



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0038369

(51)¹⁹ C07K 14/00; C12N 15/113

(13) B

(21) 1-2019-07468

(22) 19/07/2018

(86) PCT/KR2018/008143 19/07/2018

(87) WO/2019/022434 31/01/2019

(30) 10-2017-0093605 24/07/2017 KR; 10-2017-0167558 07/12/2017 KR

(45) 25/01/2024 430

(43) 20/11/2023 388

(73) OliPass Corporation (KR)

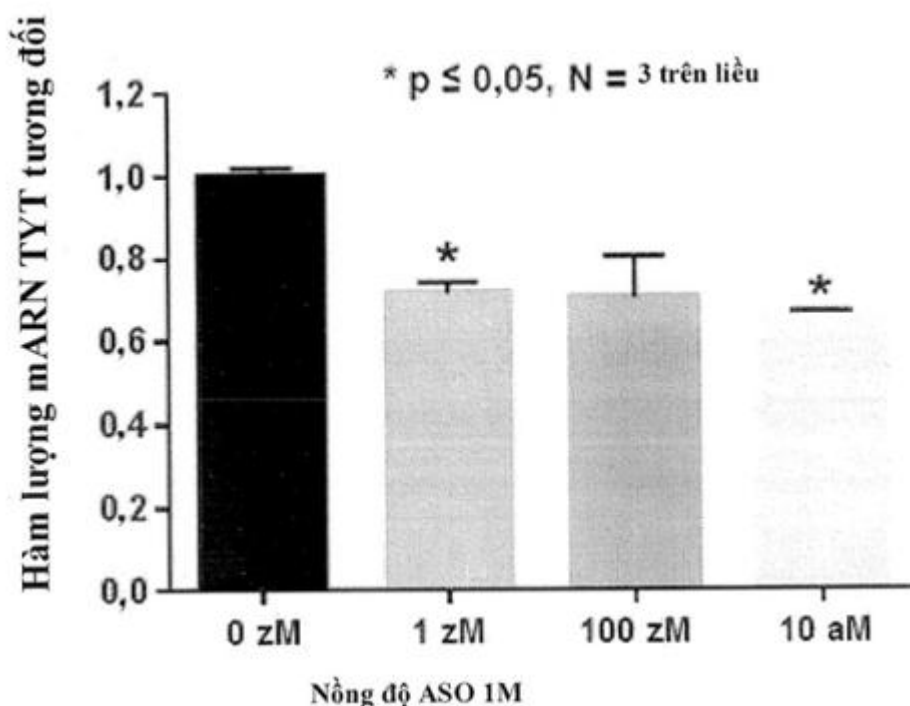
20th Floor, ACE Dongbaek Tower, 16-4, Dongbaekjungang-ro 16beon-gil, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 17015, Republic of Korea

(72) JUNG, Daram (KR); PARK, Hye Mi (KR); HAN, Seon-Young (KR); KIM, Soyoung (KR).

(74) Văn phòng Luật sư Ân Nam (ANNAM IP & LAW)

(54) DẪN XUẤT AXIT NUCLEIC PEPTIT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA DẪN XUẤT AXIT NUCLEIC PEPTIT NÀY

(57) Sáng chế đề xuất dẫn xuất axit nucleic peptit hướng đích vùng cắt nối 3' của tiền mARN tyrosinaza của người. Dẫn xuất axit nucleic peptit có khả năng gây ra biến thể cắt nối của mARN tyrosinaza của người ở tế bào, và hữu dụng để điều trị một cách an toàn triệu chứng hoặc tình trạng của da có liên quan đến protein tyrosinaza của người khi dùng tại chỗ.



