.3, 1.1 Hz, 1H), 7.40 – 7.28 (m, 7H), 6.89 – 6.81 (m, 4H), 4.84 (d, J = 5.0 Hz, 1H), 4.36 – 4.24 (m, 1H), 4.29 (s, 6H), 3.92 (dd, J = 12.4, 7.0 Hz, 1H), 3.67 (dd, J = 12.3, 7.0 Hz, 1H), 2.52 (q, J = 6.3 Hz, 6H), 1.03 (t, J = 6.3 Hz, 9H). MS m/z : C₂₄H₂₃O₆, [M-H]⁻，理論：407.15，實測：406.92。

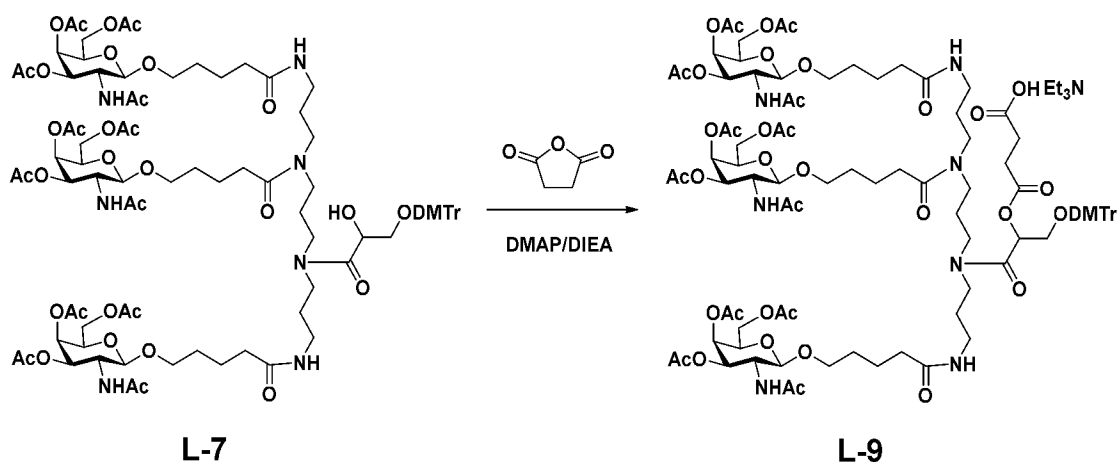
【0404】(1-1-3b)L-7的合成



【0405】將步驟(1-1-2)中獲得的L-8(40g，27.09mmol，由多批次產物合併而得)和步驟(1-1-3a)中獲得的A-1(41.418g，81.27mmol)混合，溶於271ml二氯甲

烷，加入3-二乙氧基磷鹽基-1,2,3-苯唑4(3H)-酮(DEPBT)(24.318g，81.37mmol)，再加入二異丙基乙胺(21.007g，162.54mmol)，25°C下攪拌反應1.5h，用800ml飽和碳酸氫鈉洗滌有機相，水相以二氯甲烷萃取3次，每次50ml，以150ml飽和食鹽水洗滌有機相，水相以50ml二氯甲烷萃取1次，合併有機相並以無水硫酸鈉乾燥，過濾後減壓蒸乾溶劑，真空油泵發泡乾燥過夜，得到粗品。柱純化使用2kg 200-300目正相矽膠，以200ml三乙胺中和矽膠酸性，以含1wt%三乙胺的石油醚平衡管柱，以石油醚:乙酸乙酯:二氯甲烷:N,N-二甲基甲醯胺=1:1:1:0.5-1:1:1:0.6梯度洗脫，收集產物洗脫液，減壓蒸乾溶劑得到純品L-7 40.4g。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.90 – 7.78 (m, 4H), 7.75 – 7.64 (m, 1H), 7.38 – 7.18 (m, 9H), 6.91 – 6.83 (m, 4H), 5.25 – 5.10 (m, 4H), 4.97 (dd, J = 11.2, 3.2 Hz, 3H), 4.48 – 4.30 (m, 4H), 4.02 (s, 9H), 3.93 – 3.84 (m, 3H), 3.76 – 3.66 (m, 9H), 3.45 – 3.35 (m, 3H), 3.24 – 2.98 (m, 10H), 2.30 – 2.20 (m, 2H), 2.11 – 1.88 (m, 31H), 1.80 – 1.40 (m, 28H). MS m/z : $C_{90}H_{128}N_7O_{35}$, $[M-DMTr]^+$, 理論: 1564.65, 實測: 1564.88。

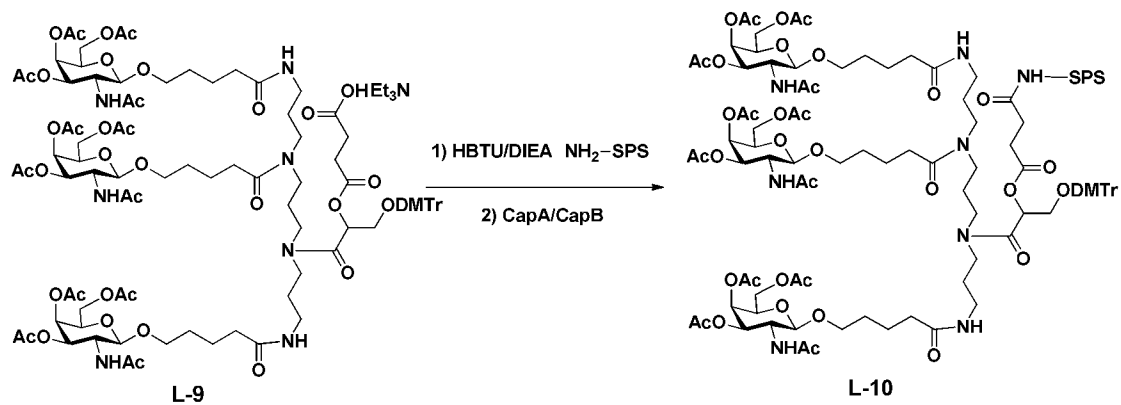
【0406】 (1-1-4)L-9的合成



【0407】 將步驟(1-1-3b)中獲得的L-7(40g，21.4247mmol)、丁二酸酐(4.288g，42.8494mmol)和4-二甲氨基吡啶(DMAP，5.235g，42.8494mmol)混合溶於215ml二氯甲烷，再加入二異丙基乙胺(DIEA，13.845g，107.1235mmol)，25°C下攪拌24h，800ml 0.5M三乙胺磷酸鹽洗滌反應液，水相以二氯甲烷萃取3次，每次5ml，合併有機相減壓蒸乾得到粗品。柱純化使用1kg 200-300目正相矽膠，

以1wt%三乙胺中和矽膠酸性，以二氯甲烷平衡管柱，以含1wt%三乙胺的二氯甲烷:甲醇=100:18-100:20梯度洗脫，收集產物洗脫液，減壓蒸乾溶劑得到純品L-9綴合分子 31.0g。¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8.58 (d, *J* = 4.2 Hz, 1H), 7.94 – 7.82 (m, 3H), 7.41 – 7.29 (m, 5H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 5H), 6.89 (d, *J* = 8.3 Hz, 4H), 5.49 – 5.37 (m, 1H), 5.21 (d, *J* = 3.0 Hz, 3H), 4.97 (d, *J* = 11.1 Hz, 3H), 4.49 (d, *J* = 8.2 Hz, 3H), 4.02 (s, 9H), 3.88 (dd, *J* = 19.4, 9.4 Hz, 3H), 3.77 – 3.65 (m, 9H), 3.50 – 3.39 (m, 6H), 3.11 – 2.90 (m, 5H), 2.61 – 2.54 (m, 4H), 2.47 – 2.41 (m, 2H), 2.26 – 2.17 (m, 2H), 2.15 – 1.95 (m, 22H), 1.92 – 1.84 (m, 9H), 1.80 – 1.70 (m, 10H), 1.65 – 1.35 (m, 17H), 1.31 – 1.19 (m, 4H), 0.96 (t, *J* = 7.1 Hz, 9H). MS *m/z* : C₉₄H₁₃₂N₇O₃₈ , [M-DMTr]⁺ , 理論：1664.72，實測：1665.03。

【0408】 (1-1-5)L-10化合物的合成



【0409】 此步驟中，通過將L-9綴合分子連接至固相載體，製備了L-10化合物。

【0410】 將步驟(1-1-4)中獲得的L-9綴合分子(22.751g，11mmol)、O-苯並三氮唑-四甲基脲六氟磷酸鹽/酯(HBTU，6.257g，16.5mmol)和二異丙基乙胺(DIEA，2.843g，22mmol)混合，溶於900ml乙腈，室溫攪拌5分鐘，向反應液中加入氨甲基樹脂(88g，100-200目，氨基載量400μmol/g，購自南開和成公司)，25℃下進行搖床反應，轉速150轉/分鐘，反應18h後過濾，濾餅以DCM洗滌2次，每次300ml，乙腈洗滌3次，每次300ml，真空油泵乾燥18h，隨後再按照表2中示出

的投料配比加入原料(CapA、CapB、4-二甲氨基吡啶(DMAP)和乙腈)進行蓋帽反應。25°C下置於搖床上，轉速150轉/分鐘，反應5h，反應液過濾，濾餅用乙腈洗滌3次，每次300ml，減壓蒸發溶劑至乾，真空油泵減壓下乾燥過夜，得到L-10化合物(即，連接固相載體的L-9綴合分子)102g，載量90.8μmol/g。

【0411】 表2：蓋帽反應投料配比

原料	用量	規格	批號	生產廠家
CapA	1980ml	——	——	——
CapB	220ml	——	——	——
DMAP	1.100g	分析純	I1422139	Aladdin
乙腈	220ml	光譜純	O15161001	上海星可

【0412】 其中，CapA和CapB為蓋帽試劑溶液，CapA為20體積% N-甲基咪唑的吡啶/乙腈混合溶液，吡啶與乙腈的體積比為3:5；CapB為20體積%乙酸酐的乙腈溶液。

【0413】 (1-2)合成綴合物L10-siFXIf1M1S的正義鏈

【0414】 通過固相亞磷醯胺法，利用上述步驟製備的L-10化合物起始循環，按照正義鏈核苷酸排列順序自3'-5'方向逐一連接核苷單體。每連接一個核苷單體都包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化四步反應。其中，兩個核苷酸之間採用磷酸酯連接時，連接後一個核苷單體時，包括脫保護、偶聯、蓋帽、氧化四步反應。兩個核苷酸之間採用硫代磷酸酯連接時，連接後一個核苷單體時，包括保護、偶聯、蓋帽、硫化四步反應。合成條件給定如下：

【0415】 核苷單體以0.1M濃度的乙腈溶液提供，每一步的脫保護反應的條件相同，即溫度為25°C，反應時間為70秒，脫保護試劑為二氯乙酸的二氯甲烷溶液(3% v/v)，二氯乙酸與固相載體上4,4'-二甲氧基三苯甲基保護基的莫耳比為5:1。

【0416】 每一步偶聯反應條件均相同，包括溫度為25°C，固相載體上連接的核酸序列與核苷單體的莫耳比為1:10，固相載體上連接的核酸序列和偶聯試劑的莫耳比為1:65，反應時間為600秒，偶聯試劑為5-乙硫基-1H-四氮唑(5-(Ethylthio)-1H-tetrazole，ETT)的0.5M乙腈溶液。

【0417】 每一步蓋帽條件均相同，包括溫度為25°C，反應時間為15秒。蓋帽試劑溶液為莫耳比為1:1的CapA和CapB的混合溶液，蓋帽試劑與固相載體上連接的核酸序列的莫耳比為乙酸酐:N-甲基咪唑:固相載體上連接的核酸序列=1:1:1。

【0418】 每一步氧化反應條件相同，包括溫度為25°C，反應時間為15秒，氧化試劑為濃度為0.05M的碘水。碘與偶聯步驟中固相載體上連接的核酸序列的莫耳比為30:1。反應在四氫呋喃:水:吡啶=3:1:1的混合溶劑中進行。

【0419】 每一步硫化反應的條件相同，包括溫度為25°C，反應時間為300秒，硫化試劑為氫化黃原素。硫化試劑與偶聯步驟中固相載體上連接的核酸序列的莫耳比為120:1。反應在乙腈:吡啶=1:1的混合溶劑中進行。

【0420】 待最後一個核苷單體連接完成後，依次對固相載體上連接的核酸序列進行切割、脫保護、純化、脫鹽，隨後凍乾獲得正義鏈，其中：

【0421】 切割和脫保護條件如下：將合成的連接有載體的核苷酸序列加入濃度為25wt%的氨水中，氨水用量為0.5ml/ μ mol，在55°C反應16h，過濾除去剩餘載體，將上清液真空濃縮至乾。

【0422】 純化與脫鹽條件如下：利用製備型離子色譜純化柱(Source 15Q)，通過NaCl的梯度洗脫，實現核酸的純化。具體而言為：洗脫劑A：20mM磷酸鈉(pH 8.1)，溶劑為水/乙腈=9:1(體積比)；洗脫劑B：1.5M氯化鈉，20mM磷酸鈉(pH 8.1)，溶劑為水/乙腈=9:1(體積比)；洗脫梯度：洗脫劑A:洗脫劑B=100:0-50:50梯度洗脫。收集產品洗脫液後合併，採用反相色譜純化柱進行脫鹽，具體條件包括採用葡聚糖凝膠柱進行脫鹽，填料為葡聚糖凝膠G25(Sephadex G25)，以去離子水洗脫。

【0423】 檢測方法如下：使用離子交換色譜(IEX-HPLC)檢測上述正義鏈的純度，使用液質聯用(LC-MS)分析分子量。理論值7584.5，實測值7584.0。實測值與理論值相符，表示所合成的是3'末端綴合了L-9綴合分子的正義鏈SS。

【0424】 (1-3)合成綴合物L10-siFXIf1M1S的反義鏈

【0425】 通過固相亞磷醯胺法，利用通用固相載體(UnyLinker™ loaded NittoPhase®HL Solid Supports，Kinovate Life Sciences公司)起始循環，合成綴合物L10-siFXIf1M1S 的反義鏈。固相合成方法中的脫保護、偶聯、蓋帽、氧化或硫化反應條件，切割和脫保護，純化與脫鹽條件與合成正義鏈相同。凍乾獲得反義鏈AS。

【0426】 採用離子交換色譜(IEX-HPLC)進行檢測反義鏈的純度，採用液質聯用(LC-MS)分析反義鏈的分子量。其結果，實測值與理論值相符，表示所合成的是具有目標序列的反義鏈AS。

【0427】 (1-4)合成綴合物L10-siFXIf1M1S

【0428】 對於綴合物L10-siFXIf1M1S，將正義鏈與反義鏈分別溶於注射用水中，得到40mg/mL的溶液，以等莫耳比混合，50°C加熱15min，室溫冷卻後，得到退火後的產品，凍乾，得到凍乾粉。使用超純水(Milli-Q超純水儀，電阻率18.2MΩ*cm(25°C))將綴合物稀釋至濃度為0.2mg/mL後，利用液質聯用儀(LC-MS，Liquid Chromatography-Mass Spectrometry，購於Waters公司，型號：LCT Premier)進行分子量檢測。實測值與理論值一致，說明所合成的siRNA綴合物是目標設計的帶有L-9綴合分子的雙鏈核酸序列。其結構如式(403)所示。前述siRNA為表3中所示的對應於綴合物L10-siFXIf1M1S的序列。

【0429】 表3：siRNA綴合物

製備例編號	綴合物	序列方向 5'-3'		SEQ ID NO
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	正義鏈	GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm	541
		反義鏈	CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm	542
製備例 2	L10-siFXIa1M1SP	正義鏈	GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmaAmGmCmAmAmUm	543
		反義鏈	PAmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm	544
製備例 3	L10-siFXIb1M1SP	正義鏈	GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm	545
		反義鏈	PAmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmU	546

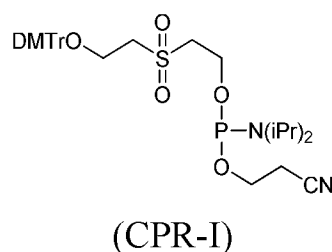
			mUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm	
製備例 4	L10-siFXIc1M1SP	正義鏈	GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm	547
		反義鏈	PUsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm	548
製備例 5	L10-siFXId1M1SP	正義鏈	GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm	549
		反義鏈	PAmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm	550
製備例 6	L10-siFXIe1M1SP	正義鏈	GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm	551
		反義鏈	PAmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm	552
製備例 7	L10-siFXIg1M1SP	正義鏈	AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm	553
		反義鏈	PUsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm	554
製備例 8	L10-siFXIh1M1SP	正義鏈	CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm	555
		反義鏈	PAmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm	556
製備例 9	L10-siFXIi1M1S	正義鏈	GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm	557
		反義鏈	UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm	558
製備例 10	L10-siFXIi1M1SP	正義鏈	GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm	559
		反義鏈	PUsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm	560

【0430】 其中，大寫字母C、G、U、A表示核苷酸的鹼基組成；小寫字母m表示該字母m左側相鄰的一個核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；小寫字母f表示該字母f左側相鄰的一個核苷酸為氟代修飾的核苷酸；小寫字母s表示該字母s左右兩個核苷酸之間為硫代磷酸酯基連接；大寫字母P表示該字母P右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸。

【0431】 製備例2-10：本發明的siRNA綴合物的合成

【0432】 按照製備例1的方法，進一步分別合成了以下本發明的siRNA綴合物： L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIb1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXId1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP、L10-siFXIh1M1SP、L10-siFXIi1M1S和L10-siFXIi1M1SP。這些綴合物包含的序列分別為表3中的siFXIa1M1SP、siFXIb1M1SP、siFXIc1M1SP、siFXId1M1SP、siFXIe1M1SP、siFXIg1M1SP、siFXIh1M1SP、siFXIi1M1S和siFXIi1M1SP。製備方法的區別僅

在於：(1)分別以表3中各綴合物所包含的siRNA正義鏈和反義鏈序列代替綴合物L10-siFXIf1M1S的正義鏈和反義鏈序列；(2)對於綴合物L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIb1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXId1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP、L10-siFXIh1M1SP和L10-siFXIi1M1SP，它們的反義鏈的5'-末端第一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸，相應地，在按照固相亞磷醯胺法製備反義鏈的過程中，連接反義鏈最後一個核苷單體後，再經脫保護、偶聯、蓋帽、氧化四步反應將CPR-I單體(蘇州吉瑪，貨號Cat#13-2601-XX)連接至反義鏈5'末端，形成5'-磷酸核苷酸。



【0433】該連接中，使用的脫保護、偶聯、蓋帽、氧化反應條件合成正義鏈相同。該連接完成後，再進行切割與脫保護、純化與脫鹽步驟，最後凍乾獲得反義鏈AS。

【0434】製備完成後，按照製備例1的方法對所製備得到的各綴合物的分子量分別進行檢測，實測值與理論值一致，說明所合成的siRNA綴合物是目標設計的帶有L-9綴合分子的雙鏈核酸序列。其結構均如式(403)所示。這些綴合物所包含的siRNA分別為表3中所示的對應於綴合物L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIb1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXId1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP、L10-siFXIh1M1SP、L10-siFXIi1M1S或L10-siFXIi1M1SP的序列。

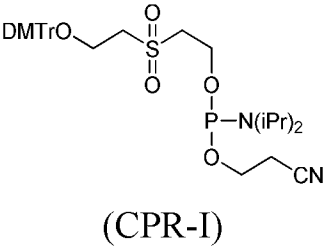
【0435】製備例11-20：本發明提供的siRNA的合成

【0436】通過固相合成方法分別合成表4中所列的siRNA序列，並進行分子量檢測。使用DEPC水，分別溶解等莫耳表4中相互互補的正義鏈和反義鏈，隨後退火得到本發明提供的以下siRNA：siFXIa1M1SP、siFXIb1M1SP、

siFXIc1M1SP、siFXId1M1SP、siFXIe1M1SP、siFXIf1M1SP、siFXIg1M1SP、siFXIh1M1SP、siFXIi1M1SP以及siFXIe1，如表4所示。

【0437】 在序列siFXIe1的製備過程中，目標序列中包含未修飾的核苷酸。此時，在切割與脫保護條件中，在氨水處理後，相對於單鏈核酸的量，用0.4ml/μmol N-甲基吡咯烷酮溶解產品，隨後加入0.3ml/μmol三乙胺和0.6ml/μmol三乙胺三氫氟酸鹽，以脫除核糖上的2'-TBDMS保護。

【0438】 並且，對於目標序列中反義鏈5'-末端第一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸的情況，在按照固相亞磷醯胺法製備反義鏈的過程中，在連接反義鏈最後一個核苷單體後，再經脫保護、偶聯、蓋帽、氧化四步反應將CPR-I單體(蘇州吉瑪，貨號Cat#13-2601-XX)連接至反義鏈5'末端，形成5'-磷酸核苷酸。



【0439】 該連接中，使用的脫保護、偶聯、蓋帽、氧化反應條件與合成正義鏈相同。該連接完成後，再進行切割與脫保護、純化與脫鹽步驟，最後凍乾獲得反義鏈AS。

【0440】 對比製備例1：參比siRNA的合成

【0441】 通過固相合成方法分別合成了表4中siRNA編號為NC的siRNA對應的正義鏈和反義鏈，並進行分子量檢測。使用DEPC水，分別溶解得到的等莫耳的正義鏈和反義鏈，隨後退火得到參比siRNA，編號為NC。

【0442】 表4：siRNA序列

製備例 編號	編號	序列方向 5'-3'		SEQ ID NO
製備例 11	siFXIa 1M1SP	正義鏈	GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCm AmAmGmCmAmAmUm	543
		反義鏈	PAmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAm GmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm	544
製備例 12	siFXIb 1M1SP	正義鏈	GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUm AmAmCmAmGmCmUm	545

		反義鏈	PAmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm	546
製備例 13	siFXIc 1M1SP	正義鏈	GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm	547
		反義鏈	PUmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm	548
製備例 14	siFXId 1M1SP	正義鏈	GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm	549
		反義鏈	PAmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm	550
製備例 15	siFXIe 1M1SP	正義鏈	GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm	551
		反義鏈	PAmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm	552
製備例 16	siFXIf1 M1SP	正義鏈	GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm	541
		反義鏈	PCmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm	542
製備例 17	siFXIg 1M1SP	正義鏈	AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm	553
		反義鏈	PUmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm	554
製備例 18	siFXIh 1M1SP	正義鏈	CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm	555
		反義鏈	PAmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm	556
製備例 19	siFXIi1 M1SP	正義鏈	GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm	559
		反義鏈	PUmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm	560
製備例 20	siFXIe 1	正義鏈	GAAUCUCAAGAAAUUU	561
		反義鏈	AAAGAUUUCUUUGAGAUUC	562
對比製備 例 1	NC	正義鏈	UmsUmsCmUmCmCmGfAfAfCmGmUmGmUmCmAmCmGmUm	563
		反義鏈	AmsCfsGmUmGmAfCmAmCmGmUmUmCmGfGmAfGmAmAmsCmsUm	564

【0443】 其中，大寫字母C、G、U、A表示核苷酸的鹼基組成；小寫字母m表示該字母m左側相鄰的一個核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；小寫字母f表示該字母f左側相鄰的一個核苷酸為氟代修飾的核苷酸；小寫字母s表示該字母s左右兩個核苷酸之間為硫代磷酸酯基連接；大寫字母P表示該字母P右側相鄰的一個核苷酸為5'-磷酸核苷酸。

【0444】 在上述本發明的siRNA或綴合物製備完成後，凍乾為固體粉末保存備用。在使用時，可使用例如注射用水、生理鹽水(NS)、磷酸緩衝液(PB)或者

磷酸鹽緩衝液(PBS)等將其重新溶解為所需濃度的溶液使用。

【0445】 實驗例1：本發明的siRNA體外(in vitro)的抑制活性

【0446】 用含有10%的胎牛血清(FBS，Hyclone公司)及0.2體積%的青黴黴素雙抗(Penicillin-Streptomycin，Gibco，Invitrogen公司)的DMEM完全培養基(Hyclone公司)於37°C在含5% CO₂/95%空氣的培養箱中培養HEK293A細胞(購自南京科佰生物科技有限公司)。

【0447】 根據Kumico Ui-Tei et.al., Functional dissection of siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced off-target effect. Nucleic Acids Research, 2008.36(7), 2136-2151描述的方法，構建檢測質粒，將待評價的siRNA(siFXIe1)轉染至HEK293A細胞中，通過雙螢光素酶報告基因的表達水平，來反應siRNA的抑制活性。具體步驟如下：

【0448】 [1] 構建檢測質粒

【0449】 採用psiCHECKTM-2(PromegaTM)質粒構建檢測質粒，該質粒含有一個目標序列，即siRNA靶序列。對於待測siRNA，目標序列如下所示：

siFXIe1(由製備例 20 製備獲得)的目標序列為：

GAATCTCAAAGAAATCTTT (SEQ ID NO: 565)

將目標序列選殖到 psiCHECKTM-2 質粒的 Xho I/Not I 位點。

【0450】 [2] 轉染

【0451】 將HEK293A細胞以 8×10^3 細胞/孔接種於96孔板中，16h後細胞生長密度達到70-80%時，吸盡培養孔中H-DMEM完全培養基，每孔加入80μl Opti-MEM培養基(GIBCO公司)繼續培養1.5h。

【0452】 用DEPC化水將上述檢測質粒稀釋成200 ng/μl的檢測質粒工作液；用siFXIe1和DEPC化水配製成濃度分別為10 nM和3 nM(以siRNA的量計)的siRNA工作液。

【0453】 配製1A1溶液，每份1A1溶液含有濃度為10 nM的siRNA工作液1μl、檢測質粒工作液0.05 μl(含檢測質粒10 ng)和10μl的Opti-MEM培養基。

【0454】 配製1A2溶液，每份1A2溶液含有濃度為3 nM的siRNA工作液1μl、檢測質粒工作液0.05 μl(含檢測質粒10 ng)和10μl的Opti-MEM培養基。

【0455】 配製1B溶液，每份1B溶液含有0.2 μl Lipofectamine™ 2000和10μl Opti-MEM培養基。

【0456】 配製1C溶液，每份1C溶液含有檢測質粒工作液0.05 μl(含檢測質粒10 ng)和10μl的Opti-MEM培養基。

【0457】 分別將一份1B溶液與一份1A1溶液或一份1A2溶液混合，室溫下培養20min，分別得到轉染複合物1X1、1X2，將一份1B溶液與一份1C溶液混合，室溫下培養20min得到轉染複合物1X3。

【0458】 在三個培養孔中，分別加入轉染複合物1X1，均勻混合，加入量為20μl/孔，得到siRNA終濃度約為0.1 nM的共轉染混合物，記為測試組1。

【0459】 在另外三個培養孔中，分別加入轉染複合物1X2，均勻混合，加入量為20μl/孔，得到siRNA終濃度約為0.03 nM的共轉染混合物，記為測試組2。

【0460】 在另外三個培養孔中，分別加入轉染複合物1X3，得到不含siRNA的轉染混合物，加入量為20μl/孔，記為對照組。

【0461】 將含siRNA的共轉染混合物和不含siRNA的轉染混合物在培養孔中共轉染4h後，每孔補加100μl 含20% FBS的H-DMEM完全培養基。將96孔板置於CO₂培養箱繼續培養24h。

【0462】 [3] 檢測

【0463】 吸去培養孔中的培養基，每孔加入150μl的Dual-Glo[®] Luciferase試劑與H-DMEM混合溶液(體積比1:1)，充分混勻，室溫培養10min後，轉移120μl混合液到96孔酶標板上，使用Synergy II多功能酶標儀(BioTek公司)讀取Firefly化學發光值(Fir)；再向每孔加入60μl Dual-Glo[®] Stop & Glo[®] 試劑，充分混勻，室溫

培養10min後，按照讀取Fir的排列方式，使用酶標儀讀取*Renilla*的化學發光值(Ren)。

【0464】 計算每孔發光比值 $\text{Ratio} = \text{Ren} / \text{Fir}$ ，各測試組或對照組的發光比值Ratio(測試)或Ratio(對照)為三個培養孔Ratio的平均值；以對照組的發光比值為基準，對各測試組的發光比值進行歸一化，獲得Ratio(測試)/Ratio(對照)的比值R，以此表示*Renilla*報告基因的表達水平，即殘留活性。siRNA的抑制率 $= (1 - R) \times 100\%$ 。

【0465】 不同濃度的siFXIe1對目標序列的抑制活性結果如表5所示。

【0466】 對比實驗例1：參比siRNA NC體外(in vitro)的抑制活性。

【0467】 按照實驗例1的方法同時考察了參比siRNA NC在psiCHECK系統中的抑制活性，區別僅在於，所測試的siRNA為參比siRNA NC。結果如表5所示。

【0468】 表5：目標序列的抑制率

製備例編號	編號	目標序列的抑制率(%)	
		0.1 nM	0.03 nM
製備例 20	siFXIe1	72.43	35.75
對比製備例 1	NC	-3.64	8.91

【0469】 結果表示，siFXIe1在各濃度下對目標序列均具有較好的體外抑制活性，且呈現出濃度依賴性的抑制活性。特別是，在0.1 nM的siRNA濃度下，目標序列抑制率為72.43%，顯示出良好的抑制FXI基因表達的效果。

【0470】 實驗例2：siRNA序列在psiCHECK系統中對FXI mRNA的IC₅₀測定

【0471】 本實驗例考察了siFXIa1M1SP、siFXIb1M1SP、siFXIc1M1SP、siFXId1M1SP、siFXIe1M1SP和siFXIi1M1SP在體外psiCHECK系統中的IC₅₀值。

【0472】 根據 Kumico Ui-Tei et.al., Functional dissection of siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced

off-target effect. Nucleic Acids Research, 2008.36(7), 2136-2151描述的方法，構建檢測質粒，將檢測質粒與待測siRNA共轉染至HepG2細胞中，通過雙螢光素酶報告基因的表達水平，來反映siRNA的在靶活性及脫靶效應。具體步驟如下：

【0473】 [1] 構建檢測質粒

【0474】 採用psiCHECK™-2(Promega™)質粒構建了檢測質粒，前述質粒中含有一個目標序列，該目標序列具有Genbank註冊號為NM_00128.3所示的序列。

【0475】 將目標序列克隆選殖到psiCHECK™-2質粒的Xho I/Not I位點。

【0476】 [2] 細胞培養及轉染

【0477】 HepG2細胞購自廣州吉妮歐生物科技有限公司，用含有20%的胎牛血清(FBS，HyClone公司)及0.2體積%的青鏈黴素雙抗(Penicillin-Streptomycin，Gibco，Invitrogen公司)的DMEM完全培養基(HyClone公司)培養細胞，於37°C在含5% CO₂/95%空氣的培養箱中培養。

【0478】 將HepG2細胞以 8×10^3 細胞/孔接種於96孔板中，16h後細胞生長密度達到70-80%時，吸盡培養孔中H-DMEM完全培養基，每孔加入80μl Opti-MEM培養基(GIBCO公司)繼續培養1.5h。

【0479】 用DEPC化水將上述檢測質粒稀釋成200 ng/μl的檢測質粒工作液；用DEPC化水將下面的siRNA中的每一個siRNA分別配製成100 nM、33.3 nM、11.1 nM、3.70 nM、1.23 nM、4.12 nM、0.137 nM、0.0457 nM、0.0152 nM和0.00508 nM共10種不同濃度的siRNA工作液，所用siRNA分別為siFXIa1M1SP、siFXIb1M1SP、siFXIc1M1SP、siFXId1M1SP、siFXIe1M1SP和siFXIi1M1SP。

【0480】 對於每一個siRNA,分別配製2A1-2A10溶液，每份2A1-2A10溶液依次含有上述10個濃度的siRNA工作液1μl、檢測質粒工作液0.05 μl(含檢測質粒10 ng)和10μl的Opti-MEM培養基。

【0481】 分別將一份1B溶液與得到的一份每個siRNA的2A1-2A10的溶液混合，分別室溫下培養20min，得到每個siRNA的轉染複合物2X1-2X10。

【0482】 在培養孔中，分別加入每一個siRNA轉染複合物2X1-2X10，均勻混合，加入量為20μl/孔，得到每個siRNA終濃度分別約為1nM、0.333nM、0.111 nM、0.0370 nM、0.0123 nM、0.00412 nM、0.00137 nM、0.000457 nM、0.000152 nM和0.0000508 nM的轉染複合物，每個siRNA的轉染複合物2X1-2X10分別轉染3個培養孔，得到含siRNA的共轉染混合物，記為測試組。

【0483】 在另外三個培養孔中，分別加入轉染複合物1X3，加入量為20μl/孔，得到不含siRNA的共轉染混合物，記為對照組。

【0484】 分別將含siRNA的共轉染混合物和不含siRNA的共轉染混合物在培養孔中轉染4h後，每孔補加100μl 含20% FBS的H-DMEM完全培養基。將96孔板置於CO₂培養箱繼續培養24h。

【0485】 [3] 檢測

【0486】 吸去培養孔中的培養基，每孔加入150μl的Dual-Glo[®] Luciferase試劑與H-DMEM混合溶液(體積比1:1)，充分混勻，室溫培養10min後，轉移120μl混合液到96孔酶標板上，使用Synergy II多功能酶標儀(BioTek公司)讀取Firefly化學發光值(Fir)；再向每孔加入60μl Dual-Glo[®] Stop & Glo[®] 試劑，充分混勻，室溫培養10min後，按照讀取Fir的排列方式，使用酶標儀讀取*Renilla*的化學發光值(Ren)。

【0487】 計算每孔發光比值 $\text{Ratio} = \text{Ren} / \text{Fir}$ ，各測試組或對照組的發光比值Ratio(測試)或Ratio(對照)為三個培養孔Ratio的平均值；以對照組的發光比值為基準，對各測試組的發光比值進行歸一化，獲得Ratio(測試)/Ratio(對照)的比值R，以此表示*Renilla*報告基因的表達水平，即殘留活性。siRNA的抑制率為 $(1-R) \times 100\%$ 。

【0488】 利用Graphpad 5.0軟體log(inhibitor) vs. response—Variable slope

功能來擬合劑量-效應曲線，根據劑量-效應曲線計算待測siRNA靶向GSCM的IC₅₀值。具體來說，擬合獲得的劑量效應曲線符合以下公式：

$$Y = Bot + \frac{Top - Bot}{1 + 10^{(X' - X) \times HillSlope}}$$

式中：

Y 是比值 R，即殘留活性，

X 為轉染 siRNA 濃度的對數值，

Bot 是穩態期底部的 Y 值，

Top 是穩態期頂部的 Y 值，

X'是擬合獲得的當 Y 在底部到頂部之間一半時的 X 值，而 HillSlope 則是擬合獲得的曲線在 X'處的斜率。

【0489】 由該劑量-效應曲線和對應的計算公式，確定當Y=50%時對應的X₅₀值，計算獲得各siRNA的IC₅₀值=10^{X₅₀}。

【0490】 具體IC₅₀值總結於表6中。

【0491】 表6：siRNA的IC₅₀

製備例編號	siRNA 編號	IC ₅₀
製備例 11	siFXIa1M1SP	0.024 nM
製備例 12	siFXIb1M1SP	0.078 nM
製備例 13	siFXIc1M1SP	0.119 nM
製備例 14	siFXId1M1SP	0.071 nM
製備例 15	siFXIe1M1SP	0.013 nM
製備例 19	siFXIi1M1SP	0.041 nM

【0492】 由上述表6的結果可知，本發明提供的siRNA在體外HepG2細胞中對目標序列1有很高的抑制活性，IC₅₀在0.013-0.119 nM之間。

【0493】 實驗例3：siRNA在HepG2細胞中對FXI mRNA的IC₅₀檢測

【0494】 將HepG2細胞以7 × 10⁴細胞/孔接種於24孔板中，16h後細胞生長密

度達到70-80%時，吸盡培養孔中H-DMEM完全培養基，每孔加入500μl Opti-MEM培養基(GIBCO公司)繼續培養1.5h。

【0495】 用DEPC化水將下面的siRNA中的每一個siRNA分別配製成20μM、6.67 μM、2.22 μM、0.741 μM、0.247μM、0.0823μM和0.0274μM的共7種不同濃度的siRNA工作液，所用siRNA分別為siFXIa1M1SP、siFXIb1M1SP、siFXIc1M1SP或siFXId1M1SP。

【0496】 配製3A1-3A7溶液，對於每一個siRNA,分別配製3A1-3A7溶液，每份3A1-3A7溶液依次含有上述7個濃度的siRNA工作液3μl和Opti-MEM培養基50μl。

【0497】 配製3B溶液，每份3B溶液含有1 μl Lipofectamine™ 2000和50μl Opti-MEM培養基。

【0498】 分別將一份3B溶液與得到的一份每個siRNA的3A1-3A7的溶液混合，分別在室溫下培養20min，得到每個siRNA的轉染複合物3X1-3X7。

【0499】 將一份3B溶液與Opti-MEM培養基50μl混合，室溫下培養20min，得到轉染複合物3X8。

【0500】 在培養孔中，分別加入每一個siRNA轉染複合物3X1-3X7，均勻混合，加入量為100μl/孔，得到每個siRNA終濃度分別約為100 nM、33.3 nM、11.1 nM、3.70 nM、1.23 nM、0.412 nM、0.137 nM的轉染化混合物，每個siRNA的轉染複合物3X1-3X7分別轉染3個培養孔，得到含siRNA的轉染混合物，記為測試組。

【0501】 在另外三個培養孔中，分別加入轉染複合物3X8，加入量為100μl/孔，得到不含siRNA的轉染混合物，記為對照組。

【0502】 將含siRNA的轉染混合物和不含siRNA的轉染混合物在培養孔中培養4h後，每孔補加1ml 含20% FBS的H-DMEM完全培養基。將24孔板置於CO₂培養箱繼續培養24h。

【0503】 隨後，使用RNAVzol(購自威格拉斯生物技術(北京)有限公司，貨號N002)根據說明書描述的詳細步驟提取各孔細胞中的總RNA。

【0504】 對於每孔細胞，分別取1μg總RNA，使用反轉錄試劑盒Goldenstar™ RT6 cDNA Synthesis Kit(購自北京擎科新業生物技術有限公司，貨號TSK301M)提供的試劑，其中選取Goldenstar™ Oligo (dT)₁₇作為引子（primer），按試劑盒說明書中反轉錄操作步驟配置反轉錄反應體系20μl，對細胞的總RNA進行反轉錄。反轉錄的條件為：將反轉錄反應體系置於50℃培養50min，然後85℃培養5min，最後4℃培養30s，反應結束後，向反轉錄反應體系中加入DEPC水80μl，得到含cDNA的溶液。

【0505】 對於每一反轉錄反應體系，分別取上述含cDNA的溶液5μl做範本，使用NovoStart® SYBR qPCR SuperMix Plus試劑盒(購自近岸蛋白質科技有限公司，貨號E096-01B)提供的試劑配置qPCR反應體系20μl，其中，用於擴增目標基因FXI和內參基因GAPDH的PCR引子序列如表7所示，每條引子的終濃度為0.25μM。將各qPCR反應體系置於ABI StepOnePlus Real-Time PCR儀上，使用三步法進行擴增，擴增程式為95℃預變性10min，然後95℃變性30s，60℃退火30s，72℃延伸30s，重複上述變性、退火、延伸的過程共40次後，得到含有擴增了目標基因FXI和內參基因GAPDH的產物W。產物W隨即依次經過95℃ 15s，60℃ 1min，95℃ 15s的培養，即時螢光定量PCR儀分別收集產物W中目標基因FXI和內參基因GAPDH的溶解曲線，得到目標基因FXI和內參基因GAPDH的Ct值。

【0506】 表7：檢測引子的序列

基因	上游引子(5'-3'方向)	下游引子(5'-3'方向)
人 FXI	TCACGGCGGAATCACCATC (SEQ ID NO: 566)	TGTCCTATTCACTCTTGGCAGT (SEQ ID NO: 567)
人 GAPDH	GGTCGGAGTCAACGGATTT (SEQ ID NO: 568)	CCAGCATCGCCCCACTTGA (SEQ ID NO: 569)

【0507】 採用比較Ct(ΔΔCt)法，對各測試組和對照組中目標基因FXI的表達量進行相對定量計算，計算方法如下：

$$\Delta Ct(\text{測試組}) = Ct(\text{測試組目標基因}) - Ct(\text{測試組內參基因})$$

$\Delta Ct(\text{對照組}) = Ct(\text{對照組目標基因}) - Ct(\text{對照組內參基因})$

$\Delta\Delta Ct(\text{測試組}) = \Delta Ct(\text{測試組}) - \Delta Ct(\text{對照組平均})$

$\Delta\Delta Ct(\text{對照組}) = \Delta Ct(\text{對照組}) - \Delta Ct(\text{對照組平均})$

其中， $\Delta Ct(\text{對照組平均})$ 是對照組三個培養孔各自的 $\Delta Ct(\text{對照組})$ 的算術平均值。從而，測試組和對照組的每一培養孔均對應一個 $\Delta\Delta Ct$ 值。

【0508】 以對照組為基準，對測試組FXI mRNA的表達水平進行歸一化，定義對照組FXI mRNA表達水平為100%，

測試組 FXI mRNA 相對表達水平 = $2^{-\Delta\Delta Ct(\text{測試組})} \times 100\%$ 。

【0509】 對於同一測試組siRNA，每一濃度下的測試組FXI mRNA相對表達水平平均值為該濃度三個培養孔的相對表達水平的算術平均值。

【0510】 利用Graphpad 5.0軟體的非線性回歸分析功能擬合log(inhibitor) vs. response—Variable slope劑量-效應曲線，根據劑量-效應曲線計算各siRNA對FXI mRNA的 IC_{50} 值。具體來說，擬合獲得的劑量-效應曲線符合以下計算公式：

$$Y = Bot + \frac{Top - Bot}{1 + 10^{(X' - X) \times HillSlope}}$$

式中：

Y 是各測試組 FXI mRNA 相對表達水平，

X 為對應測試組所使用的 siRNA 終濃度的對數值，

Bot 是穩態期底部的 Y 值，

Top 是穩態期頂部的 Y 值，

X'是擬合獲得的當 Y 在底部到頂部之間一半時的 X 值，而 HillSlope 則是擬合獲得的曲線在 X'處的斜率。

【0511】 由該劑量-效應曲線和對應的計算公式，確定當Y=50%時對應的 X_{50} 值，計算獲得各siRNA的 IC_{50} 值= $10^{X_{50}}$ (nM)。