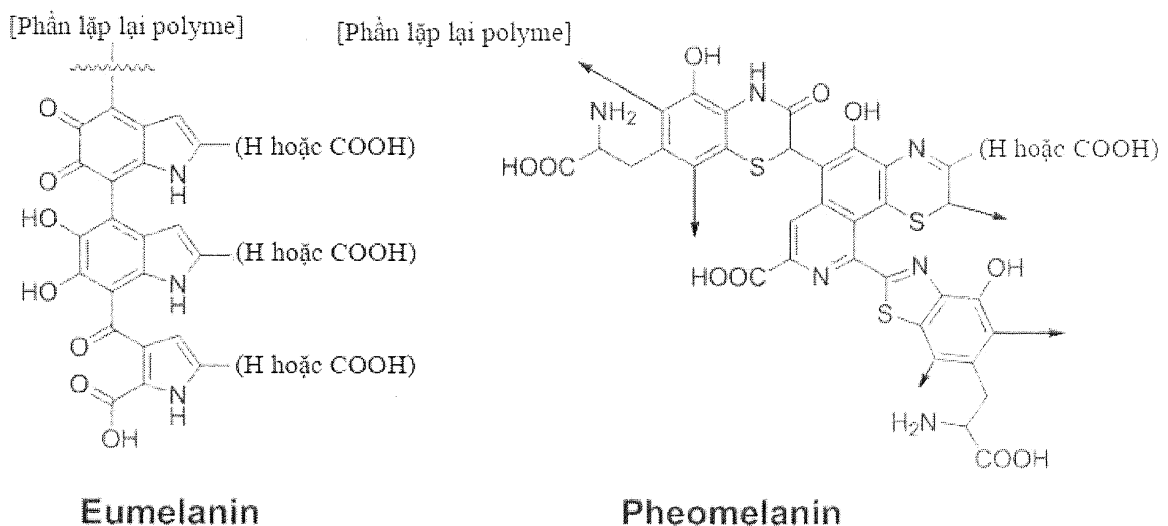
Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến dẫn xuất axit nucleic peptit hướng đích bổ sung với tiền mARN tyrosinaza của người để cải thiện sắc tố da qua trung gian tyrosinaza.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Hắc tố melanin gọi chung là các sắc tố polyme tự nhiên tối màu được tạo ra trong các sinh vật sống. Có ba loại hắc tố, cụ thể là, eumelanin, pheomelanin và neuromelanin. Eumelanin và pheomelanin được tổng hợp ở da. Trong khi đó, neuromelanin là hắc tố được tìm thấy ở não, và các đặc tính sinh lý của nó vẫn chưa được làm sáng tỏ.

Hắc tố ở da hấp thụ hiệu quả bức xạ UV (tia cực tím - ultra-violet), và bảo vệ động vật khỏi bức xạ UV (tia cực tím) trong ánh nắng tự nhiên. Do đó sạm da do nắng là quá trình tự nhiên để động vật tự bảo vệ mình khỏi bức xạ UV trong ánh sáng mặt trời.