【0512】 各siRNA對FXI mRNA的 IC_{50} 值總結於表8中。

【0513】 表8：siRNA對FXI mRNA的 IC_{50}

第 141 頁，共 151 頁(發明說明書)

109P000905TW

製備例編號	編號	IC ₅₀
製備例 2	siFXIa1M1SP	6.18 nM
製備例 3	siFXIb1M1SP	7.54 nM
製備例 4	siFXIc1M1SP	11.1 nM
製備例 5	siFXId1M1SP	1.49 nM

【0514】 由表8可見，本發明提供的siRNA在體外HepG2細胞系中具有很高的抑制FXI mRNA的活性，IC₅₀在1.49-11.1 nM之間。

【0515】 實驗例4：siRNA在小鼠肝原代細胞中對FXI mRNA的IC₅₀檢測

【0516】 小鼠肝原代細胞由正常C57BL/6N小鼠新鮮肝組織提取獲得，在I型膠原蛋白包被的玻璃或塑膠蓋玻片或組織培養皿中接種適當密度的細胞，用含有1×雙抗和10%FBS的RPMI 1460培養基培養細胞，於37℃在含5% CO₂/95%空氣的培養箱中培養細胞30min。

【0517】 按照實驗例3的方法，測定siRNA對FXI mRNA的抑制活性和IC₅₀值，區別僅在於，所檢查的siRNA為siFXIf1M1SP；所使用的細胞為小鼠肝原代細胞；siRNA終濃度分別為100 nM、25 nM、6.25 nM、1.56 nM、0.391 nM、0.098 nM、0.0244 nM和6.1×10⁻³nM，共8個濃度。結果如表9所示。

【0518】 表9：siRNA對FXI mRNA的IC₅₀

製備例編號	編號	IC ₅₀
製備例 7	siFXIf1M1SP	0.021 nM

【0519】 由表9可見，siFXIf1M1SP在體外小鼠肝原代細胞中具有很高的抑制FXI mRNA的活性，IC₅₀為0.021nM。

【0520】 實驗例5：siRNA在HepG2細胞中對FXI mRNA表達量的抑制效率檢測。

【0521】 按照實驗例3的方法，測定了siRNA對FXI mRNA的表達量抑制率，區別僅在於，所用siRNA分別為siFXIgl1M1SP和siFXIh1M1SP；對於每一siRNA，siRNA終濃度分別為50 nM、5 nM和0.5 nM，共3個濃度，每個濃度2個培養孔，結果如表10所示。

【0522】 表10：不同濃度siRNA的FXI mRNA抑制率

製備例編號	編號	FXI mRNA 表達量抑制率(%)		
		50 nM	5 nM	0.5 nM
製備例 8	siFXI _g 1M1SP	78.0	67.0	66.4
製備例 9	siFXI _h 1M1SP	83.0	75.0	64.6

【0523】 由表10可見，本發明提供的siRNA在體外HepG2細胞中具有很高的抑制活性，在siRNA濃度為50nM時可達到83%的FXI mRNA抑制率。

【0524】 實 驗 例 6 ： 綴 合 物 L10-siFXI_f1M1S 、 L10-siFXI_l1M1S 和 L10-siFXI_l1M1SP在小鼠體內對FXI mRNA表達的抑制

【0525】 將C57BL/6N小鼠隨機分組(均為雌性)，每組5隻小鼠，分別進行編號。以皮下注射的方式，對每組小鼠分別以5 mg/kg以及1 mg/kg(均以siRNA計)的不同劑量給予待測綴合物 L10-siFXI_f1M1S 、 L10-siFXI_l1M1S 或 L10-siFXI_l1M1SP。siRNA綴合物分別以1 mg/ml以及0.2 mg/ml的siRNA綴合物的0.9%氯化鈉水溶液形式提供，給藥體積均為5ml/kg。

【0526】 對其中一組小鼠給與1×PBS，給藥體積均為5ml/kg，作為對照組。

【0527】 給藥後第7天處死動物，分別收集每隻小鼠的肝臟組織，用RNA later(Sigma Aldrich公司)保存；用組織勻漿儀勻漿肝組織，再用Trizol(Thermo Fisher公司)根據說明書描述的操作步驟提取得到總RNA。

【0528】 按照實驗例3的方法進行螢光定量PCR檢測和計算FXI mRNA的表達水平及抑制率，區別僅在於：使用ImProm-II™反轉錄試劑盒(Promega公司)按其說明書將提取的總RNA逆轉錄為cDNA，得到含cDNA的溶液，接著用螢光定量PCR試劑盒(北京康為世紀生物科技有限公司)檢測肝組織中的FXI mRNA的表達水平。在該螢光定量PCR法中，以鼠GAPDH(mGAPDH)基因作為內參基因，使用針對FXI的引子和針對鼠GAPDH的引子分別對FXI和鼠GAPDH進行檢測。檢測引子的序列參見表11所示。在FXI mRNA表達水平及抑制率的計算中，對照組為本實驗中施以PBS的對照組小鼠，各測試組為分別施以不同siRNA綴合物的給藥組小鼠。對照組的FXI mRNA表達水平記為100%，相應地，FXI mRNA表達水平抑制率記為0%，測試結果以對照組的FXI mRNA表達水平進行標準化，結

果示於表12中。

【0529】 表11：檢測引子的序列

基因名稱	引子類型	核苷酸序列(5'→3')	SEQ ID NO.
鼠 FXI	上游引子	GCCCTGT TAAACTGGAATCAGC	574
	下游引子	CGTTTCTATCTCCTTTGGAAGGC	575
鼠 GAPDH	上游引子	TGCACCACCAACTGCTTAG	576
	下游引子	GGATGCAGGGATGATGTTC	577

【0530】 表12：不同濃度siRNA綴合物的FXI mRNA抑制率

製備例編號	綴合物	FXI mRNA 抑制率(%)	
		1 mg/kg	5 mg/kg
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	78.4	95.0
製備例 9	L10-siFXIi1M1S	67.1	90.2
製備例 10	L10-siFXIi1M1SP	56.8	92.1

【0531】 由表12的結果可見，本發明的siRNA綴合物在1 mg/kg的siRNA給藥劑量下就顯示出56.8-78.4%的FXI mRNA抑制率；在5 mg/kg的siRNA濃度下，FXI mRNA抑制率更是高達95.0%，顯示出優異的FXI mRNA的抑制效果。

【0532】 實驗例7：

【0533】 綴合物L10-siFXIf1M1S和L10-siFXIi1M1SP在小鼠體內給藥後不同時間點對FXI mRNA表達的抑制以及活化部分凝血活(APTT)的延長的測定

【0534】 將C57BL/6N小鼠隨機分為7組(均為雄性)，每組5隻小鼠，分別進行編號。對其中的各三組小鼠分別給與綴合物 L10-siFXIf1M1S 和 L10-siFXIi1M1SP。對其中的一組小鼠給與生理鹽水(Saline)，作為對照組。給藥方式採用皮下給藥的方式，綴合物以1.8 mg/ml(以siRNA計)的siRNA綴合物的0.9%氯化鈉水溶液形式提供，生理鹽水為0.9%氯化鈉水溶液，給藥體積均為5ml/k，綴合物給藥量為9 mg/kg。分別在給藥後第8天、第15天或第29天收集血漿，給藥組在給藥後第29天處死動物，對照組在給藥第8天處死動物。分別收集每隻小鼠的肝臟，用RNA later(Sigma Aldrich公司)保存，用組織勻漿儀勻漿肝組織，再用Trizol(Thermo Fisher公司)根據說明書描述的操作步驟提取得到總RNA。

【0535】 按照實驗例3的方法對每隻小鼠的FXI mRNA的表達量進行螢光

定量PCR檢測和計算FXI mRNA的表達水平及抑制率，區別僅在於：使用ImProm-II™反轉錄試劑盒(Promega公司)按其說明書將提取的總RNA逆轉錄為cDNA，得到含cDNA的溶液，接著用螢光定量PCR試劑盒(北京康為世紀生物科技股份有限公司)檢測肝組織中的FXI mRNA的表達水平。在該螢光定量PCR法中，以鼠GAPDH(mGAPDH)基因作為內參基因，使用針對FXI的引子和針對鼠GAPDH的引子分別對FXI和鼠GAPDH進行檢測。檢測引子的序列參見表11所示。

【0536】在FXI mRNA表達量及抑制率的計算中，對照組為本實驗中施以生理鹽水的對照組小鼠，各測試組為分別施以不同siRNA綴合物並在不同給藥時間後取樣的給藥組小鼠。對照組的FXI mRNA表達水平記為100%，相應地，FXI mRNA表達水平抑制率記為0%，測試結果以對照組的FXI mRNA表達水平進行標準化，結果示於表13中。表13中，FXI mRNA表達水平抑制率為給與相對應的siRNA綴合物相對應天數後的，該組內5隻小鼠FXI mRNA表達量抑制率的算術平均值。

【0537】表13：單次給藥後不同時間點siRNA綴合物的FXI mRNA抑制率

製備例編號	綴合物	FXI mRNA 表達水平抑制率(%)		
		第 8 天	第 15 天	第 29 天
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	91.33	92.89	90.56
製備例 10	L10-siFXIi1M1SP	89.18	92.39	90.54

【0538】由表13的結果可見，在小鼠皮下單次給藥後，本發明的siRNA綴合物在長時間內的不同時間點均顯示出優異的肝內FXI mRNA抑制率，抑制率至少為89.18%，甚至高達92.89%。

【0539】進一步地，對於上述收集的血漿，使用APTT試劑盒(Rayto公司，批號20190402M)，在半自動凝血儀(Rayto公司，型號RT-2202)上以比濁法測定每隻小鼠的血漿APTT值，具體測定方法依照APTT試劑盒的說明書描述的方法進行。測定的APTT與對照組進行對比，每隻小鼠APTT相對延長時間=(測試組APTT檢測值-對照組APTT檢測平均值)/(對照組APTT檢測平均值)×100%。測定結果

參見表14所示。表14中，APTT相對延長時間為給與相對應的siRNA綴合物相對應天數後的，該組內5隻小鼠APTT相對延長時間的平均值。

【0540】 表14：單次給藥後不同時間點siRNA綴合物的APTT相對延長時間

製備例編號	綴合物	APTT 相對延長時間(%)		
		第 8 天	第 15 天	第 29 天
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	64.9	62.1	18.2
製備例 10	L10-siFXIi1M1SP	42.5	42.5	51.2

【0541】 由表14的結果可見，在給予本發明的siRNA綴合物後，小鼠在較長時間內均顯示出顯著延長的APTT檢測值，最高可延長64.9%。可見，本發明的siRNA綴合物能夠有效延長小鼠凝血時間，表示其具有優異的治療和/或預防血栓性疾病和缺血性卒中的應用前景。

【0542】 實驗例8：本發明提供的siRNA綴合物在人源化小鼠體內(*in vivo*)活性的測定

【0543】 本試驗例中使用的人源化小鼠購自賽業生物科技有限公司，將人源化小鼠隨機分組，每組4隻(2雄2雌)，分別向每組小鼠給予綴合物L10-siFXIf1M1S、L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIb1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXId1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP、L10-siFXIh1M1SP和L10-siFXIi1M1S和生理鹽水(saline)對照。所有動物根據體重計算藥量，採用皮下注射方式單次給藥，各綴合物以0.3 mg/ml(以siRNA計)的0.9%氯化鈉水溶液形式給予，給藥體積為10 ml/kg小鼠體重，即，每一綴合物的給藥劑量為3 mg/kg(以siRNA計)。給藥後第8天，處死小鼠，收集血漿，以抗凝劑與血漿的體積比1:9(v/v)的比例加入3.2wt% (0.109 mol/L)二水合檸檬酸鈉水溶液防止凝血，離心分離血漿。

【0544】 取肝臟左大葉約100mg/鼠，用RNA later(Sigma Aldrich公司)保存；隨後對於每隻小鼠的肝臟組織，分別用組織勻漿儀勻漿肝組織，再用Trizol(Thermo Fisher公司)根據說明書描述的操作步驟提取得到每隻小鼠的肝組織總RNA。

【0545】 按照實驗例6的方法，通過即時螢光定量PCR法對給予不同的本發明的siRNA綴合物的小鼠以及對照組小鼠肝組織中FXI mRNA的表達水平進行檢測，區別僅在於，用於擴增人FXI和作為內參基因的鼠GAPDH的引子序列如表15所示。

【0546】 表15：檢測引子的序列

基因名稱	引子類型	核苷酸序列(5'→3')	SEQ ID NO.
人 FXI	上游引子	TCACGGCGGAATCACCATC	570
	下游引子	TGTCCTATTCACTCTTGGCAGT	571
鼠 GAPDH	上游引子	AACTTTGGCATTGTGGAAGGGCTC	572
	下游引子	TGGAAGAGTGGGAGTTGCTGTTGA	573

【0547】 按照實驗例3的方法測定的FXI mRNA表達水平並計算FXI mRNA抑制率，對照組的FXI mRNA表達水平記為100%，相應地，FXI mRNA表達水平抑制率記為0%，測試結果以對照組的FXI mRNA表達水平進行標準化，結果示於表16中。表16中，人FXI mRNA抑制率為給與相對應的siRNA綴合物的一組小鼠人FXI mRNA抑制率的平均值及其標準差。

【0548】 表16：本發明的siRNA綴合物在人源化小鼠體內對人FXI mRNA的抑制率

製備例編號	綴合物編號	人 FXI mRNA 抑制率%
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	76.03 ± 6.74
製備例 2	L10-siFXIa1M1SP	89.23 ± 3.25
製備例 3	L10-siFXIb1M1SP	81.75 ± 3.91
製備例 4	L10-siFXIc1M1SP	81.25 ± 3.61
製備例 5	L10-siFXId1M1SP	71.06 ± 9.62
製備例 6	L10-siFXIe1M1SP	85.26 ± 4.15
製備例 7	L10-siFXIg1M1SP	93.09 ± 1.96
製備例 8	L10-siFXIh1M1SP	76.78 ± 5.54
製備例 9	L10-siFXIi1M1S	74.25 ± 6.07

【0549】 由表16的結果可見，本發明的siRNA在人源化雜合子小鼠肝中對人FXI mRNA均顯示出較好的抑制效果，對FXI mRNA的抑制率高達約71-93%左右。

【0550】 進一步地，使用Human Coagulation Factor X ELISA試劑盒(Sigma公司，批號0926F2350，貨號RAB1385-1KT)測試自上述各組小鼠(分別給予綴合

物L10-siFXIf1M1S、L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIb1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXId1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP、L10-siFXIh1M1SP或L10-siFXIi1M1S的測試組和鹽水(saline)對照組)獲取的血漿中的FXI 蛋白含量。

【0551】 用去離子水將ELISA試劑盒中的樣品稀釋液(試劑盒中標注為ItemE2，)進行5倍稀釋，得到稀釋後的樣品稀釋液。

【0552】 對於給予綴合物L10-siFXIa1M1SP或L10-siFXIg1M1SP的小鼠血漿，向12 μ L血漿中加入108 μ L稀釋後的樣品稀釋液，獲得待測樣品液，留存備用。

【0553】 對於給予其它綴合物或鹽水的小鼠血漿，分別向12 μ L血漿中加入108 μ L稀釋後的樣品稀釋液，獲得10倍稀釋血漿。向5 μ L該10倍稀釋血漿中加入45 μ L稀釋後的樣品稀釋液，獲得100倍稀釋血漿；再向12 μ L該100倍稀釋血漿中加入108 μ L稀釋後的樣品稀釋液，獲得稀釋1000倍的樣品稀釋液，作為待測樣品液留存備用。

【0554】 以100 μ L稀釋後的樣品稀釋液將試劑盒中的FXI檢測抗體(試劑盒中標注為ItemF)溶解為抗體樣品，隨後取75 μ L該抗體樣品加入5925 μ L稀釋後的樣品稀釋液進行80倍稀釋，獲得檢測抗體溶液。

【0555】 以稀釋後的樣品稀釋液將試劑盒中的鏈黴素濃縮液(試劑盒中標注為ItemG)稀釋250倍，獲得鏈黴素稀釋液。

【0556】 以去離子水將試劑盒中的洗滌緩衝液(試劑盒中標注為ItemB)稀釋20倍，獲得稀釋洗滌液。

【0557】 提供8種標準濃度梯度溶液，其中一種是稀釋後的樣品稀釋液(可視為0 pg/mL濃度的標準品溶液)，另外7種是將試劑盒中的標準品(試劑盒中標注為ItemC)用前述得到的稀釋後的樣品稀釋液依次稀釋，得到的濃度為2500 pg/mL、1000 pg/mL、400 pg/mL、160 pg/mL、64 pg/mL、25.6 pg/mL和10.24 pg/mL，

共7個濃度值的標準品溶液。

【0558】 ELISA檢測

【0559】 使用Human Coagulation Factor X ELISA試劑盒(SIGMA公司，貨號RAB1385-1KT)，根據使用說明書設置標準品孔和樣本孔，在每孔中分別加入不同濃度的標準濃度梯度溶液或者各待測樣品液，每孔加入溶液各100 μ L，室溫培養2.5 小時。棄去液體，每孔加入300 μ L稀釋洗滌液洗滌1min後棄去洗滌液。在每孔中加入100 μ L檢測抗體溶液，室溫下培養1小時。棄去液體，每孔加入300 μ L稀釋洗滌液洗滌1min後棄去洗滌液，再重複按此步驟洗滌3次(共洗滌4次)。在每孔中加入100 μ L鏈黴素稀釋液，室溫培養45分鐘。棄去液體，每孔加入300 μ L稀釋洗滌液洗滌1min後棄去洗滌液，再重複按此步驟洗滌3次(共洗滌4次)。在每孔中加入100 μ L TMB(試劑盒中標注為ItemH)，培養30分鐘。在每孔中加入終止液(試劑盒中提供)50 μ L終止反應，立即用全自動酶標儀(BioTek公司，Biotck SYNERGY MX)在450nm波長處讀取波長。每一特定濃度的測試組以鹽水處理為對照。

【0560】 根據對標準濃度梯度溶液所測得的活性結果，GraphPad Prism 6軟體log(inhibitor) vs. response—Variable slope功能來擬合劑量-效應標準曲線，根據劑量-效應曲線計算待測血漿中蛋白濃度值，擬合獲得的劑量-效應曲線符合以下計算公式：

$$Y = \text{Bot} + \frac{\text{Top} - \text{Bot}}{1 + 10^{(X' - X) \times \text{HillSlope}}}$$

式中：

Y 是在 450nm 處讀取的相應光密度值，

X 為標準曲線中濃度的對數值(μ g/mL)，

Bot 是穩態期底部的 Y 值，

Top 是穩態期頂部的 Y 值，

X'是擬合獲得的當 Y 在底部到頂部之間一半時的 X 值，而 HillSlope 則是

第 149 頁，共 151 頁(發明說明書)

X'處曲線的斜率，

由獲得的標準曲線，代入各血漿樣品測定的光密度值，獲得各樣品對應的濃度對數值 X，計算獲得各給予不同 siRNA 綴合物的樣品的血漿 FXI 蛋白濃度值=10^X(μg/mL)。

【0561】 根據血漿FXI蛋白濃度值，相對於對照組的蛋白濃度，計算FXI蛋白抑制率=(對照組蛋白濃度-測試組蛋白濃度)/對照組蛋白濃度 × 100%。所得的濃度結果和抑制率資料示於表17中。表17中，FXI蛋白濃度和FXI蛋白抑制率分別為給與相對應的siRNA綴合物的一組小鼠FXI蛋白濃度和FXI蛋白抑制率的算術平均值。

【0562】 表17：本發明的siRNA綴合物對血漿中蛋白濃度表達效果的抑制

製備例編號	綴合物編號	FXI 蛋白濃度 (μg/mL)	FXI 蛋白相對抑制率 %
對照組	(鹽水)	0.2597	0
製備例 1	L10-siFXIf1M1S	0.0469	81.93
製備例 2	L10-siFXIa1M1SP	0.0026	99.02
製備例 3	L10-siFXIb1M1SP	0.0258	90.08
製備例 4	L10-siFXIc1M1SP	0.0205	92.09
製備例 5	L10-siFXId1M1SP	0.0417	83.94
製備例 6	L10-siFXIe1M1SP	0.0166	93.61
製備例 7	L10-siFXIg1M1SP	0.0017	99.34
製備例 8	L10-siFXIh1M1SP	0.0447	82.80
製備例 9	L10-siFXIi1M1S	0.0533	79.47

【0563】 由表16的結果可見，本發明的siRNA綴合物在人源化雜合子小鼠血漿中均顯示出非常優異的抑制人FXI蛋白的表達的效果，特別是綴合物L10-siFXIa1M1SP和L10-siFXIg1M1SP均顯示出99%左右的高FXI蛋白抑制率。

【0564】 以上詳細描述了本發明的一些實施方案，但是，本發明並不限於上述實施方案中的具體細節，在本發明的技術構思範圍內，可以對本發明的技術方案進行多種簡單變型，這些簡單變型均屬於本發明的保護範圍。

【0565】 另外需要說明的是，在上述一些實施方案中所描述的各個具體技術特徵，在不矛盾的情況下，可以通過任何合適的方式進行組合，為了避免不必要的重複，本發明對各種可能的組合方式不再另行說明。

【0566】 此外，本發明的各種不同的實施方案之間也可以進行任意組合，只要其不違背本發明的思想，其同樣應當視為本發明所公開的內容。

【0567】 以引用的方式併入

【0568】 本說明書中提及的所有出版物、專利以及專利申請均以引用的方式併入本文，其程度與每一單獨的出版物、專利或專利申請均專門並且單獨地以引用的方式併入本文的程度相同。

【符號說明】

無。

【序列表】

<110> 大陸商蘇州瑞博生物技術股份有限公司
(SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD.)