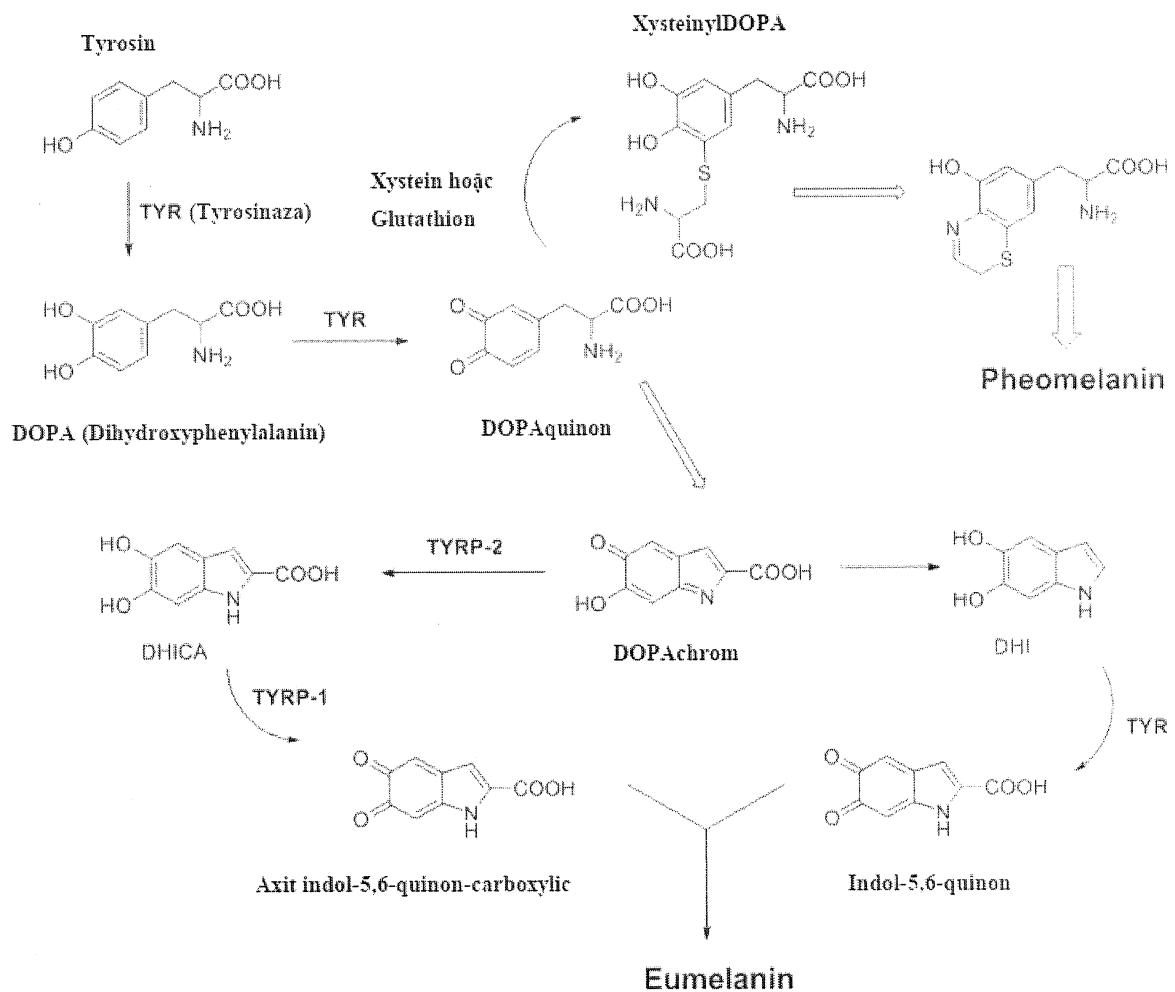


Tyrosin axit amin trùng hợp eumelanin sau một loạt phản ứng phức tạp khi có mặt tyrosinaza. Eumelanin chỉ các polyme 5,6-dihydroxyindol (DHI) và axit

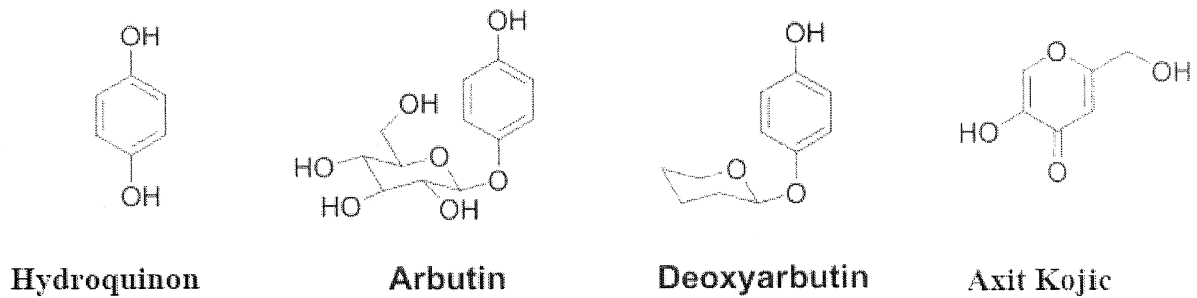
5,6-dihydroxyindol-2-carboxylic (DHICA). Pheomelanin được tạo thành khi tyrosin được trùng hợp bởi tyrosinaza khi có mặt xystein hoặc glutathion.

Sơ đồ 1 tóm tắt các phản ứng bao gồm TYR (tyrosinaza), TYRP-1 (protein liên quan đến tyrosinaza 1, tức là DHICA oxidaza) và TYRP-2 (protein liên quan đến tyrosinaza 2, tức là DOPAcrom tautomeraza) trong sinh tổng hợp eumelanin và pheomelanin. [Int. J. Mol. Sci. vol 10, 4066-4087 (2009)].

Sơ đồ 1



Cho rằng tyrosinaza (TYR) đóng vai trò trung tâm trong sinh tổng hợp sắc tố ở da, chất ức chế TYR đã được sử dụng hoặc được phát triển làm thành phần mỹ phẩm để giảm sự tạo thành sắc tố da quá mức, tức là sự tăng sắc tố da. Chất ức chế TYR đã được xem xét về hiệu quả của chúng dựa vào quá trình tạo thành sắc tố ở một số bài báo. [Int. J. Cosmetic Sci. vol 33, 210-221 (2011); Int. J. Mol. Sci. vol 10, 2440-2475 (2009)].



Hydroquinon (1,4-dihydroxybenzen) đã được sử dụng để điều trị tại chỗ chứng tăng sắc tố da trong nhiều thập kỷ. [JAMA vol 194(9), 965-967 (1965)]. Hydroquinon được biết đến là ức chế hoạt tính TYR bằng cách liên kết với vùng hoạt động của tyrosinaza. Vào năm 2006, FDA Hoa Kỳ đã hủy bỏ giấy phép đã cấp trước đó cho tất cả các sản phẩm được bán không cần kê đơn (OTC - over-the-counter) chứa hydroquinon do các vấn đề về độ an toàn bao gồm việc tạo ra chất có khả năng gây ung thư. Hydroquinon bao gồm ROS (loại oxy phản ứng - reactive oxygen species) phá hủy lipid và protein màng bao gồm tyrosinaza. Việc phá hủy lipid màng có mặt oxy làm mất vĩnh viễn tế bào biểu bì tạo hắc tố.

Arbutin (hydroquinon-O-β-D-glucopyranosit) là hydroquinon được glycosyl hóa được chiết từ cây dâu gấu. Arbutin còn được tìm thấy ở vỏ lúa mì và vỏ lê. Giống như hydroquinon, arbutin ức chế sự tạo thành hắc tố bởi liên kết cạnh tranh với vùng hoạt động của TYR. [J. Pharmacol. Exp. Ther. vol 276(2), 765-769 (1996)]. Arbutin ít gây độc tế bào đối với tế bào biểu bì tạo hắc tố hơn hydroquinon.

Deoxyarbutin là dẫn xuất tổng hợp của arbutin, và có thể so sánh với hydroquinon và arbutin về hoạt tính ức chế TYR. Deoxyarbutin cũng ít gây độc tế bào đối với tế bào biểu bì tạo hắc tố hơn arbutin và hydroquinon. [J. Dermatol. Sci. vol 55(3), 179-184 (2009)]. Deoxyarbutin cải thiện đáng kể độ sáng của da ở đối tượng người được điều trị tại chỗ trong 12 tuần. [Exp. Dermatol. vol 14(8), 601-608 (2005)].

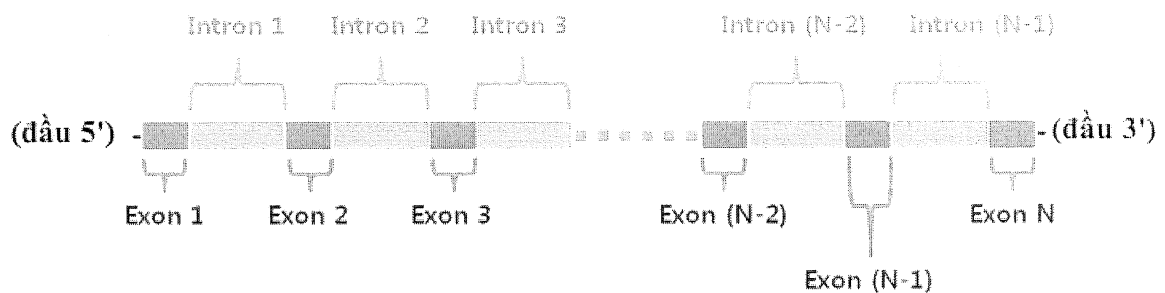
Axit kojic là chất tạo vòng càng được tạo ra trong quá trình lên men của nấm để sản xuất nước tương và rượu sakê, tức là rượu gạo Nhật. Axit kojic đã được sử dụng để duy trì hoặc thay đổi màu sắc trong thực phẩm và mỹ phẩm. Axit kojic tạo vòng càng với ion đồng trong vùng hoạt động của TYR để ức chế sự tạo thành hắc tố. Sự hỗn biến hóa DOPAcrom cũng được ngăn chặn đối với axit