<120> siRNA 綴合物及其用途

<130> 109P000905TW

<140> 109116935

<141> 2020-05-21

<150> CN 2019104305887

<151> 2019-05-22

<160> 577

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (19)..(19)

<223> n 為 Z1，Z1 為 U

<400> 1

ggguauucuu ucaagcaan

19

<210> 2

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (1)..(1)
<223> n 為 Z2，Z2 為 A

<400> 2
nuugcuugaa agaauaccc 19

<210> 3
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (19)..(19)
<223> n 為 Z3，Z3 為 A、U、G 或 C

<400> 3
ggguauucuu ucaagcaan 19

<210> 4
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (1)..(1)
<223> n 為 Z4，Z4 是與 Z3 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C

<400> 4
nuugcuugaa agaauaccc 19

<210> 5
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (19)..(19)
<223> n 為 Z3，Z3 為 A、U、G 或 C

<400> 5
ggguauucuu ucaagcaan

19

<210> 6
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (1)..(1)
<223> n 為 Z4，Z4 是與 Z3 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C

<400> 6
nuugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 7
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (21)..(21)
<223> n 為 Z3，Z3 為 A、U、G 或 C

<400> 7
cuggguauuc uuucaagcaa n

21

<210> 8
<211> 23
<212> RNA

<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z4，Z4 是與 Z3 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C	
<400>	8	
	nuugcuugaa agaauaccca gaa	23
<210>	9	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	9	
	ggguauucuu ucaagcaau	19
<210>	10	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	10	
	auugcuugaa agaauaccca g	21
<210>	11	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	11	
	cuggguauuc uuucaagcaa u	21
<210>	12	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	

<400> 12	
auugcuugaa agaauaccca gaa	23
<210> 13	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 13	
ggguauucuu ucaagcaau	19
<210> 14	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 14	
auugcuugaa agaauaccca g	21
<210> 15	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 15	
ggguauucuu ucaagcaau	19
<210> 16	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 16	
auugcuugaa agaauaccca g	21
<210> 17	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	17	
ggguauucuu	ucaagcaau	19
<210>	18	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	18	
auugcuugaa	agaauaccca g	21
<210>	19	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	19	
cuggguauuc	uuucaagcaa u	21
<210>	20	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	20	
auugcuugaa	agaauaccca gaa	23
<210>	21	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	21	
cuggguauuc	uuucaagcaa u	21

<210>	22	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	22	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	23	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	23	
cuggguauuc uuucaagcaau		21
<210>	24	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	24	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	25	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	25	
ggguauucuu ucaagcaau		19
<210>	26	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	26	

auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 27

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 27

ggguauucuu ucaagcaau

19

<210> 28

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 28

auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 29

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 29

ggguauucuu ucaagcaau

19

<210> 30

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 30

auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 31

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400>	31	
cuggguauuc uuucaagcaa u		21
<210>	32	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	32	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	33	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	33	
cuggguauuc uuucaagcaa u		21
<210>	34	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	34	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	35	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	35	
cuggguauuc uuucaagcaa u		21
<210>	36	
<211>	23	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	36	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	37	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	37	
ggguauucuu ucaagcaau		19
<210>	38	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	38	
auugcuugaa agaauaccca g		21
<210>	39	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	39	
ggguauucuu ucaagcaau		19
<210>	40	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	40	
auugcuugaa agaauaccca g		21

<210>	41	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	41	
ggguauucuu ucaagcaau		19
<210>	42	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	42	
auugcuugaa agaauaccca g		21
<210>	43	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	43	
cuggguauuc uuucaagcaa u		21
<210>	44	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	44	
auugcuugaa agaauaccca gaa		23
<210>	45	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	45	

cuggguauuc uuucaagcaa u

21

<210> 46

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 46

auugcuugaa agaauaccca gaa

23

<210> 47

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 47

cuggguauuc uuucaagcaa u

21

<210> 48

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 48

auugcuugaa agaauaccca gaa

23

<210> 49

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 49

ggguauucuu ucaagcaau

19

<210> 50

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 50
auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 51
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 51
ggguauucuu ucaagcaau

19

<210> 52
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 52
auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 53
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 53
ggguauucuu ucaagcaau

19

<210> 54
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 54
auugcuugaa agaauaccca g

21

<210> 55
<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	55	
cuggguauuc	uuucaagcaa u	21
<210>	56	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	56	
auugcuugaa	agaauaccca gaa	23
<210>	57	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	57	
cuggguauuc	uuucaagcaa u	21
<210>	58	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	58	
auugcuugaa	agaauaccca gaa	23
<210>	59	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	59	
cuggguauuc	uuucaagcaa u	21

<210> 60
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 60
auugcuugaa agaauaccca gaa 23

<210> 61
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (19)..(19)
<223> n 為 Z5，Z5 為 U

<400> 61
ggcauaaacu auaacagcn 19

<210> 62
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (1)..(1)
<223> n 為 Z6，Z6 為 A

<400> 62
ngcuguuaua guuuaugcc 19

<210> 63
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z7，Z7 為 A、U、G 或 C	
<400>	63	
	ggcauaaacu auaacagcn	19
<210>	64	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z8，Z8 是與 Z7 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C	
<400>	64	
	ngcuguuaua guuuaugcc	19
<210>	65	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z7，Z7 為 A、U、G 或 C	
<400>	65	
	ggcauaaacu auaacagcn	19
<210>	66	
<211>	21	
<212>	RNA	

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z8，Z8 是與 Z7 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C

<400> 66

ngcuguuaua guuuaugccc u 21

<210> 67

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (21)..(21)

<223> n 為 Z7，Z7 為 A、U、G 或 C

<400> 67

agggcuaaaa cuauaacagc n 21

<210> 68

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z8，Z8 是與 Z7 互補的核苷酸，Z3 選自 A、U、G 或 C

<400> 68

ngcuguuaua guuuaugccc uuc 23

<210> 69

<211> 19

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	69	
ggcauaaaacu	auaacagcu	19
<210>	70	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	70	
agcuguuaua	guuuaugccc u	21
<210>	71	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	71	
agggcauaaaa	cuauaacagc u	21
<210>	72	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	72	
agcuguuaua	guuuaugccc uuc	23
<210>	73	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	73	
ggcauaaaacu	auaacagcu	19

<210>	74	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	74	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	75	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	75	
ggcauaaacu auaacagcu		19
<210>	76	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	76	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	77	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	77	
ggcauaaacu auaacagcu		19
<210>	78	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	78	

agcuguuaua guuuaugccc u

21

<210> 79

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 79

agggcauaaa cuauaacagc u

21

<210> 80

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 80

agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 81

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 81

agggcauaaa cuauaacagc u

21

<210> 82

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 82

agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 83

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 83
agggcauaaa cuauaacagc u

21

<210> 84
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 84
agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 85
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 85
ggcauaaacu auaacagcu

19

<210> 86
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 86
agcuguuaua guuuaugccc u

21

<210> 87
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 87
ggcauaaacu auaacagcu

19

<210> 88
<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	88	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	89	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	89	
ggcauaaacu auaacagcu		19
<210>	90	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	90	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	91	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	91	
agggcauaaa cuauaacagc u		21
<210>	92	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	92	
agcuguuaua guuuaugccc uuc		23

<210>	93	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	93	
ggcauaaaacu auaacagcu		19
<210>	94	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	94	
agcuguuaua guuuaugccc uuc		23
<210>	95	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	95	
agggcauaaa cuauaacagc u		21
<210>	96	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	96	
agcuguuaua guuuaugccc uuc		23
<210>	97	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	97	

ggcauaaaacu auaacagcu

19

<210> 98

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 98

agcuguuaua guuuaugccc u

21

<210> 99

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 99

ggcauaaaacu auaacagcu

19

<210> 100

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 100

agcuguuaua guuuaugccc u

21

<210> 101

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 101

ggcauaaaacu auaacagcu

19

<210> 102

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 102	
agcuguuaua guuuaugccc u	21
<210> 103	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 103	
agggcauaaa cuauaacagc u	21
<210> 104	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 104	
agcuguuaua guuuaugccc uuc	23
<210> 105	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 105	
agggcauaaa cuauaacagc u	21
<210> 106	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 106	
agcuguuaua guuuaugccc uuc	23
<210> 107	
<211> 21	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	107	
agggcauaaa cuauaacagc u		21
<210>	108	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	108	
agcuguuaua guuuaugccc uuc		23
<210>	109	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	109	
ggcauaaacu auaacagcu		19
<210>	110	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	110	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	111	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	111	
ggcauaaacu auaacagcu		19

<210>	112	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	112	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	113	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	113	
ggcauaaacu auaacagcu		19
<210>	114	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	114	
agcuguuaua guuuaugccc u		21
<210>	115	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	115	
agggcauaaa cuauaacagc u		21
<210>	116	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	116	

agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 117

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 117

agggcauaaa cuauaacagc u

21

<210> 118

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 118

agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 119

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 119

agggcauaaa cuauaacagc u

21

<210> 120

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 120

agcuguuaua guuuaugccc uuc

23

<210> 121

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z9，Z9 為 A	
<400>	121	
	gcucaagaau gccagaan	19
<210>	122	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z10，Z10 為 U	
<400>	122	
	nuucuuggca uucuugagc	19
<210>	123	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z11，Z11 為 A、U、G 或 C	
<400>	123	
	gcucaagaau gccagaan	19
<210>	124	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z12，Z12 是與 Z11 互補的核苷酸，Z11 選自 A、U、G 或 C	
<400>	124	
	nuucuuggca uucuugagc	19
<210>	125	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z11，Z11 為 A、U、G 或 C	
<400>	125	
	gcucaagaau gcccaagaan	19
<210>	126	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z12，Z12 是與 Z11 互補的核苷酸，Z11 選自 A、U、G 或 C	
<400>	126	
	nuucuuggca uucuugagca c	21
<210>	127	
<211>	21	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(21)..(21)	
<223>	n 為 Z11，Z11 為 A、U、G 或 C	
<400>	127	
	gugcucaaga augccaagaa n	21
<210>	128	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z12，Z12 是與 Z11 互補的核苷酸，Z11 選自 A、U、G 或 C	
<400>	128	
	nuucuuggca uucuugagca cuc	23
<210>	129	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	129	
	gcucaagaau gcccaagaaa	19
<210>	130	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	130	

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 131

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 131

gugcucaaga augccaagaa a

21

<210> 132

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 132

uuucuuggca uucuugagca cuc

23

<210> 133

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 133

gcucaagaau gccaagaaa

19

<210> 134

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 134

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 135

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 135
gcucaagaau gcccaagaaa

19

<210> 136
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 136
uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 137
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 137
gcucaagaau gcccaagaaa

19

<210> 138
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 138
uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 139
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 139
gugcucaaga augccaagaa a

21

<210> 140
<211> 23

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	140	
uuucuuggca	uucuugagca	cuc23
<210>	141	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	141	
gugcucaaga	augccaagaa	a21
<210>	142	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	142	
uuucuuggca	uucuugagca	cuc23
<210>	143	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	143	
gugcucaaga	augccaagaa	a21
<210>	144	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	144	
uuucuuggca	uucuugagca	cuc23

<210>	145	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	145	
gcucaagaau gcccaagaaa		19
<210>	146	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	146	
uuucuuggca uucuugagca c		21
<210>	147	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	147	
gcucaagaau gcccaagaaa		19
<210>	148	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	148	
uuucuuggca uucuugagca c		21
<210>	149	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	149	

gcucaagaau gcccaagaaa

19

<210> 150

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 150

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 151

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 151

gugcucaaga augccaagaa a

21

<210> 152

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 152

uuucuuggca uucuugagca cuc

23

<210> 153

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 153

gugcucaaga augccaagaa a

21

<210> 154

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 154	
uuucuuggca uucuugagca cuc	23
<210> 155	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 155	
gugcucaaga augccaagaa a	21
<210> 156	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 156	
uuucuuggca uucuugagca cuc	23
<210> 157	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 157	
gcucaagaau gccaaagaaa	19
<210> 158	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 158	
uuucuuggca uucuugagca c	21
<210> 159	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	159	
gcucaagaau	gcccaagaaa	19
<210>	160	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	160	
uuucuuggca	uucuugagca c	21
<210>	161	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	161	
gcucaagaau	gcccaagaaa	19
<210>	162	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	162	
uuucuuggca	uucuugagca c	21
<210>	163	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	163	
gugcucaaga	augccaagaa a	21

<210>	164	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	164	
uuucuuggca uucuugagca cuc		23
<210>	165	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	165	
gugcucaaga augccaagaa a		21
<210>	166	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	166	
uuucuuggca uucuugagca cuc		23
<210>	167	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	167	
gugcucaaga augccaagaa a		21
<210>	168	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	168	

uuucuuggca uucuugagca cuc

23

<210> 169

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 169

gcucaagaau gcccaagaaa

19

<210> 170

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 170

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 171

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 171

gcucaagaau gcccaagaaa

19

<210> 172

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 172

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 173

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 173	
gcucaagaau gcccaagaaa	19
<210> 174	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 174	
uuucuuggca uucuugagca c	21
<210> 175	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 175	
gugcucaaga augccaagaa a	21
<210> 176	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 176	
uuucuuggca uucuugagca cuc	23
<210> 177	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 177	
gugcucaaga augccaagaa a	21
<210> 178	
<211> 23	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	178	
uuucuuggca	uucuugagca	cuc
		23
<210>	179	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	179	
gugcucaaga	augccaagaa	a
		21
<210>	180	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	180	
uuucuuggca	uucuugagca	cuc
		23
<210>	181	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z13，Z13 為 U	
<400>	181	
gcaacaaaga	cauuuau	gn
		19
<210>	182	
<211>	19	
<212>	RNA	

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z14，Z14 為 A

<400> 182

ncauaaaugu cuuuguugc 19

<210> 183

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (19)..(19)

<223> n 為 Z15，Z15 為 A、U、G 或 C

<400> 183

gcaacaaaga cauuaugn 19

<210> 184

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z16，Z16 是與 Z15 互補的核苷酸，Z15 選自 A、U、G 或 C

<400> 184

ncauaaaugu cuuuguugc 19

<210> 185

<211> 19

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z15，Z15 為 A、U、G 或 C	
<400>	185	
	gcaacaaaga cauuuagn	19
<210>	186	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z16，Z16 是與 Z15 互補的核苷酸，Z15 選自 A、U、G 或 C	
<400>	186	
	ncauaaaugu cuuuguugca a	21
<210>	187	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(21)..(21)	
<223>	n 為 Z15，Z15 為 A、U、G 或 C	
<400>	187	
	uugcaacaaa gacauuuang n	21
<210>	188	

<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z16，Z16 是與 Z15 互補的核苷酸，Z15 選自 A、U、G 或 C	
<400>	188	
	ncauaaaugu cuuuguugca agc	23
<210>	189	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	189	
	gcaacaaaga cauuaugu	19
<210>	190	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	190	
	acauaaaugu cuuuguugca a	21
<210>	191	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	191	
	uugcaacaaa gacauuaug u	21
<210>	192	
<211>	23	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	192	
acauaaaugu cuuuguugca agc		23
<210>	193	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	193	
gcaacaaaga cauuaaugu		19
<210>	194	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	194	
acauaaaugu cuuuguugca a		21
<210>	195	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	195	
gcaacaaaga cauuaaugu		19
<210>	196	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	196	
acauaaaugu cuuuguugca a		21

<210>	197	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	197	
	gcaacaaaga cauuuangu	19
<210>	198	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	198	
	acauaaaugu cuuuguugca a	21
<210>	199	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	199	
	uugcaacaaa gacauuuang u	21
<210>	200	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	200	
	acauaaaugu cuuuguugca agc	23
<210>	201	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	201	

uugcaacaaa gacauuuuug u

21

- <210> 202
- <211> 23
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 202

acaupaaugu cuuuguugca agc

23

- <210> 203
- <211> 21
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 203

uugcaacaaa gacauuuuug u

21

- <210> 204
- <211> 23
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 204

acaupaaugu cuuuguugca agc

23

- <210> 205
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 205

gcaacaaaga cauuuauu

19

- <210> 206
- <211> 21
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 206	
acauaaaugu cuuuguugca a	21
<210> 207	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 207	
gcaacaaaga cauuaugu	19
<210> 208	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 208	
acauaaaugu cuuuguugca a	23
<210> 209	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 209	
gcaacaaaga cauuaugu	19
<210> 210	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 210	
acauaaaugu cuuuguugca a	21
<210> 211	
<211> 21	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	211	
uugcaacaaa	gacauuuu	aug u21
<210>	212	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	212	
acauaaaugu	cuuuguugca	agc23
<210>	213	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	213	
uugcaacaaa	gacauuuu	aug u21
<210>	214	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	214	
acauaaaugu	cuuuguugca	agc23
<210>	215	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	215	
uugcaacaaa	gacauuuu	aug u21

<210>	216	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	216	
acauaaaugu cuuuguugca agc		23
<210>	217	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	217	
gcaacaaaga cauuaugu		19
<210>	218	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	218	
acauaaaugu cuuuguugca a		21
<210>	219	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	219	
gcaacaaaga cauuaugu		21
<210>	220	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	220	

acauaaaugu cuuuguugca a

21

<210> 221

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 221

gcaacaaaga cauuaugu

19

<210> 222

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 222

acauaaaugu cuuuguugca a

21

<210> 223

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 223

uugcaacaaa gacauuaug u

21

<210> 224

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 224

acauaaaugu cuuuguugca agc

23

<210> 225

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 225
uugcaacaaa gacauuuug u

21

<210> 226
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 226
acaupaaugu cuuuguugca agc

23

<210> 227
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 227
uugcaacaaa gacauuuug u

21

<210> 228
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 228
acaupaaugu cuuuguugca agc

23

<210> 229
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 229
gcaacaaaga cauuuangu

19

<210> 230
<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	230	
acauaaaugu cuuuguugca a		21
<210>	231	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	231	
gcaacaaaga cauuaaugu		19
<210>	232	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	232	
acauaaaugu cuuuguugca a		21
<210>	233	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	233	
gcaacaaaga cauuaaugu		19
<210>	234	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	234	
acauaaaugu cuuuguugca a		21

<210>	235	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	235	
uugcaacaaa gacauuuuug u		21
<210>	236	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	236	
acauaaaugu cuuuguugca agc		23
<210>	237	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	237	
uugcaacaaa gacauuuuug u		21
<210>	238	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	238	
acauaaaugu cuuuguugca agc		23
<210>	239	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	239	

uugcaacaaa gacauuuuug u

21

<210> 240

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 240

acaupaaaugu cuuuguugca agc

23

<210> 241

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (19)..(19)

<223> n 為 Z17，Z17 為 U

<400> 241

gaaucucaa gaaaucuun

19

<210> 242

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z18，Z18 為 A

<400> 242

naagauuucu uugagauuc

19

<210> 243

<211> 19

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(19)	
<223>	n 為 Z19，Z19 為 A、U、G 或 C	
<400>	243	
	gaaucucaaa gaaaucuun	19
<210>	244	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z20，Z20 是與 Z19 互補的核苷酸，Z19 選自 A、U、G 或 C	
<400>	244	
	naagauuucu uugagauuc	19
<210>	245	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z19，Z19 為 A、U、G 或 C	
<400>	245	
	gaaucucaaa gaaaucuun	19
<210>	246	

<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z20，Z20 是與 Z19 互補的核苷酸，Z19 選自 A、U、G 或 C	
<400>	246	
	naagauuucu uugagauucu u	21
<210>	247	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(21)..(21)	
<223>	n 為 Z19，Z19 為 A、U、G 或 C	
<400>	247	
	aagaaucuca aagaaauucu n	21
<210>	248	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z20，Z20 是與 Z19 互補的核苷酸，Z20 選自 A、U、G 或 C	
<400>	248	
	naagauuucu uugagauucu uug	23

<210>	249	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	249	
gaaucucaaa gaaaucuuu		19
<210>	250	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	250	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	251	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	251	
aagaaucuca aagaaucuu u		21
<210>	252	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	252	
aaagauuucu uugagauucu uug		23
<210>	253	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	253	

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 254

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 254

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 255

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 255

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 256

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 256

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 257

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 257

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 258

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 258

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 259

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 259

aagaaucuca aagaaauucu u

21

<210> 260

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 260

aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 261

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 261

aagaaucuca aagaaauucu u

21

<210> 262

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 262

aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 263

<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	263	
aagaaucuca aagaaucuu u		21
<210>	264	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	264	
aaagauuucu uugagauucu uug		23
<210>	265	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	265	
gaaucucaa gaaaucuuu		19
<210>	266	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	266	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	267	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	267	
gaaucucaa gaaaucuuu		19

<210>	268	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	268	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	269	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	269	
gaaucucaaa gaaauuuu		19
<210>	270	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	270	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	271	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	271	
aagaaucuca aagaaauuu u		21
<210>	272	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	272	

aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 273

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 273

aagaaucuca aagaaauucu u

21

<210> 274

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 274

aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 275

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 275

aagaaucuca aagaaauucu u

21

<210> 276

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 276

aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 277

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 277

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 278

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 278

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 279

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 279

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 280

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 280

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 281

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 281

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 282

<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	282	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	283	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	283	
aagaaucuca aagaaauucu u		21
<210>	284	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	284	
aaagauuucu uugagauucu uug		23
<210>	285	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	285	
aagaaucuca aagaaauucu u		21
<210>	286	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	286	
aaagauuucu uugagauucu uug		23