5,6-dihydroxyindol-2-carboxylic. [J. Pharm. Pharmacol. vol 46(12), 982-985 (1994)]. Axit kojic đã được sử dụng phổ biến để điều trị chứng sạm da, mặc dù có thể bao gồm viêm da tiếp xúc, da nhạy cảm và ban đỏ. [J. Drugs Dermatol. vol 6(1), 32-39 (2007)].

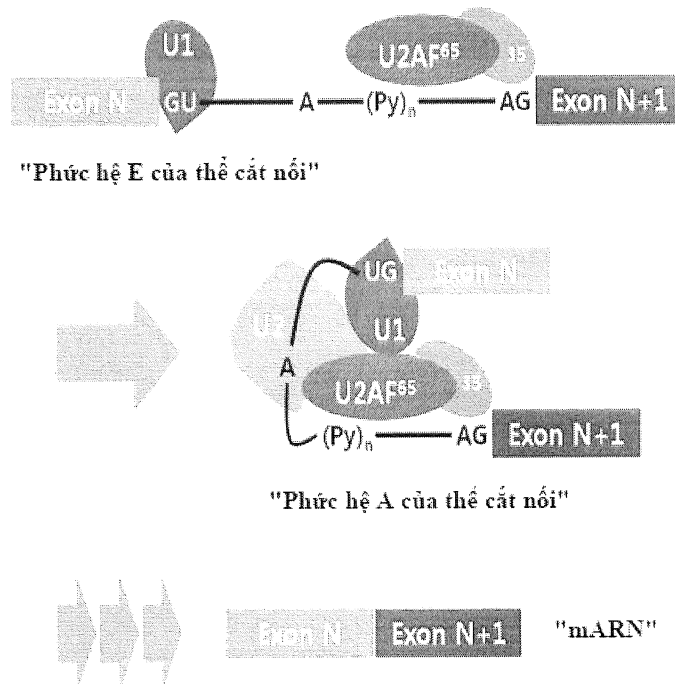
Mặc dù có nhiều loại chất ức chế TYR, giá trị IC_{50} của chúng đối với TYR trong hầu hết trường hợp là micromol (μM). [J. Enzyme Inhibition Med. Chem. vol 32(1), 403-425 (2017)]. Các giá trị IC_{50} này được cho là kém khi xem xét đến kích thước phân tử của chúng, và tăng khả năng phản ứng chéo với (các) đích phân tử khác. Bởi vì hoạt tính ức chế kém tương đương với liều qua da lớn, khả năng ức chế cần được cải thiện đáng kể để đạt được hoạt tính qua da mong muốn dựa vào sự tạo thành sắc tố da cũng như độ an toàn.

Tiền mRNA: Thông tin di truyền được mang trên ADN (axit nucleic 2-deoxyriboza). ADN được phiên mã để tạo ra tiền mRNA (tiền axit ribonucleic thông tin) trong nhân. Tiền mRNA của động vật có vú thường bao gồm exon và intron, và exon và intron được nối với nhau như sơ đồ sau. Exon và intron được đánh số như được minh họa ở hình vẽ dưới đây.

Sơ đồ thể hiện cấu trúc tiền mRNA



Cắt nối tiền mRNA: Tiền mRNA được xử lý thành mRNA sau khi loại bỏ intron bởi một loại phản ứng phức tạp được gọi chung là “cắt nối” được tóm tắt ở sơ đồ sau đây. [Ann. Rev. Biochem. 72(1), 291-336 (2003); Nature Rev. Mol. Cell Biol. 6(5), 386-398 (2005); Nature Rev. Mol. Cell Biol. 15(2), 108-121 (2014)].