<210>	287	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	287	
aagaaucuca aagaaucuu u		21
<210>	288	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	288	
aaagauuucu uugagauucu uug		23
<210>	289	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	289	
gaaucucaaa gaaaucuuu		19
<210>	290	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	290	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	291	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	291	

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 292

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 292

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 293

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 293

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 294

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 294

aaagauuucu uugagauucu u

21

<210> 295

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 295

aagaaucuca aagaaucuu u

21

<210> 296

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 296
aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 297
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 297
aagaaucuca aagaaauuu u

21

<210> 298
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 298
aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 299
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 299
aagaaucuca aagaaauuu u

21

<210> 300
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 300
aaagauuucu uugagauucu uug

23

<210> 301
<211> 19

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z21，Z21 為 G	
<400>	301	
	guacguggac uggauucun	19
<210>	302	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z22，Z22 為 C	
<400>	302	
	nagaauccag uccacguac	19
<210>	303	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z23，Z23 為 A、U、G 或 C	
<400>	303	
	guacguggac uggauucun	19
<210>	304	

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z24，Z24 是與 Z23 互補的核苷酸，Z23 選自 A、U、G 或 C	
<400>	304	
	nagaauccag uccacguac	19
<210>	305	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z23，Z23 為 A、U、G 或 C	
<400>	305	
	guacguggac uggauucun	19
<210>	306	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z24，Z24 是與 Z23 互補的核苷酸，Z23 選自 A、U、G 或 C	
<400>	306	
	nagaauccag uccacguacu c	21

<210> 307

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (21)..(21)

<223> n 為 Z23，Z23 為 A、U、G 或 C

<400> 307

gaguacgugg acuggauucu n21

<210> 308

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<221> misc-feature

<222> (1)..(1)

<223> n 為 Z24，Z24 是與 Z23 互補的核苷酸，Z23 選自 A、U、G 或 C

<400> 308

nagaauccag uccacguacu cga23

<210> 309

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 309

guacguggacu ggauucug19

<210> 310

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 310	
cagaauccag uccacguacu c	21
<210> 311	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 311	
gaguacgugg acuggauucu g	21
<210> 312	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 312	
cagaauccag uccacguacu cga	23
<210> 313	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 313	
guacguggac uggauucug	19
<210> 314	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 314	
cagaauccag uccacguacu c	21
<210> 315	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	315	
guacguggac	uggauucug	19
<210>	316	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	316	
cagaauccag	uccacguacu c	21
<210>	317	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	317	
guacguggac	uggauucug	19
<210>	318	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	318	
cagaauccag	uccacguacu c	21
<210>	319	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	319	
gaguacgugg	acuggauucu g	21

<210>	320	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	320	
cagaauccag uccacguacu cga		23
<210>	321	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	321	
gaguacgugg acuggauucu g		21
<210>	322	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	322	
cagaauccag uccacguacu cga		23
<210>	323	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	323	
gaguacgugg acuggauucu g		21
<210>	324	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	324	

cagaauccag uccacguacu cga

23

<210> 325

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 325

guacguggac uggauucug

19

<210> 326

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 326

cagaauccag uccacguacu c

21

<210> 327

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 327

guacguggac uggauucug

19

<210> 328

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 328

cagaauccag uccacguacu c

21

<210> 329

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 329	
guacguggac uggauucug	19
<210> 330	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 330	
cagaauccag uccacguacu c	21
<210> 331	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 331	
gaguacgugg acuggauucu g	21
<210> 332	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 332	
cagaauccag uccacguacu cga	23
<210> 333	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 333	
gaguacgugg acuggauucu g	21
<210> 334	
<211> 23	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	334	
cagaauccag uccacguacu cga		23
<210>	335	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	335	
gaguacgugg acuggauucu g		21
<210>	336	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	336	
cagaauccag uccacguacu cga		23
<210>	337	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	337	
guacguggac uggaucug		19
<210>	338	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	338	
cagaauccag uccacguacu c		21

<210>	339	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	339	
guacguggac uggauucug		19
<210>	340	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	340	
cagaauccag uccacguacu c		21
<210>	341	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	341	
guacguggac uggauucug		19
<210>	342	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	342	
cagaauccag uccacguacu c		21
<210>	343	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	343	

gaguacgugg acuggauucu g

21

<210> 344

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 344

cagaauccag uccacguacu cga

23

<210> 345

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 345

gaguacgugg acuggauucu g

21

<210> 346

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 346

cagaauccag uccacguacu cga

23

<210> 347

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 347

gaguacgugg acuggauucu g

21

<210> 348

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 348	
cagaauccag uccacguacu cga	23
<210> 349	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 349	
guacguggac uggauucug	19
<210> 350	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 350	
cagaauccag uccacguacu c	21
<210> 351	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 351	
guacguggac uggauucug	19
<210> 352	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 352	
cagaauccag uccacguacu c	21
<210> 353	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	353	
guacguggac uggauucug		19
<210>	354	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	354	
cagaauccag uccacguacu c		21
<210>	355	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	355	
gaguacgugg acuggauucu g		21
<210>	356	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	356	
cagaauccag uccacguacu cga		23
<210>	357	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	357	
gaguacgugg acuggauucu g		21

<210>	358	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	358	
cagaauccag	uccacguacu	cga
		23
<210>	359	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	359	
gaguacgugg	acuggauucu	g
		21
<210>	360	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	360	
cagaauccag	uccacguacu	cga
		23
<210>	361	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z25，Z25 為 A	
<400>	361	
auuucugggu	auucuun	
		19
<210>	362	

<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z26，Z26 為 U	
<400>	362	
	ngaaagaaua cccagaaau	19
<210>	363	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z27，Z27 為 A、U、G 或 C	
<400>	363	
	auuucugggu auucuucn	19
<210>	364	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z28，Z28 是與 Z27 互補的核苷酸，Z27 選自 A、U、G 或 C	
<400>	364	
	ngaaagaaua cccagaaau	19

<210>	365	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z27，Z27 為 A、U、G 或 C	
<400>	365	
	auuucugggu auucuuucn	19
<210>	366	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z28，Z28 是與 Z27 互補的核苷酸，Z27 選自 A、U、G 或 C	
<400>	366	
	ngaaagaaua cccagaaauc g	21
<210>	367	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(21)..(21)	
<223>	n 為 Z27，Z27 為 A、U、G 或 C	
<400>	367	
	cgauuucugg guauucuuc n	21

<210>	368	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z28，Z28 是與 Z27 互補的核苷酸，Z27 選自 A、U、G 或 C	
<400>	368	
	ngaaagaaua cccagaaauc gcu	23
<210>	369	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	369	
	auuucugggu auucuauca	19
<210>	370	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	370	
	ugaaagaaua cccagaaauc g	21
<210>	371	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	371	
	cgauuucugg guauucuuc a	21

<210>	372	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	372	
ugaaagaaua	cccagaaauc	gcu
		23
<210>	373	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	373	
auuucugggu	auucuuuca	
		19
<210>	374	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	374	
ugaaagaaua	cccagaaauc	g
		21
<210>	375	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	375	
auuucugggu	auucuuuca	
		19
<210>	376	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	376	

ugaaagaaua cccagaaauc g

21

<210> 377

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 377

auuucugggu auucuauca

19

<210> 378

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 378

ugaaagaaua cccagaaauc g

21

<210> 379

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 379

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 380

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 380

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 381

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 381

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 382

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 382

ugaaagaaua cccagaaauc guc

23

<210> 383

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 383

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 384

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 384

ugaaagaaua cccagaaauc guc

23

<210> 385

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 385

auuucugggu auucuauca

19

<210> 386

<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	386	
ugaaagaaua	cccagaaauc	g21
<210>	387	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	387	
auuucugggu	auucuuuca	19
<210>	388	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	388	
ugaaagaaua	cccagaaauc	g21
<210>	389	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	389	
auuucugggu	auucuuuca	19
<210>	390	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	390	
ugaaagaaua	cccagaaauc	g21

<210> 391

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 391

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 392

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 392

ugaaagaaua cccagaaauc guc

23

<210> 393

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 393

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 394

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 394

ugaaagaaua cccagaaauc guc

23

<210> 395

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 395

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 396

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 396

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 397

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 397

auuucugggu auucuauca

19

<210> 398

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 398

ugaaagaaua cccagaaauc g

21

<210> 399

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 399

auuucugggu auucuauca

19

<210> 400

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 400	
ugaaagaaua cccagaaauc g	21
<210> 401	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 401	
auuucugggu auucuuuca	19
<210> 402	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 402	
ugaaagaaua cccagaaauc g	21
<210> 403	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 403	
cgauuucugg guauucuuc a	21
<210> 404	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 404	
ugaaagaaua cccagaaauc gcu	23
<210> 405	
<211> 21	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	405	
cgauuucugg guauucuuc a		21
<210>	406	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	406	
ugaaagaaua cccagaaauc gcu		23
<210>	407	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	407	
cgauuucugg guauucuuc a		21
<210>	408	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	408	
ugaaagaaua cccagaaauc gcu		23
<210>	409	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	409	
auuucugggu auucuauca		19

<210>	410	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	410	
ugaaagaaua cccagaaauc g		21
<210>	411	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	411	
auuucugggu auucuauca		19
<210>	412	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	412	
ugaaagaaua cccagaaauc g		21
<210>	413	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	413	
auuucugggu auucuauca		19
<210>	414	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	414	

ugaaagaaua cccagaaauc g

21

<210> 415

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 415

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 416

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 416

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 417

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 417

cgauuucugg guauucuuc a

21

<210> 418

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 418

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 419

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 419
cgauuucugg guauucuuuc a

21

<210> 420
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 420
ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 421
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (19)..(19)
<223> n 為 Z29，Z29 為 U

<400> 421
caugaagggc auaaacuan

19

<210> 422
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<220>
<221> misc-feature
<222> (1)..(1)
<223> n 為 Z30，Z30 為 A

<400> 422
nuaguuuuauug cccuucaug

19

<210>	423	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z31，Z31 為 A、U、G 或 C	
<400>	423	
	caugaagggc auaaacuan	19
<210>	424	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z32，Z32 是與 Z31 互補的核苷酸，Z31 選自 A、U、G 或 C	
<400>	424	
	nuaguuuuug cccuucaug	19
<210>	425	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z31，Z31 為 A、U、G 或 C	
<400>	425	
	caugaagggc auaaacuan	19

<210>	426	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z32，Z32 是與 Z31 互補的核苷酸，Z31 選自 A、U、G 或 C	
<400>	426	
	nuaguuuuau g cccuucaugu c	21
<210>	427	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(21)..(21)	
<223>	n 為 Z31，Z31 為 A、U、G 或 C	
<400>	427	
	gacaugaagg gcauaaacua n	21
<210>	428	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z32，Z32 是與 Z31 互補的核苷酸，Z31 選自 A、U、G 或 C	
<400>	428	

nuaguuuuauG cccuucAugu cua

23

<210> 429

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 429

caugaaggGc auaaacuau

19

<210> 430

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 430

auaguuuuauG cccuucAugu c

21

<210> 431

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 431

gacauGaagg gcuaaaacua u

21

<210> 432

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 432

auaguuuuauG cccuucAugu cua

23

<210> 433

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 433
caugaagggc auaaacuau

19

<210> 434
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 434
auaguuuuau g cccuucaugu c

21

<210> 435
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 435
caugaagggc auaaacuau

19

<210> 436
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 436
auaguuuuau g cccuucaugu c

21

<210> 437
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 437
caugaagggc auaaacuau

19

<210> 438
<211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	438	
auaguuuau	cccuucaug	c
		21
<210>	439	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	439	
gacauaagg	gcuaaaacua	u
		21
<210>	440	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	440	
auaguuuau	cccuucaug	cua
		23
<210>	441	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	441	
gacauaagg	gcuaaaacua	u
		21
<210>	442	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	442	
auaguuuau	cccuucaug	cua
		23

<210>	443	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	443	
gacaugaagg gcauaaacua u		21
<210>	444	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	444	
auaguuuuau gcccuaucagu cua		23
<210>	445	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	445	
caugaagggc auaaacuau		19
<210>	446	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	446	
auaguuuuau gcccuaucagu c		21
<210>	447	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	447	

caugaagggc auaaacuau

19

<210> 448

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 448

auaguuuuau gcccuucaugu c

21

<210> 449

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 449

caugaagggc auaaacuau

19

<210> 450

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 450

auaguuuuau gcccuucaugu c

21

<210> 451

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 451

gacaugaagg gcauaaacua u

21

<210> 452

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400>	452	
auaguuuuau	cccuucaugu	cua
		23
<210>	453	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	453	
gacau	gaagg gcauaaacua	u
		21
<210>	454	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	454	
auaguuuuau	cccuucaugu	cua
		23
<210>	455	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	455	
gacau	gaagg gcauaaacua	u
		21
<210>	456	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	456	
auaguuuuau	cccuucaugu	cua
		23
<210>	457	
<211>	19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	457	
caugaagggc	auaaacuau	19
<210>	458	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	458	
auaguuuuau	cccuucaugu c	21
<210>	459	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	459	
caugaagggc	auaaacuau	19
<210>	460	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	460	
auaguuuuau	cccuucaugu c	21
<210>	461	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	461	
caugaagggc	auaaacuau	19

<210>	462	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	462	
auaguuuuau g cccuucaugu c		21
<210>	463	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	463	
gacau gagg gcauuuacua u		21
<210>	464	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	464	
auaguuuuau g cccuucaugu cua		23
<210>	465	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	465	
gacau gagg gcauuuacua u		21
<210>	466	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	466	

auaguuuuauG cccuucAugu cua

23

<210> 467

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 467

gacAugaagg gcauaaacua u

21

<210> 468

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 468

auaguuuuauG cccuucAugu cua

23

<210> 469

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 469

caugaagggc auaaacuau

19

<210> 470

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 470

auaguuuuauG cccuucAugu c

21

<210> 471

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 471
caugaagggc auaaacuau

19

<210> 472
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 472
auaguuuuau gcccuucaugu c

21

<210> 473
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 473
caugaagggc auaaacuau

19

<210> 474
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 474
auaguuuuau gcccuucaugu c

21

<210> 475
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 475
gacaugaagg gcuaaaacua u

21

<210> 476
<211> 23

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	476	
auaguuuuauG cccuucaugu cua		23
<210>	477	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	477	
gacauGaagg gcauaaaacua u		21
<210>	478	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	478	
auaguuuuauG cccuucaugu cua		23
<210>	479	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	479	
gacauGaagg gcauaaaacua u		21
<210>	480	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	480	
auaguuuuauG cccuucaugu cua		23

<210>	481	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z33，Z33 為 A	
<400>	481	
	ggauucugga gaaaacucn	19
<210>	482	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z34，Z34 為 U	
<400>	482	
	ngaguuuucu ccagaaucc	19
<210>	483	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z35，Z35 為 A、U、G 或 C	
<400>	483	
	ggauucugga gaaaacucn	19

<210>	484	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z36，Z36 是與 Z35 互補的核苷酸，Z35 選自 A、U、G 或 C	
<400>	484	
	ngaguuuucu ccagaaucc	19
<210>	485	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(19)..(19)	
<223>	n 為 Z35，Z35 為 A、U、G 或 C	
<400>	485	
	ggauucugga gaaaacucn	19
<210>	486	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<221>	misc-feature	
<222>	(1)..(1)	
<223>	n 為 Z36，Z36 是與 Z35 互補的核苷酸，Z35 選自 A、U、G 或 C	
<400>	486	

ngaguuuuucu ccagaaucca g

21

- <210> 487
- <211> 21
- <212> RNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <221> misc-feature
- <222> (21)..(21)
- <223> n 為 Z35，Z35 為 A、U、G 或 C

<400> 487

cuggauucug gagaaaacuc n

21

- <210> 488
- <211> 23
- <212> RNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <221> misc-feature
- <222> (1)..(1)
- <223> n 為 Z36，Z36 是與 Z35 互補的核苷酸，Z35 選自 A、U、G 或 C

<400> 488

ngaguuuuucu ccagaaucca guc

23

- <210> 489
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工序列

<400> 489

ggauucugga gaaaacuca

19

- <210> 490
- <211> 21

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	490	
ugaguuuucu	ccagaaucca	g21
<210>	491	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	491	
cuggauucug	gagaaaacuc	a21
<210>	492	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	492	
ugaguuuucu	ccagaaucca	guc23
<210>	493	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	493	
ggauucugga	gaaaacuca	19
<210>	494	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	494	
ugaguuuucu	ccagaaucca	g21

<210>	495	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	495	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	496	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	496	
ugaguuuucu ccagaaucce g		21
<210>	497	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	497	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	498	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	498	
ugaguuuucu ccagaaucce g		21
<210>	499	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	499	

cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 500

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 500

ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 501

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 501

cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 502

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 502

ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 503

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 503

cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 504

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 504	
ugaguuuucu ccagaaucca guc	23
<210> 505	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 505	
ggauucugga gaaaacuca	19
<210> 506	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 506	
ugaguuuucu ccagaaucca g	21
<210> 507	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 507	
ggauucugga gaaaacuca	19
<210> 508	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 508	
ugaguuuucu ccagaaucca g	21
<210> 509	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	509	
ggauucugga	gaaaacuca	19
<210>	510	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	510	
ugaguuuucu	ccagaaucca g	21
<210>	511	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	511	
cuggauucug	gagaaaacuc a	21
<210>	512	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	512	
ugaguuuucu	ccagaaucca guc	23
<210>	513	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	513	
cuggauucug	gagaaaacuc a	21

<210>	514	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	514	
ugaguuuucu ccagaaucca guc		23
<210>	515	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	515	
cuggauucug gagaaaacuc a		21
<210>	516	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	516	
ugaguuuucu ccagaaucca guc		23
<210>	517	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	517	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	518	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	518	

ugaguuuucu ccagaaucca g

21

<210> 519

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 519

ggauucugga gaaaacuca

19

<210> 520

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 520

ugaguuuucu ccagaaucca g

21

<210> 521

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 521

ggauucugga gaaaacuca

19

<210> 522

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 522

ugaguuuucu ccagaaucca g

21

<210> 523

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 523
cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 524
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 524
ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 525
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 525
cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 526
<211> 23
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 526
ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 527
<211> 21
<212> RNA
<213> 人工序列

<400> 527
cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 528
<211> 23

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	528	
ugaguuuucu ccagaaucca guc		23
<210>	529	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	529	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	530	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	530	
ugaguuuucu ccagaaucca g		21
<210>	531	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	531	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	532	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	532	
ugaguuuucu ccagaaucca g		21

<210>	533	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	533	
ggauucugga gaaaacuca		19
<210>	534	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	534	
ugaguuuucu ccagaaucce g		21
<210>	535	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	535	
cuggauucug gagaaaacuc a		21
<210>	536	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	536	
ugaguuuucu ccagaaucce guc		23
<210>	537	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	537	

cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 538

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 538

ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 539

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 539

cuggauucug gagaaaacuc a

21

<210> 540

<211> 23

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 540

ugaguuuucu ccagaaucce guc

23

<210> 541

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 541

guacguggac uggaucug

19

<210> 542

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 542	
cagaauccag uccacguacu u	21
<210> 543	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 543	
ggguauucuu ucaagcaau	19
<210> 544	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 544	
auugcuugaa agaauaccca g	21
<210> 545	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 545	
ggcauaaacu auaacagcu	19
<210> 546	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列	
<400> 546	
agcuguuaua guuuaugccc u	21
<210> 547	
<211> 19	

<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	547	
gcucaagaau	gcccaagaaa	19
<210>	548	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	548	
uuucuuggca	uucuugagca c	21
<210>	549	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	549	
gcaacaaaga	cauuuaugu	19
<210>	550	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	550	
acauaaaugu	cuuuguugca a	21
<210>	551	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	551	
gaaucucaaa	gaaaucuuu	19

<210>	552	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	552	
aaagauuucu uugagauucu u		21
<210>	553	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	553	
auuucugggu auucuauca		19
<210>	554	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	554	
ugaaagaaua cccagaaauc g		21
<210>	555	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	555	
caugaagggc auaaacuau		19
<210>	556	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工序列	
<400>	556	

auaguuuau g cccuucaugu c

21

<210> 557

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 557

ggauucugga gaaaacuca

19

<210> 558

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 558

ugaguuuucu ccagaauc ca g

21

<210> 559

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 559

ggauucugga gaaaacuca

19

<210> 560

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 560

ugaguuuucu ccagaauc ca g

21

<210> 561

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 561

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 562

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 562

aaagauuucu uugagauuc

19

<210> 563

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 563

uucuccgaac gugucacgu

19

<210> 564

<211> 21

<212> RNA

<213> 人工序列

<400> 564

acgugacacg uucggagaac u

21

<210> 565

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 565

gaatctcaaa gaaatcttt

19

<210> 566

<211> 19

<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	566	
	tcacggcgga atcaccatc	19
<210>	567	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	567	
	tgtcctattc actcttggca gt	22
<210>	568	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	568	
	ggtcggagtc aacggattt	19
<210>	569	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	569	
	ccagcatcgc cccacttga	19
<210>	570	
<211>	19	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	570	
	tcacggcgga atcaccatc	19