Cắt nối được bắt đầu bằng việc tạo thành “phức hệ E của thể cắt nối” (tức là, phức hệ của thể cắt nối sớm) giữa tiền mARN và yếu tố điều chỉnh cắt nối. Ở “phức hệ E của thể cắt nối”, U1 liên kết với đoạn nối của exon N và intron N, và U2AF³⁵ liên kết với đoạn nối của intron N và exon (N+1). Do đó, các đoạn nối của exon/intron hoặc intron/exon là rất quan trọng trong việc tạo thành phức hệ của thể cắt nối sớm. “Phức hệ E của thể cắt nối” trở thành “phức hệ A của thể cắt nối” khi tạo phức với U2. “Phức hệ A của thể cắt nối” trải qua một loạt phản ứng phức tạp để loại bỏ hoặc cắt intron để nối vào exon liền kề.

Tổng hợp protein ribosom: Protein được mã hóa bởi ADN (axit nucleic 2-deoxyriboza). Trong đáp ứng với sự kích thích tế bào hoặc tự phát, ADN được phiên mã để tạo ra tiền mARN (tiền axit ribonucleic thông tin) trong nhân. Intron của tiền mARN được cắt nối bằng enzym để thu được mARN (axit ribonucleic thông tin), sau đó mARN này được chuyển đến tế bào chất. Trong tế bào chất, phức hệ của bộ máy dịch mã được gọi là ribosom liên kết với mARN và thực hiện tổng hợp protein bởi vì nó quét thông tin di truyền được mã hóa dọc theo mARN. [Biochemistry vol 41, 4503-4510 (2002); Cancer Res. vol 48, 2659-2668 (1988)].

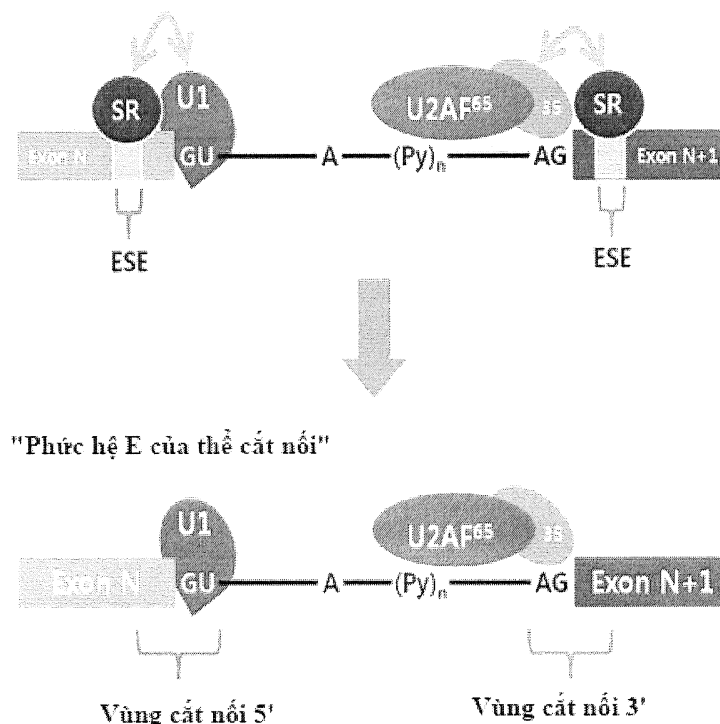
Oligonucleotit đối nghĩa (ASO): Oligonucleotit liên kết với axit nucleic bao gồm ADN, mARN và tiền mARN theo cách đặc hiệu trình tự (tức là bổ sung) được gọi là oligonucleotit đối nghĩa (ASO).

Nếu ASO liên kết chặt chẽ với mARN trong tế bào chất, ví dụ, ASO có thể ức chế tổng hợp protein ribosom dọc theo mARN. ASO cần có mặt trong tế bào chất để ức chế sự tổng hợp protein ribosom của protein đích của nó.

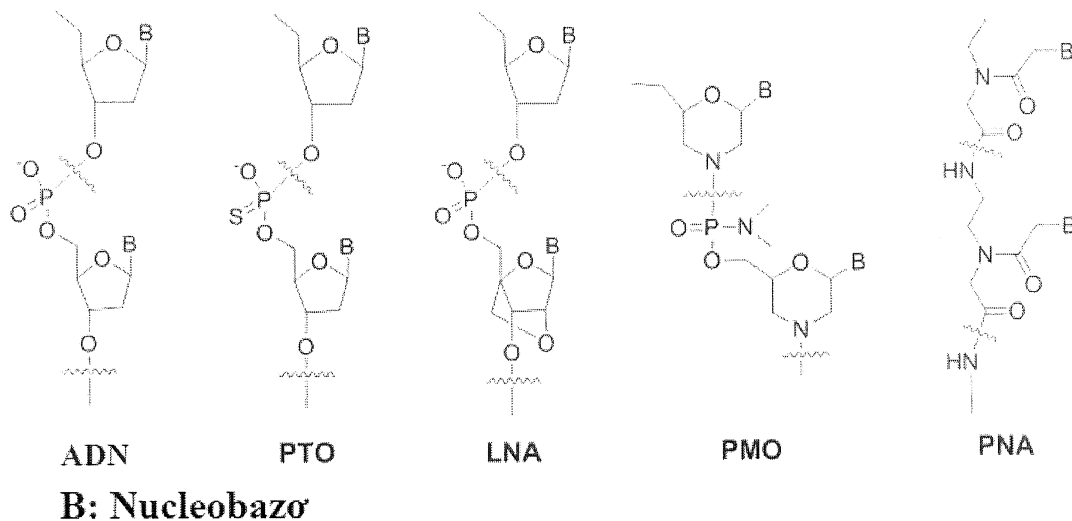
Ức chế đối nghĩa việc cắt nối: Nếu ASO liên kết chặt chẽ với tiền mARN trong nhân, thì ASO có thể có khả năng ức chế hoặc điều hòa sự cắt nối của tiền mARN thành mARN. ASO cần có mặt trong nhân để ức chế hoặc điều hòa sự cắt nối của tiền mARN thành mARN. Ức chế đối nghĩa sự cắt nối này tạo ra mARN hoặc mARN thiếu exon được hướng đích bởi ASO. (Các) mARN này được gọi là “(các) biến thể cắt nối”, và mã hóa (các) protein nhỏ hơn protein được mã hóa bởi mARN có độ dài đầy đủ.

Về lý thuyết, việc cắt nối có thể bị gián đoạn bởi việc ức chế sự tạo thành “phức hệ E của thể cắt nối”. Nếu ASO liên kết chặt chẽ với đoạn nối của (5' → 3') exon-intron, tức là “vùng cắt nối 5’”, thì ASO ức chế sự tạo thành phức hệ giữa tiền mARN và yếu tố U1, và do đó ức chế sự tạo thành “phức hệ E của thể cắt nối”. Tương tự, “phức hệ E của thể cắt nối” không thể được tạo thành nếu ASO liên kết chặt chẽ với đoạn nối của (5' → 3') intron-exon, tức là “vùng cắt nối 3’”.

Vùng cắt nối 3' và vùng cắt nối 5' được minh họa bằng sơ đồ ở hình vẽ dưới đây.



Oligonucleotit phi tự nhiên: Oligonucleotit ADN hoặc ARN dễ bị phân giải bởi nucleaza nội sinh, làm hạn chế tác dụng điều trị của chúng. Cho đến nay, có nhiều loại oligonucleotit phi tự nhiên (không tồn tại trong tự nhiên) được phát triển và nghiên cứu chuyên sâu. [Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. vol 33, 533-540 (2006)]. Một số trong số chúng thể hiện độ ổn định chuyển hóa mở rộng so với ADN và ARN. Các cấu trúc hóa học của một số oligonucleotit phi tự nhiên tiêu biểu được trình bày dưới đây. Các oligonucleotit này được dự đoán là có liên kết với axit nucleic bổ sung giống như ADN hoặc ARN liên kết.



Oligonucleotit phosphothioat: Oligonucleotit phosphothioat (PTO) là chất tương tự ADN với một nguyên tử oxy photphat mạch khung được thay thế với nguyên tử lưu huỳnh trên mỗi đơn phân. Sự thay đổi cấu trúc nhỏ này làm PTO tương đối bền đối với sự phân hủy bởi nucleaza. [Ann. Rev. Biochem. vol 54, 367-402 (1985)].