<210>	571	
<211>	22	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	571	
	tgtcctattc actcttggca gt	22
<210>	572	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	572	
	aactttggca ttgtggaagg gctc	24
<210>	573	
<211>	24	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	573	
	tggaagagtg ggagttgctg ttga	24
<210>	574	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	574	
	gccctgttaa aactggaatc agc	23
<210>	575	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	575	

cgtttctatc tcctttggaa ggc

23

<210> 576

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 576

tgcaccacca actgcttag

19

<210> 577

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

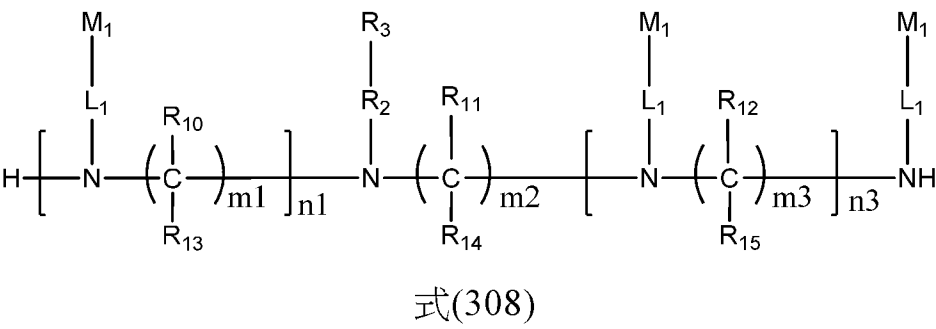
<400> 577

ggatgcaggg atgatgttc

19

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種siRNA綴合物，其中，前述siRNA綴合物具有式(308)所示的結構：



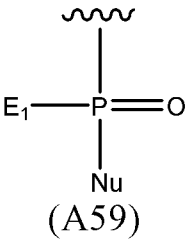
其中，

n1 為選自 1-3 的整數，n3 為選自 0-4 的整數；

每個 m1、m2 和 m3 各自獨立地為選自 2-10 的整數；

每個 R₁₀、R₁₁、R₁₂、R₁₃、R₁₄ 和 R₁₅ 各自獨立地為 H，或選自於由以下基團所組成的組：C₁-C₁₀ 烷基、C₁-C₁₀ 鹵代烷基以及 C₁-C₁₀ 烷氧基；

R₃ 為式 A59 所示結構的基團：



其中，E₁ 為 OH、SH 或 BH₂，Nu 為 siRNA；前述 siRNA 含有正義鏈和反義鏈，前述 siRNA 中的每個核苷酸各自獨立地為修飾或未修飾的核苷酸，其中，前述正義鏈含有一段核苷酸序列 I，前述反義鏈含有一段核苷酸序列 II，前述核苷酸序列 I 和前述核苷酸序列 II 反向互補形成雙鏈區，

其中，前述正義鏈和前述反義鏈長度相同或不同，前述正義鏈的長度為 19-23 個核苷酸，前述反義鏈的長度為 19-26 個核苷酸；並且

前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 3 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 4 所示的核苷酸序列：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ₃ -3'(SEQ ID NO: 3)；

5'- Z₄UUGCUUGAAAGAAUACCC -3'(SEQ ID NO: 4) ,

其中，Z₃ 選自 A、U、G 或 C，Z₄是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z₃ 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 63 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 64 所示的核苷酸序列：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ₇ -3' (SEQ ID NO: 63) ;

5'- Z₈GCUGUUAUAGUUUAUGCC -3' (SEQ ID NO: 64) ,

其中，Z₇ 選自 A、U、G 或 C，Z₈是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z₇ 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 123 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 124 所示的核苷酸序列：

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₁₁ -3' (SEQ ID NO: 123) ;

5'- Z₁₂UUCUUGGCAUUCUUGAGC -3' (SEQ ID NO: 124) ,

其中，Z₁₁ 選自 A、U、G 或 C，Z₁₂是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z₁₁ 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 183 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 184 所示的核苷酸序列：

5'- GCAACAAAGACAUUUAUGZ₁₅ -3' (SEQ ID NO: 183) ;

5'- Z₁₆CAUAAAUGUCUUUGUUGC -3' (SEQ ID NO: 184) ,

其中，Z₁₅ 選自 A、U、G 或 C，Z₁₆是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z₁₅ 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 243 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 244 所示的核苷酸序列：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ₁₉ -3' (SEQ ID NO: 243) ;

5'- Z₂₀AAGAUUUCUUUGAGAUUC -3' (SEQ ID NO: 244) ,

其中， Z_{19} 選自 A、U、G 或 C， Z_{20} 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z_{19} 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 303 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 304 所示的核苷酸序列：

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ₂₃ -3' (SEQ ID NO: 303)；

5'- Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUAC -3' (SEQ ID NO: 304)，

其中， Z_{23} 選自 A、U、G 或 C， Z_{24} 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z_{23} 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 363 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 364 所示的核苷酸序列：

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇ -3'(SEQ ID NO: 363)；

5'- Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAU -3'(SEQ ID NO: 364)，

其中， Z_{27} 選自 A、U、G 或 C， Z_{28} 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z_{27} 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 423 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 424 所示的核苷酸序列：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁ -3' (SEQ ID NO: 423)；

5'- Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUG-3' (SEQ ID NO: 424)，

其中， Z_{31} 選自 A、U、G 或 C， Z_{32} 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並且與 Z_{31} 互補；

或者，前述核苷酸序列 I 包含 SEQ ID NO: 483 所示的核苷酸序列，前述核苷酸序列 II 包含 SEQ ID NO: 484 所示的核苷酸序列：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ₃₅-3'(SEQ ID NO: 483)；

5'- Z₃₆GAGUUUUCUCCAGAAUCC -3'(SEQ ID NO: 484)，

其中， Z_{35} 選自 A、U、G 或 C， Z_{36} 是前述反義鏈 5'末端的第一個核苷酸並

且與 Z_{35} 互補；

R_2 是長度為 1-20 個碳原子的直鏈亞烷基，其中一個或多個碳原子任選地被選自於以下基團所組成的組中的任何一個或多個所替換： $C(O)$ 、 NH 、 O 、 S 、 $CH=N$ 、 $S(O)_2$ 、 C_2-C_{10} 亞烯基、 C_2-C_{10} 亞炔基、 C_6-C_{10} 亞芳基、 C_3-C_{18} 亞雜環基和 C_5-C_{10} 亞雜芳基；並且其中 R_2 可任選地具有由以下基團所組成的組中的任何一個或多個的取代基： C_1-C_{10} 烷基、 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_{10} 雜芳基、 C_1-C_{10} 鹵代烷基、 $-OC_1-C_{10}$ 烷基、 $-OC_1-C_{10}$ 烷基苯基、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- OH 、 $-OC_1-C_{10}$ 鹵代烷基、 $-SC_1-C_{10}$ 烷基、 $-SC_1-C_{10}$ 烷基苯基、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- SH 、 $-SC_1-C_{10}$ 鹵代烷基、鹵素取代基、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- NH_2 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-NH(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})(C_1-C_{10} \text{ 烷基苯基})$ 、 $-NH(C_1-C_{10} \text{ 烷基苯基})$ 、氰基、硝基、 $-CO_2H$ 、 $-C(O)O(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-CON(C_1-C_{10} \text{ 烷基})(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-CONH(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NHC(O)(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-NHC(O)(\text{苯基})$ 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})C(O)(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})C(O)(\text{苯基})$ 、 $-C(O)C_1-C_{10}$ 烷基、 $-C(O)C_1-C_{10}$ 烷基苯基、 $-C(O)C_1-C_{10}$ 鹵烷基、 $-OC(O)C_1-C_{10}$ 烷基、 $-SO_2(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2(\text{苯基})$ 、 $-SO_2(C_1-C_{10} \text{ 鹵代烷基})$ 、 $-SO_2NH_2$ 、 $-SO_2NH(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-SO_2NH(\text{苯基})$ 、 $-NHSO_2(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-NHSO_2(\text{苯基})$ 和 $-NHSO_2(C_1-C_{10} \text{ 鹵代烷基})$ ；

每個 L_1 獨立地是長度為 1-70 個碳原子的直鏈亞烷基，其中一個或多個碳原子任選地被選自於以下基團所組成的組中的任何一個或多個所替換： $C(O)$ 、 NH 、 O 、 S 、 $CH=N$ 、 $S(O)_2$ 、 C_2-C_{10} 亞烯基、 C_2-C_{10} 亞炔基、 C_6-C_{10} 亞芳基、 C_3-C_{18} 亞雜環基和 C_5-C_{10} 亞雜芳基；並且其中， L_1 可任選地具有由以下基團所組成的組中的任何一個或多個的取代基： C_1-C_{10} 烷基、 C_6-C_{10} 芳基、 C_5-C_{10} 雜芳基、 C_1-C_{10} 鹵代烷基、 $-OC_1-C_{10}$ 烷基、 $-OC_1-C_{10}$ 烷基苯基、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- OH 、 $-OC_1-C_{10}$ 鹵代烷基、 $-SC_1-C_{10}$ 烷基、 $-SC_1-C_{10}$ 烷基苯基、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- SH 、 $-SC_1-C_{10}$ 鹵代烷基、鹵素取代基、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $-C_1-C_{10}$ 烷基- NH_2 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-NH(C_1-C_{10} \text{ 烷基})$ 、 $-N(C_1-C_{10} \text{ 烷基})(C_1-C_{10} \text{ 烷基苯基})$ 、 $-NH(C_1-C_{10} \text{ 烷基苯基})$ 、氰

基、硝基、 $-\text{CO}_2\text{H}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{CON}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{CONH}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{NHC}(\text{O})(\text{苯基})$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})\text{C}(\text{O})(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})\text{C}(\text{O})(\text{苯基})$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基苯基}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 鹵烷基}$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基}$ 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{SO}_2(\text{苯基})$ 、 $-\text{SO}_2(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 鹵代烷基})$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}(\text{苯基})$ 、 $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 烷基})$ 、 $-\text{NHSO}_2(\text{苯基})$ 和 $-\text{NHSO}_2(\text{C}_1\text{-C}_{10}\text{ 鹵代烷基})$ ；

~~~~~表示基團連接共價部分的位點；

$\text{M}_1$ 表示靶向基團。

【請求項2】 如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述正義鏈還含有核苷酸序列III，前述反義鏈還含有核苷酸序列IV，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度各自獨立地為1-4個核苷酸，前述核苷酸序列III連接在SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423或SEQ ID NO: 483所示的核苷酸序列的5'末端，前述核苷酸序列IV連接在SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 424或SEQ ID NO: 484所示的核苷酸序列的3'末端，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV長度相等並且反向互補。

【請求項3】 如請求項2所記載之siRNA綴合物，其中，前述核苷酸序列I與SEQ ID NO: 3所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，前述核苷酸序列III的鹼基為U；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為CU；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為UCU；或者，前述核苷酸序列III



和前述核苷酸序列IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為UUCU；

或者，前述核苷酸序列I與 SEQ ID NO: 63 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，前述核苷酸序列III的鹼基為G；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為AG；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為AAG；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為GAAG；

或者，前述核苷酸序列I與 SEQ ID NO: 123 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，前述核苷酸序列III的鹼基為U；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為GU；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為3個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為AGU；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為4個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為GAGU；

或者，前述核苷酸序列I與 SEQ ID NO: 183 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於3個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為1個核苷酸，前述核苷酸序列III的鹼基為U；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序列IV的長度均為2個核苷酸，按照5'末端到3'末端的方向，前述核苷酸序列III的鹼基組成為UU；或者，前述核苷酸序列III和前述核苷酸序

列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CUU；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 GCUU；

或者，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 243 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，前述核苷酸序列 III 的鹼基為 A；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 AA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 AAA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CAAA；

或者，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 303 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，前述核苷酸序列 III 的鹼基為 A；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 GA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CGA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 UCGA；

或者，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 363 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，前述核苷酸序列 III 的鹼基為 G；或者，前述核苷酸序列 III

和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CG；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 GCG；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 AGCG；

或者，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 423 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，前述核苷酸序列 III 的鹼基為 A；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 GA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 AGA；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 UAGA；

或者，前述核苷酸序列 I 與 SEQ ID NO: 483 所示的核苷酸序列長度相等，且不多於 3 個核苷酸差異，並且，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 1 個核苷酸，前述核苷酸序列 III 的鹼基為 U；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 2 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 CU；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 3 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 ACU；或者，前述核苷酸序列 III 和前述核苷酸序列 IV 的長度均為 4 個核苷酸，按照 5'末端到 3'末端的方向，前述核苷酸序列 III 的鹼基組成為 GACU。

【請求項4】 如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述反義鏈還含有

核苷酸序列V，前述核苷酸序列V的長度為1至3個核苷酸，連接在前述反義鏈的3'末端，構成反義鏈的3'突出端。

【請求項5】 如請求項4所記載之siRNA綴合物，其中，前述核苷酸序列V的長度為2個核苷酸；而且

前述核苷酸序列 V 為連續的兩個胸腺嘧啶去氧核糖核苷酸或連續的兩個腺嘧啶核糖核苷酸，或者前述核苷酸序列 V 與靶 mRNA 相應位置的核苷酸互補。

【請求項6】 如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA的正義鏈含有如SEQ ID NO: 5所示的核苷酸序列，前述反義鏈含有如SEQ ID NO: 6所示的核苷酸序列：

5'- GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ<sub>3</sub> -3'(SEQ ID NO: 5)；

5'- Z<sub>4</sub>UUGCUUGAAAGAAUACCCAG -3'(SEQ ID NO: 6)；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 7 所示的核苷酸序列，前述反義鏈含有如 SEQ ID NO: 8 所示的核苷酸序列：

5'- CUGGGUAUUCUUUCAAGCAAZ<sub>3</sub> -3'(SEQ ID NO: 7)；

5'- Z<sub>4</sub>UUGCUUGAAAGAAUACCCAGAA -3'(SEQ ID NO: 8)；

其中，Z<sub>4</sub>是反義鏈5'末端的第一個核苷酸，Z<sub>3</sub>選自A、U、G或C，並且Z<sub>4</sub>是與Z<sub>3</sub>互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 65 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 66 所示的核苷酸序列：

5'- GGCAUAAACUAUAACAGCZ<sub>7</sub> -3' (SEQ ID NO: 65)；

5'- Z<sub>8</sub>GCUGUUAUAGUUUAUGCCCU-3' (SEQ ID NO: 66)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 67 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 68 所示的核苷酸序列：

5'- AGGGCAUAAACUAUAACAGCZ<sub>7</sub> -3' (SEQ ID NO: 67)；

5'- Z<sub>8</sub>GCUGUUAUAGUUUAUGCCCUUC-3' (SEQ ID NO: 68)，

其中， $Z_8$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_7$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_8$  是與  $Z_7$  互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 125 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 126 所示的核苷酸序列：

5'- GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ<sub>11</sub>-3' (SEQ ID NO: 125)；

5'-Z<sub>12</sub>UUCUUGGCAUUCUUGAGCAC-3' (SEQ ID NO: 126)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 127 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 128 所示的核苷酸序列：

5'- GUGCUCAAGAAUGCCAAGAAZ<sub>11</sub>-3' (SEQ ID NO: 127)；

5'-Z<sub>12</sub>UUCUUGGCAUUCUUGAGCACUC-3' (SEQ ID NO: 128)，

其中， $Z_{12}$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_{11}$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_{12}$  是與  $Z_{11}$  互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 185 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 186 所示的核苷酸序列：

5'- GCAACAAAGACAUUUAUGZ<sub>15</sub>-3' (SEQ ID NO: 185)；

5'-Z<sub>16</sub>CAUAAAUGUCUUUGUUGCAA-3' (SEQ ID NO: 186)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 187 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 188 所示的核苷酸序列：

5'- UUGCAACAAAGACAUUUAUGZ<sub>15</sub>-3' (SEQ ID NO: 187)；

5'-Z<sub>16</sub>CAUAAAUGUCUUUGUUGCAAGC-3' (SEQ ID NO: 188)，

其中， $Z_{16}$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_{15}$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_{16}$  是與  $Z_{15}$  互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 245 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 246 所示的核苷酸序列：

5'- GAAUCUCAAGAAAUCUUZ<sub>19</sub>-3' (SEQ ID NO: 245)；

5'-Z<sub>20</sub>AAGAUUUCUUUGAGAUUCUU-3' (SEQ ID NO: 246) ,

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 247 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 248 所示的核苷酸序列:

5'- AAGAAUCUCAAGAAAUCUUZ<sub>19</sub>-3' (SEQ ID NO: 247) ;

5'-Z<sub>20</sub>AAGAUUUCUUUGAGAUUCUUUG-3' (SEQ ID NO: 248) ,

其中, Z<sub>20</sub> 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸, Z<sub>19</sub> 選自 A、U、G 或 C, 並且 Z<sub>20</sub> 是與 Z<sub>19</sub> 互補的核苷酸;

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 305 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 306 所示的核苷酸序列:

5'- GUACGUGGACUGGAUUCUZ<sub>23</sub>-3' (SEQ ID NO: 305) ;

5'-Z<sub>24</sub>AGAAUCCAGUCCACGUACUC -3' (SEQ ID NO: 306) ,

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 307 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 308 所示的核苷酸序列:

5'- GAGUACGUGGACUGGAUUCUZ<sub>23</sub>-3' (SEQ ID NO: 307) ;

5'-Z<sub>24</sub>AGAAUCCAGUCCACGUACUCGA-3' (SEQ ID NO: 308) ,

其中, Z<sub>24</sub> 是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸, Z<sub>23</sub> 選自 A、U、G 或 C, 並且 Z<sub>24</sub> 是與 Z<sub>23</sub> 互補的核苷酸;

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 365 所示的核苷酸序列, 前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 366 所示的核苷酸序列:

5'- AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ<sub>27</sub>-3'(SEQ ID NO: 365) ;

5'- Z<sub>28</sub>GAAAGAAUACCCAGAAAUCG-3'(SEQ ID NO: 366) ;

或者, 前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 367 所示的核苷酸序列, 前述反義鏈含有如 SEQ ID NO: 368 所示的核苷酸序列:

5'- CGAUUUCUGGGUAUUCUUUCZ<sub>27</sub>-3'(SEQ ID NO: 367) ;

5'- Z<sub>28</sub>GAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU-3'(SEQ ID NO: 368) ;

其中， $Z_{28}$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_{27}$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_{28}$  是與  $Z_{27}$  互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 425 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 426 所示的核苷酸序列：

5'- CAUGAAGGGCAUAAACUAZ<sub>31</sub> -3' (SEQ ID NO: 425)；

5'- Z<sub>32</sub>UAGUUUAUGCCCUUCAUGUC-3' (SEQ ID NO: 426)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 427 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 428 所示的核苷酸序列：

5'- GACAUGAAGGGCAUAAACUAZ<sub>31</sub> -3' (SEQ ID NO: 427)；

5'- Z<sub>32</sub>UAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA -3' (SEQ ID NO: 428)，

其中， $Z_{32}$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_{31}$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_{32}$  是與  $Z_{31}$  互補的核苷酸；

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 485 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 486 所示的核苷酸序列：

5'- GGAUUCUGGAGAAAACUCZ<sub>35</sub> -3' (SEQ ID NO: 485)；

5'- Z<sub>36</sub>GAGUUUUCUCCAGAAUCCAG -3' (SEQ ID NO: 486)，

或者，前述 siRNA 的正義鏈含有如 SEQ ID NO: 487 所示的核苷酸序列，前述 siRNA 的反義鏈含有如 SEQ ID NO: 488 所示的核苷酸序列：

5'- CUGGAUUCUGGAGAAAACUCZ<sub>35</sub> -3' (SEQ ID NO: 487)；

5'- Z<sub>36</sub>GAGUUUUCUCCAGAAUCCAGUC -3' (SEQ ID NO: 488)，

其中， $Z_{36}$  是反義鏈 5'末端的第一個核苷酸， $Z_{35}$  選自 A、U、G 或 C，並且  $Z_{36}$  是與  $Z_{35}$  互補的核苷酸。

**【請求項7】** 如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA為表1a至表1i中所示的siFXIa1、siFXIa2、siFXIb1、siFXIb2、siFXIc1、siFXIc2、siFXId1、siFXId2、siFXIe1、siFXIe2、siFXIf1、siFXIf2、siFXIg1、siFXIg2、siFXIh1、siFXIh2、

siFXIi1和siFXIi2中的任意一種。

【請求項8】 如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述正義鏈和前述反義鏈中的每一個核苷酸獨立地為氟代修飾的核苷酸或非氟代修飾的核苷酸；

前述氟代修飾的核苷酸位於 SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423 或 SEQ ID NO: 483 所示的核苷酸序列和 SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 424 或 SEQ ID NO: 484 所示的核苷酸序列中，並且，按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423 或 SEQ ID NO: 483 所示的前述核苷酸序列的至少第 7、8、9 位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸；按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 424 或 SEQ ID NO: 484 所示的前述核苷酸序列的至少第 2、6、14、16 位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸。

【請求項9】 如請求項8所記載之siRNA綴合物，其中，每一個前述非氟代修飾的核苷酸均為甲氧基修飾的核苷酸，前述甲氧基修飾的核苷酸指核糖基的 2'-羥基被甲氧基取代而形成的核苷酸。

【請求項10】 如請求項9所記載之siRNA綴合物，其中，按照5'末端到3'末端的方向，SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423或SEQ ID NO: 483所示的前述siRNA的正義鏈中核苷酸序列的第5、7、8和9位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述siRNA的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照5'末端到3'末端的方向，SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO:



364、SEQ ID NO: 424或SEQ ID NO: 484所示的前述siRNA的反義鏈中核苷酸序列的第2、6、8、9、14和16位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述siRNA的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；

或者，按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423 或 SEQ ID NO: 483 所示的前述 siRNA 的正義鏈中核苷酸序列的第 5、7、8 和 9 位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述 siRNA 的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 424 或 SEQ ID NO: 484 所示的前述 siRNA 的反義鏈中核苷酸序列的第 2、6、14 和 16 位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述 siRNA 的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸；

或者，按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 123、SEQ ID NO: 183、SEQ ID NO: 243、SEQ ID NO: 303、SEQ ID NO: 363、SEQ ID NO: 423 或 SEQ ID NO: 483 所示的前述 siRNA 的正義鏈中核苷酸序列的第 7、8 和 9 位的核苷酸為-氟代修飾的核苷酸，前述 siRNA 的正義鏈的其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸，並且，按照 5'末端到 3'末端的方向，SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 124、SEQ ID NO: 184、SEQ ID NO: 244、SEQ ID NO: 304、SEQ ID NO: 364、SEQ ID NO: 424 或 SEQ ID NO: 484 所示的前述 siRNA 的反義鏈中核苷酸序列的第 2、6、14 和 16 位的核苷酸為氟代修飾的核苷酸，前述 siRNA 的反義鏈其餘位置的核苷酸為甲氧基修飾的核苷酸。

【請求項11】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA為表1a至表1i中所示的 siFXIa1-M1、siFXIa1-M2、siFXIa1-M3、siFXIa2-M1、siFXIa2-M2、siFXIa2-M3、siFXIb1-M1、siFXIb1-M2、siFXIb1-M3、siFXIb2-M1、siFXIb2-M2、siFXIb2-M3、siFXIc1-M1、siFXIc1-M2、siFXIc1-M3、siFXIc2-M1、

siFXIc2-M2、siFXIc2-M3、siFXId1-M1、siFXId1-M2、siFXId1-M3、siFXId2-M1、siFXId2-M2、siFXId2-M3、siFXIe1-M1、siFXIe1-M2、siFXIe1-M3、siFXIe2-M1、siFXIe2-M2、siFXIe2-M3、siFXIf1-M1、siFXIf1-M2、siFXIf1-M3、siFXIf2-M1、siFXIf2-M2、siFXIf2-M3、siFXIg1-M1、siFXIg1-M2、siFXIg1-M3、siFXIg2-M1、siFXIg2-M2、siFXIg2-M3、siFXIh1-M1、siFXIh1-M2、siFXIh1-M3、siFXIh2-M1、siFXIh2-M2、siFXIh2-M3、siFXIi1-M1、siFXIi1-M2、siFXIi1-M3、siFXIi2-M1、siFXIi2-M2和siFXIi2-M3中的任意一種；

或者，前述 siRNA 為表 1a 至表 1i 中所示的 siFXIa1-M1S、siFXIa1-M2S、siFXIa1-M3S、siFXIa2-M1S、siFXIa2-M2S、siFXIa2-M3S、siFXIa1-M1S1、siFXIa1-M2S1、siFXIa1-M3S1、siFXIa2-M1S1、siFXIa2-M2S1、siFXIa2-M3S1、siFXIb1-M1S、siFXIb1-M2S、siFXIb1-M3S、siFXIb2-M1S、siFXIb2-M2S、siFXIb2-M3S、siFXIc1-M1S、siFXIc1-M2S、siFXIc1-M3S、siFXIc2-M1S、siFXIc2-M2S、siFXIc2-M3S、siFXId1-M1S、siFXId1-M2S、siFXId1-M3S、siFXId2-M1S、siFXId2-M2S、siFXId2-M3S、siFXIe1-M1S、siFXIe1-M2S、siFXIe1-M3S、siFXIe2-M1S、siFXIe2-M2S、siFXIe2-M3S、siFXIf1-M1S、siFXIf1-M2S、siFXIf1-M3S、siFXIf2-M1S、siFXIf2-M2S、siFXIf2-M3S、siFXIg1-M1S、siFXIg1-M2S、siFXIg1-M3S、siFXIg2-M1S、siFXIg2-M2S、siFXIg2-M3S、siFXIh1-M1S、siFXIh1-M2S、siFXIh1-M3S、siFXIh2-M1S、siFXIh2-M2S、siFXIh2-M3S、siFXIi1-M1S、siFXIi1-M2S、siFXIi1-M3S、siFXIi2-M1S、siFXIi2-M2S 和 siFXIi2-M3S 中的任意一種；

或者，前述 siRNA 為表 1a 至表 1i 中所示的 siFXIa1-M1P1、siFXIa1-M2P1、siFXIa1-M3P1、siFXIa2-M1P1、siFXIa2-M2P1、siFXIa2-M3P1、siFXIa1-M1SP1、siFXIa1-M2SP1、siFXIa1-M3SP1、siFXIa2-M1SP1、siFXIa2-M2SP1、siFXIa2-M3SP1、siFXIb1-M1P1、siFXIb1-M2P1、siFXIb1-M3P1、siFXIb2-M1P1、siFXIb2-M2P1、siFXIb2-M3P1、siFXIb1-M1SP1、siFXIb1-M2SP1、siFXIb1-M3SP1、

siFXIb2-M1SP1、siFXIb2-M2SP1、siFXIb2-M3SP1、siFXIc1-M1P1、siFXIc1-M2P1、siFXIc1-M3P1、siFXIc2-M1P1、siFXIc2-M2P1、siFXIc2-M3P1、siFXIc1-M1SP1、siFXIc1-M2SP1、siFXIc1-M3SP1、siFXIc2-M1SP1、siFXIc2-M2SP1、siFXIc2-M3SP1、siFXId1-M1P1、siFXId1-M2P1、siFXId1-M3P1、siFXId2-M1P1、siFXId2-M2P1、siFXId2-M3P1、siFXId1-M1SP1、siFXId1-M2SP1、siFXId1-M3SP1、siFXId2-M1SP1、siFXId2-M2SP1、siFXId2-M3SP1、siFXIe1-M1P1、siFXIe1-M2P1、siFXIe1-M3P1、siFXIe2-M1P1、siFXIe2-M2P1、siFXIe2-M3P1、siFXIe1-M1SP1、siFXIe1-M2SP1、siFXIe1-M3SP1、siFXIe2-M1SP1、siFXIe2-M2SP1、siFXIe2-M3SP1、siFXIf1-M1P1、siFXIf1-M2P1、siFXIf1-M3P1、siFXIf2-M1P1、siFXIf2-M2P1、siFXIf2-M3P1、siFXIf1-M1SP1、siFXIf1-M2SP1、siFXIf1-M3SP1、siFXIf2-M1SP1、siFXIf2-M2SP1、siFXIf2-M3SP1、siFXIg1-M1P1、siFXIg1-M2P1、siFXIg1-M3P1、siFXIg2-M1P1、siFXIg2-M2P1、siFXIg2-M3P1、siFXIg1-M1SP1、siFXIg1-M2SP1、siFXIg1-M3SP1、siFXIg2-M1SP1、siFXIg2-M2SP1、siFXIg2-M3SP1、siFXIh1-M1P1、siFXIh1-M2P1、siFXIh1-M3P1、siFXIh2-M1P1、siFXIh2-M2P1、siFXIh2-M3P1、siFXIh1-M1SP1、siFXIh1-M2SP1、siFXIh1-M3SP1、siFXIh2-M1SP1、siFXIh2-M2SP1、siFXIh2-M3SP1、siFXIi1-M1P1、siFXIi1-M2P1、siFXIi1-M3P1、siFXIi2-M1P1、siFXIi2-M2P1、siFXIi2-M3P1、siFXIi1-M1SP1、siFXIi1-M2SP1、siFXIi1-M3SP1、siFXIi2-M1SP1、siFXIi2-M2SP1 和 siFXIi2-M3SP1 中的任意一種。

【請求項12】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA中，至少一個磷酸酯基為硫代磷酸酯基，並且前述硫代磷酸酯基連接存在於由以下位置組成的組中的至少一處：

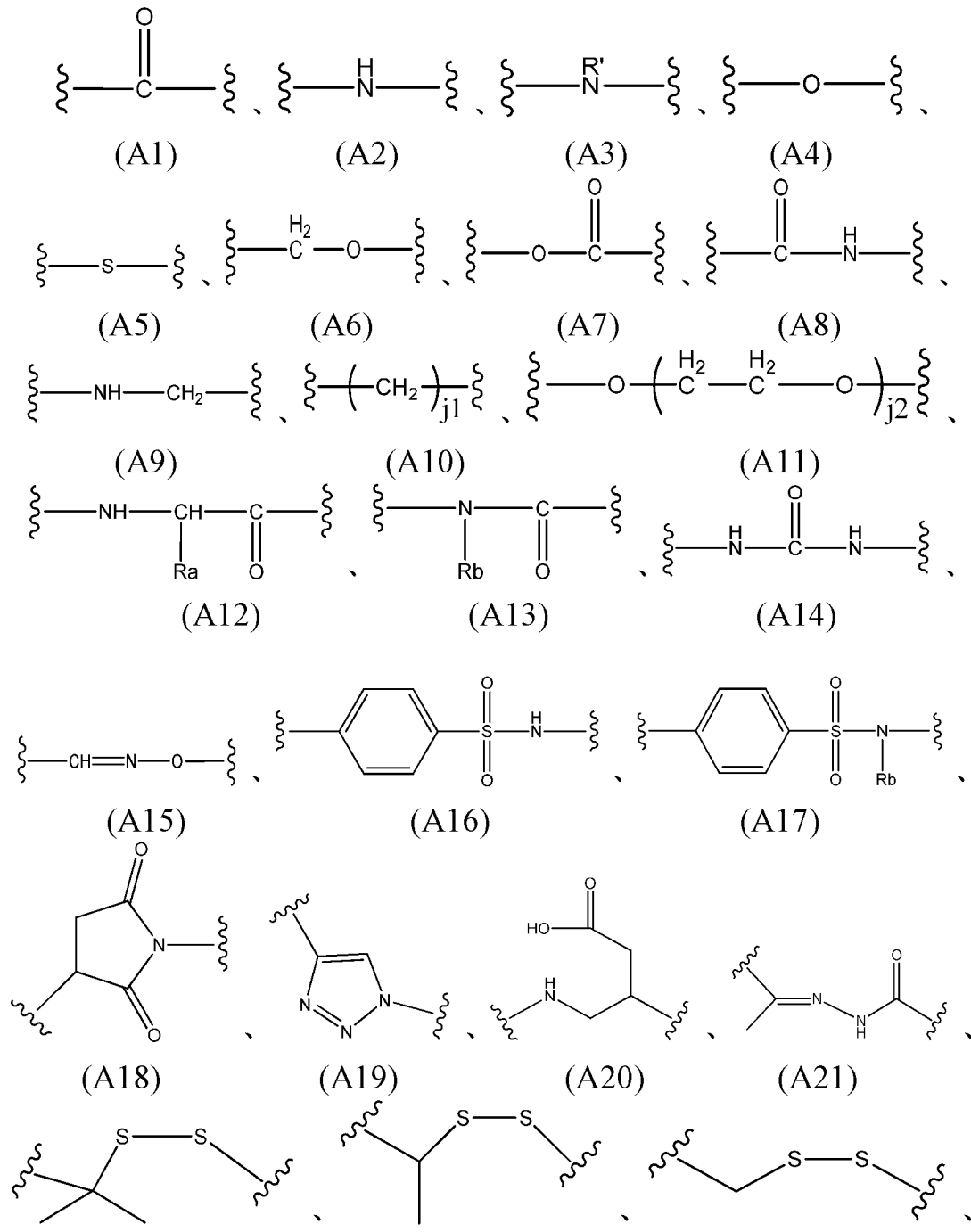
前述正義鏈的 5'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

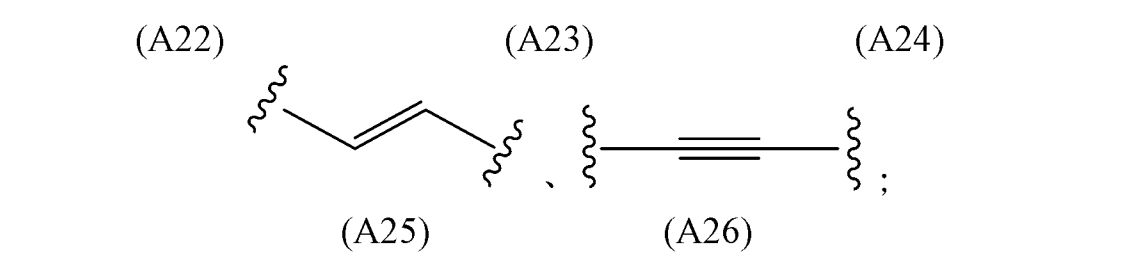
前述正義鏈的 5'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；

前述正義鏈的 3'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；

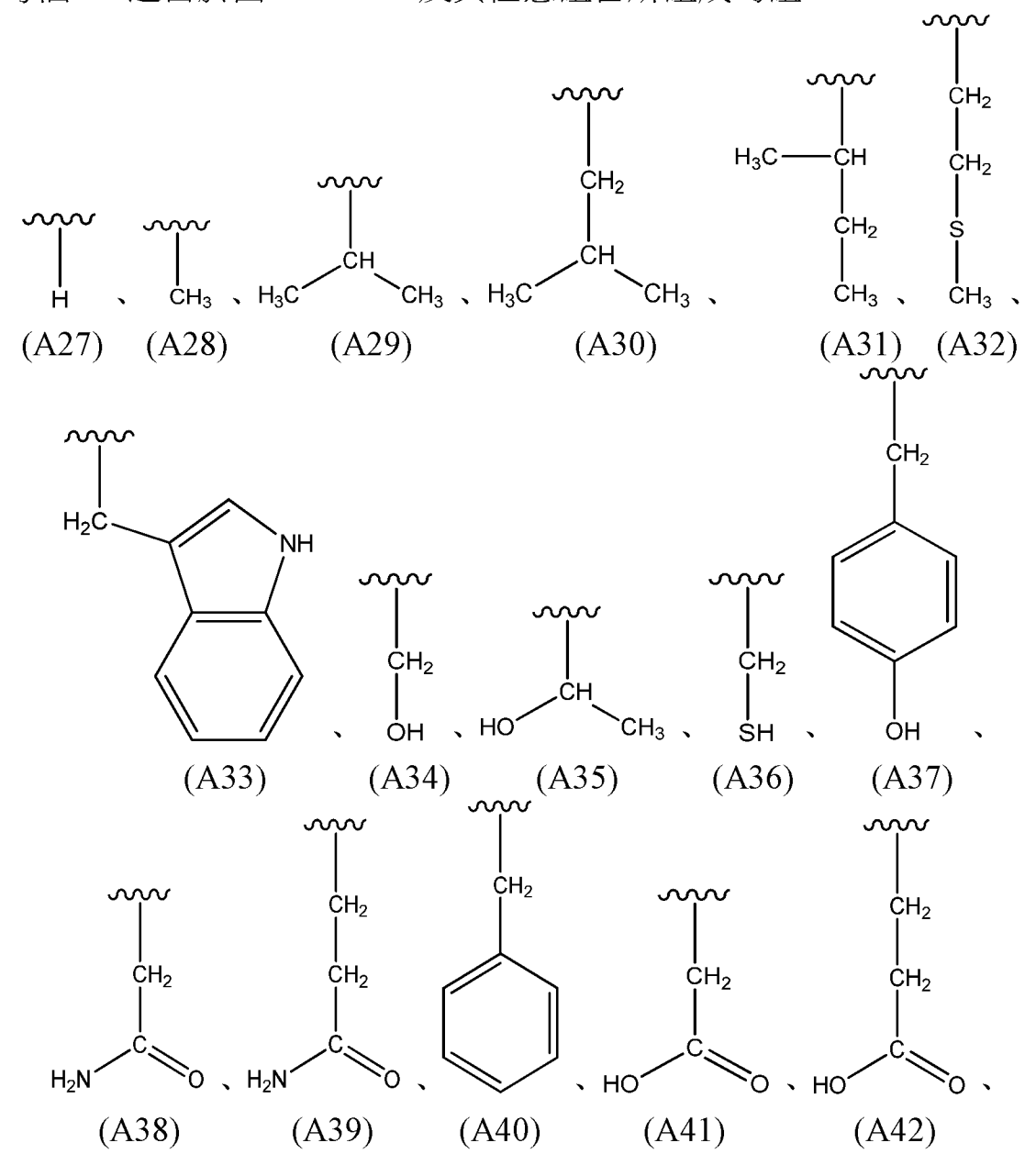
前述正義鏈的 3'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；  
前述反義鏈的 5'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；  
前述反義鏈的 5'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間；  
前述反義鏈的 3'末端第 1 個核苷酸和第 2 個核苷酸之間；以及  
前述反義鏈的 3'末端第 2 個核苷酸和第 3 個核苷酸之間。

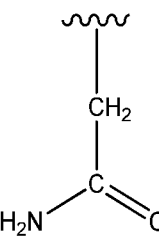
【請求項13】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，每個L<sub>1</sub>獨立地選自於由基團A1-A26基團及其任意組合所組成的組：



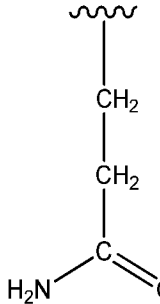


其中，每個 j1 獨立地為 1-20 的整數；  
每個 j2 獨立地為 1-20 的整數；  
每個 R'獨立地為 C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> 烷基；  
每個 Ra 選自於由 A27-A45 及其任意組合所組成的組：

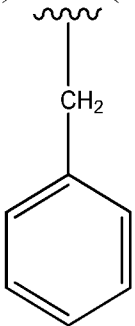




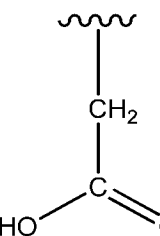
(A38)



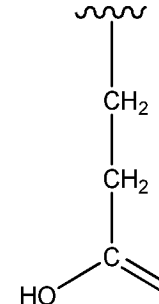
(A39)



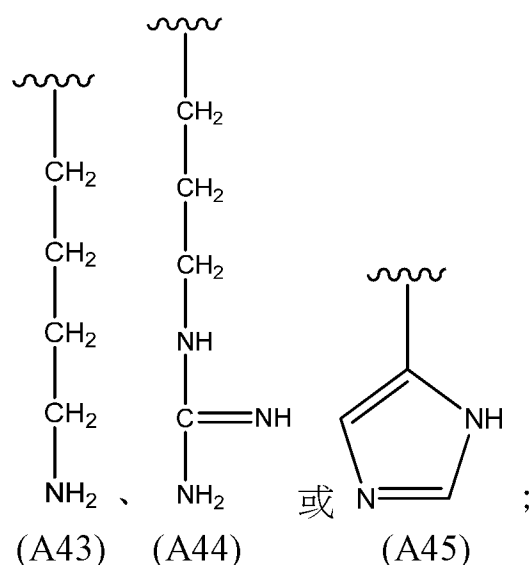
(A40)



(A41)



(A42)



每個 Rb 獨立地為  $\text{C}_1\text{-C}_{10}$  烷基；

~~~~~表示基團連接共價部分的位點。

【請求項14】如請求項13所記載之siRNA綴合物，其中， L_1 選自於由基團 A1、A4、A5、A6、A8、A10、A11、A13及其連接組合所組成的組；

或者， L_1 為基團A1、A4、A8、A10和A11中至少2個的連接組合。

【請求項15】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中， L_1 的長度為3-25個原子。

【請求項16】如請求項15所記載之siRNA綴合物，其中， L_1 的長度為4-15個原子。

【請求項17】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，每個m1、m2和m3各自獨立地為2-5的整數；

或者， $\text{m1}=\text{m2}=\text{m3}$ 。

【請求項18】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，每個前述靶向基團獨立地為與哺乳動物肝細胞表面的去唾液酸糖蛋白受體親和的配體；

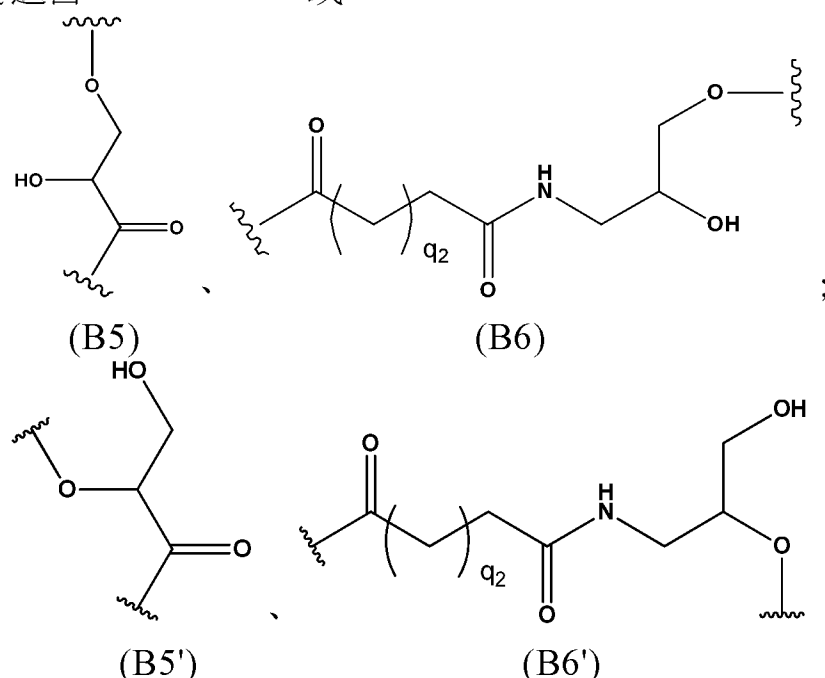
或者，每個前述靶向基團獨立地選自 D-吡喃甘露糖、L-吡喃甘露糖、D-阿拉伯糖、D-呋喃木糖、L-呋喃木糖、D-葡萄糖、L-葡萄糖、D-半乳糖、L-半乳糖、 $\alpha\text{-D}$ -呋喃甘露糖、 $\beta\text{-D}$ -呋喃甘露糖、 $\alpha\text{-D}$ -吡喃甘露糖、 $\beta\text{-D}$ -吡喃甘露糖、 $\alpha\text{-D}$ -吡喃葡萄糖、 $\beta\text{-D}$ -吡喃葡萄糖、 $\alpha\text{-D}$ -呋喃葡萄糖、 $\beta\text{-D}$ -呋喃葡萄糖、 $\alpha\text{-D}$ -呋喃果

糖、 α -D-吡喃果糖、 α -D-吡喃半乳糖、 β -D-吡喃半乳糖、 α -D-呋喃半乳糖、 β -D-呋喃半乳糖、葡糖胺、唾液酸、半乳糖胺、N-乙醯半乳糖胺、N-三氟乙醯半乳糖胺、N-丙醯半乳糖胺、N-正丁醯半乳糖胺、N-異丁醯半乳糖胺、2-氨基-3-O-[(R)-1-羧乙基]-2-去氧- β -D-吡喃葡萄糖、2-去氧-2-甲基氨基-L-吡喃葡萄糖、4,6-二去氧-4-甲醯胺基-2,3-二-O-甲基-D-吡喃甘露糖、2-去氧-2-磺氨基-D-吡喃葡萄糖、N-乙醇醯基- α -神經氨酸、5-硫代- β -D-吡喃葡萄糖、2,3,4-三-O-乙醯基-1-硫代-6-O-三苯甲基- α -D-吡喃葡萄糖苷甲酯、4-硫代- β -D-吡喃半乳糖、3,4,6,7-四-O-乙醯基-2-去氧-1,5-二硫代- α -D-吡喃葡庚糖苷乙酯、2,5-脫水-D-阿洛糖腈、核糖、D-核糖、D-4-硫代核糖、L-核糖、L-4-硫代核糖中的一種。

【請求項19】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中， R_2 上同時含有與含氮骨架上的N原子連接的連接位點和與 R_3 中的P原子連接的連接位點；

並且， R_2 上前述與含氮骨架上的 N 原子連接的連接位點與 N 形成醯胺鍵，前述與 R_3 中的 P 原子連接的連接位點與 P 形成磷酸酯鍵；

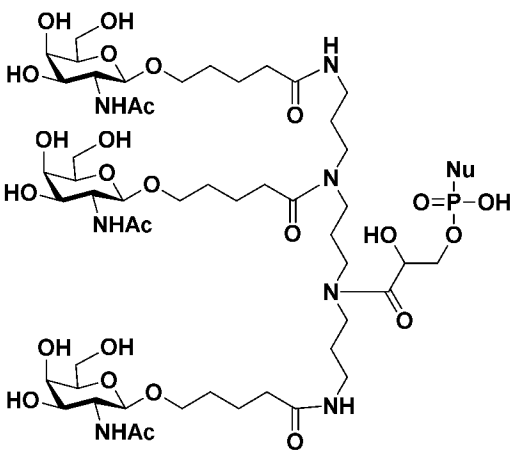
或者， R_2 選自 B5、B6、B5'或 B6'：



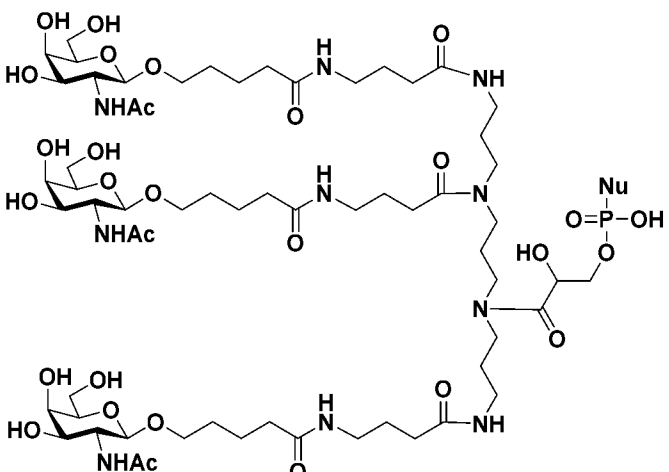
其中，表示基團共價連接的位點， q_2 為 1-10 的整數。

【請求項20】如請求項1所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA綴合

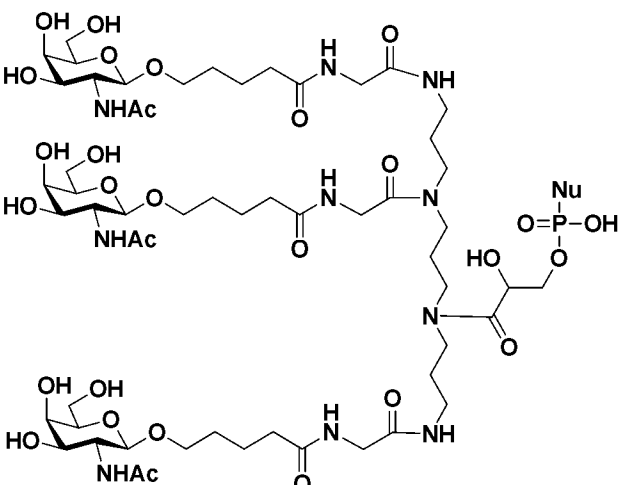
物具有式(403)、(404)、(405)、(406)、(407)、(408)、(409)、(410)、(411)、(412)、(413)、(414)、(415)、(416)、(417)、(418)、(419)、(420)、(421)或(422)所示的結構：



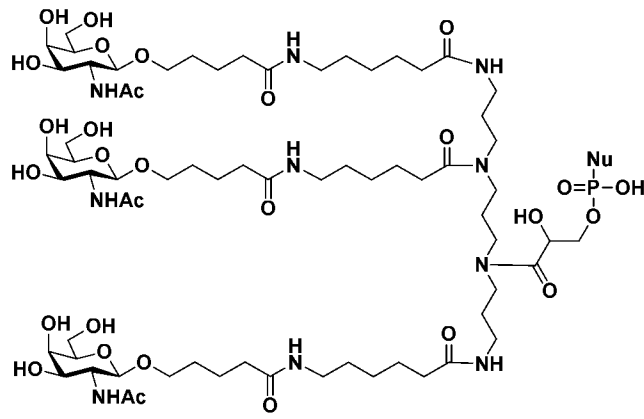
式(403)



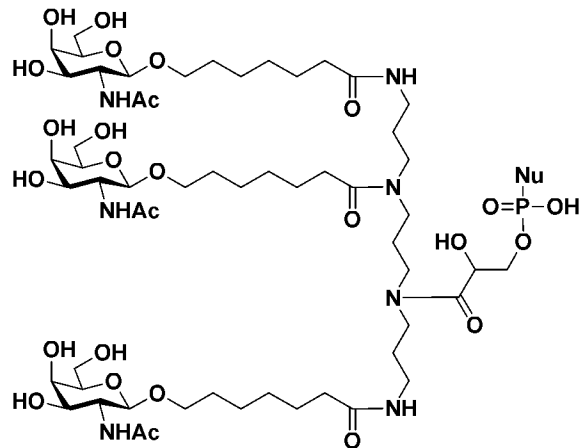
式(404)



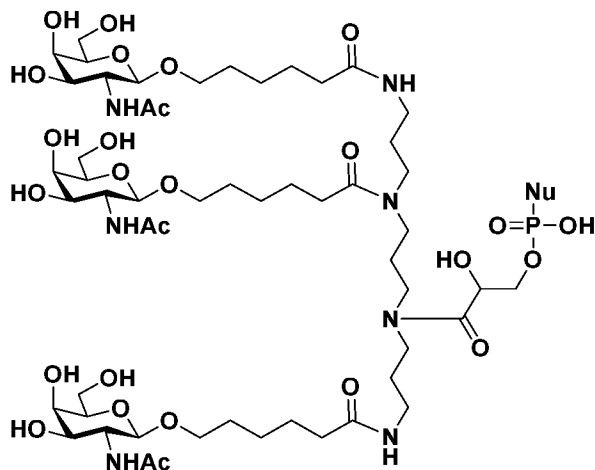
式(405)



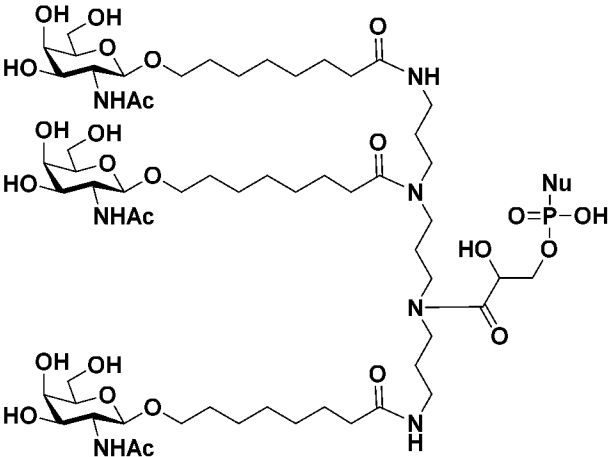
式(406)



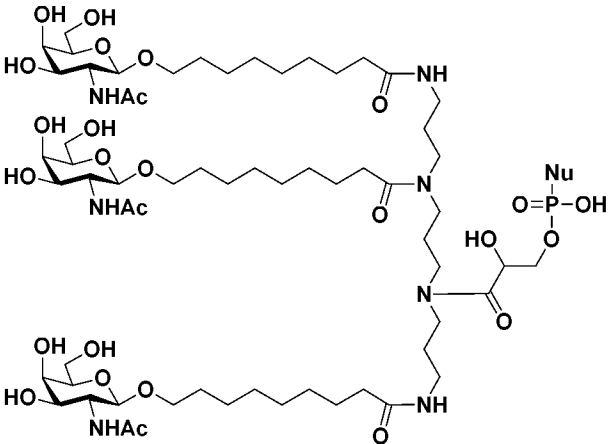
式(407)



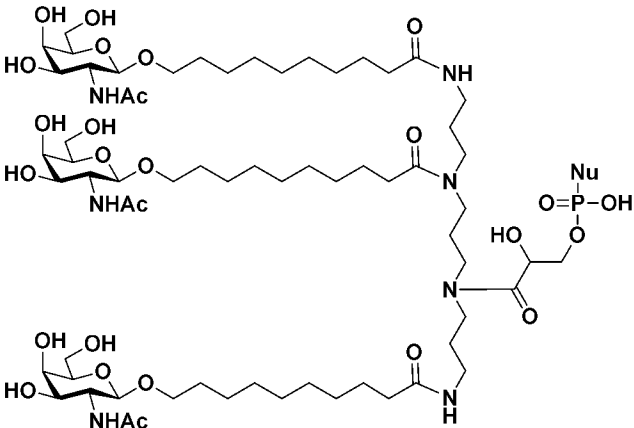
式(408)



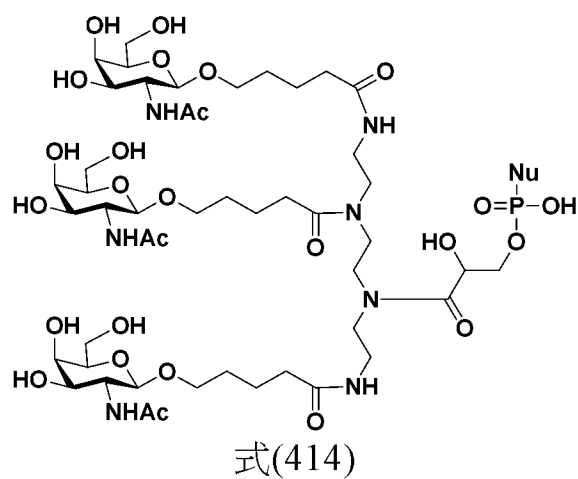
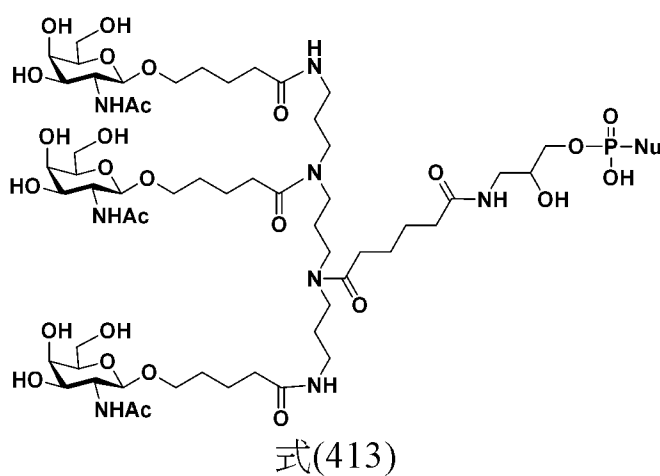
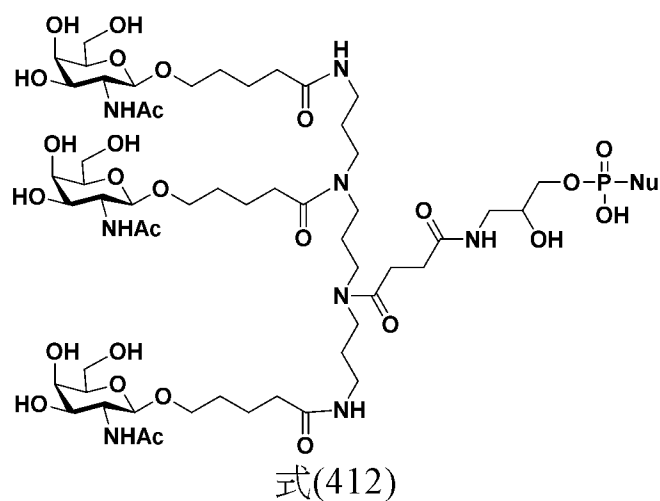
式(409)

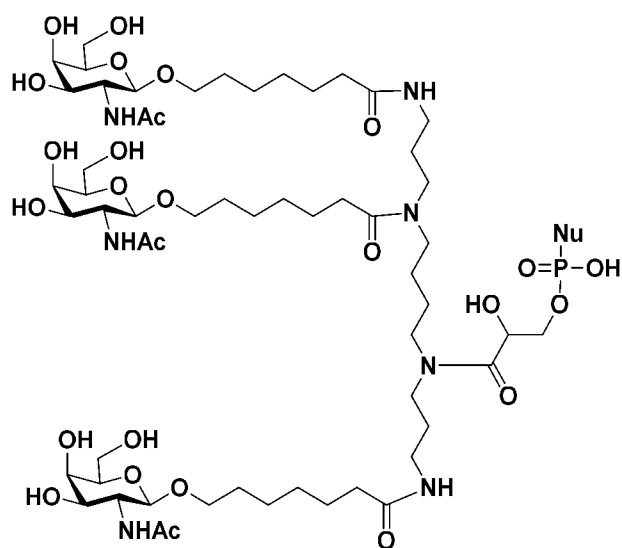


式(410)

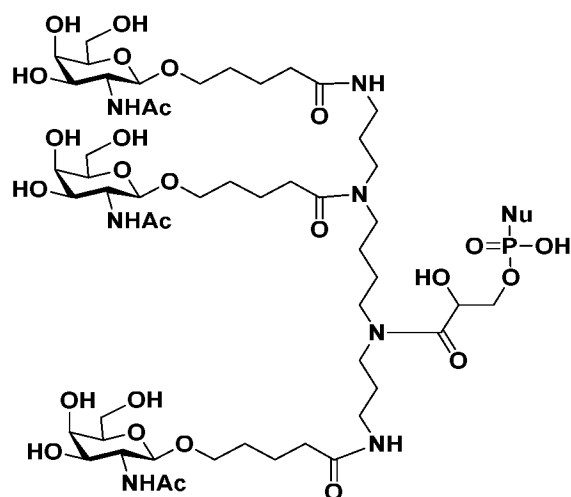


式(411)

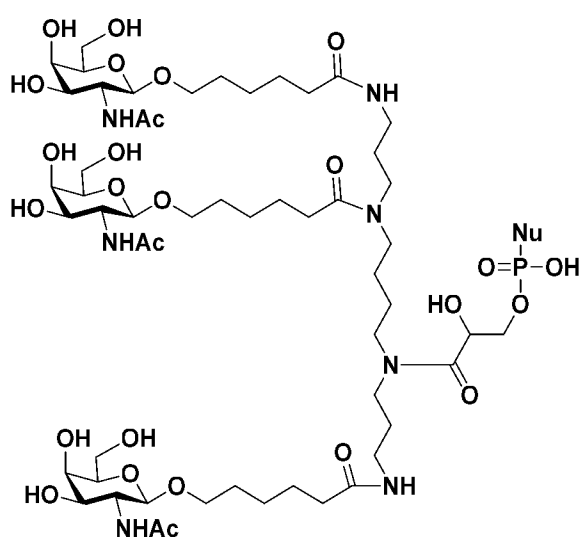




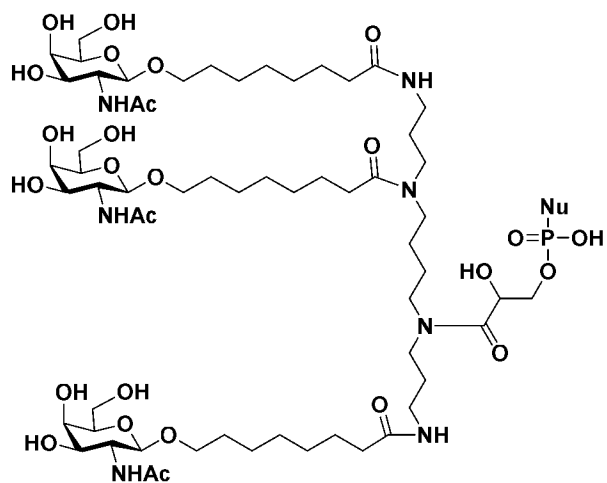
式(415)



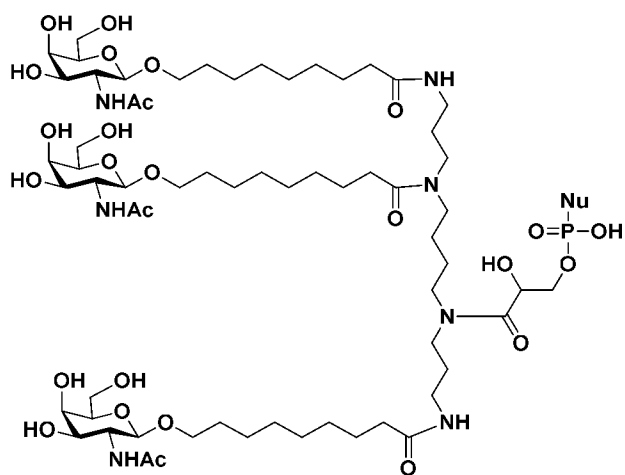
式(416)



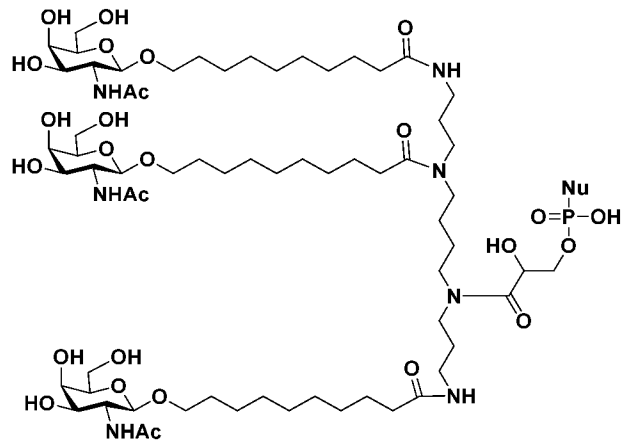
式(417)



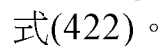
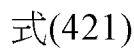
式(418)



式(419)



式(420)



【請求項22】如請求項21所記載之siRNA綴合物，其中，前述siRNA綴合物為L10-siFXIf1M1S，L10具有式(403)所述的結構，siFXIf1M1S中的正義鏈為SEQ ID NO: 541所示的核苷酸序列，siFXIf1M1S中的反義鏈為SEQ ID NO: 542所示的核苷酸序列：

5'-CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm-

3'(SEQ ID NO: 542)。

【請求項23】一種如請求項1至22中任一項所記載之siRNA綴合物在製備用於治療和/或預防血栓性疾病和/或缺血性卒中的藥物的用途。

【請求項24】一種如請求項1至22中任一項所記載之siRNA綴合物在製備用於抑制凝血因子XI基因表達中的藥物的用途。