Phản ánh độ tương đồng về cấu trúc tron mạch khung của PTO và ADN, chúng đều thâm nhập kém qua màng tế bào ở hầu hết các loại tế bào của động vật có vú. Tuy nhiên, đối với một số loại tế bào biểu hiện nhiều chất vận chuyển của ADN, ADN và PTO khả năng thâm nhập tế bào tốt. PTO dùng toàn thân đã được biết đến là dễ dàng phân phối đến gan và thận. [Nucleic Acids Res. vol 25, 3290-3296 (1997)].

Để tăng khả năng thâm nhập tế bào của PTO, chuyển nạp dựa vào lipit đã được áp dụng rộng rãi trong thực tế. Tuy nhiên, chuyển nạp dựa vào lipit biến đổi vật lý màng tế bào, gây độc tế bào, và do đó không phải là cách lý tưởng để dùng trong một khoảng thời gian dài khi sử dụng để trị in vivo.

Qua hơn 30 năm, PTO đối nghĩa và biến thể của PTO đã được đánh giá lâm sàng để điều trị bệnh ung thư, rối loạn miễn dịch, bệnh chuyển hóa, v.v.. [Biochemistry vol 41, 4503-4510 (2002); Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. vol 33, 533-540 (2006)].

Nhiều loại thuốc đối nghĩa thử nghiệm này không được phát triển thành công, một phần là do khả năng thâm nhập tế bào kém của PTO. Để giải quyết việc thâm nhập tế bào kém, PTO cần được dùng ở liều cao để có hoạt tính trị liệu. Tuy nhiên, PTO được biết là có liên quan đến tính độc giới hạn liều bao gồm thời gian đông tụ tăng, hoạt hóa bổ thể, bệnh thận tế bào ống, hoạt hóa tế bào Kupffer, và kích thích miễn dịch bao gồm chứng to lá lách, tăng sản bạch huyết, xâm nhập tế bào đơn nhân. [Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. vol 33, 533-540 (2006)].

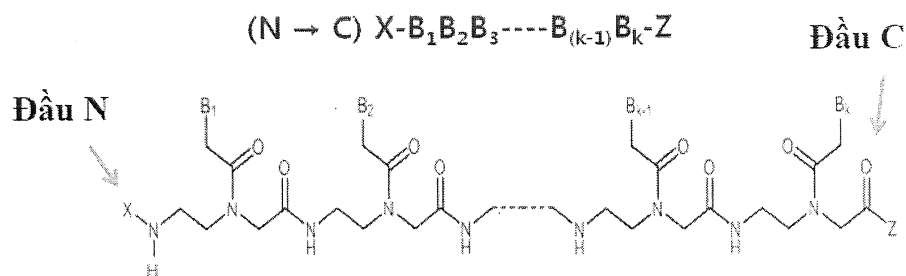
Nhiều PTO đối nghĩa đã được tìm thấy là có hoạt tính lâm sàng phù hợp với các bệnh có sự đóng góp đáng kể của gan hoặc thận. Mipomersen là chất tương tự PTO ức chế sự tổng hợp của apoB-100, protein được bao gồm trong vận chuyển cholesterol LDL. Mipomersen thể hiện hoạt tính lâm sàng phù hợp ở bệnh nhân mắc chứng xơ vữa động mạch hầu hết là do sự phân bố ưu tiên ở gan. [Circulation vol 118(7), 743-753 (2008)]. ISIS-113715 là chất tương tự đối nghĩa của PTO ức chế sự tổng hợp của protein tyrosin phosphatase 1B (PTP1B), và được phát hiện là thể hiện hoạt tính trị liệu ở bệnh nhân mắc bệnh tiểu đường typ II. [Curr. Opin. Mol. Ther. vol 6, 331-336 (2004)].

Axit nucleic bị chặn: Ở axit nucleic bị chặn (locked nucleic acid - LNA), vòng ribosa mạch khung của ARN bị gây trở ngại về mặt cấu trúc để tăng ái lực liên kết đối với ARN hoặc ADN. Do đó, LNA có thể được xem như là chất tương tự ADN hoặc ARN có ái lực cao. [Biochemistry vol 45, 7347-7355 (2006)].

Phosphodi amidat Morpholino oligonucleotit: Ở phosphodi amidat morpholino oligonucleotit (PMO), photphat và 2-deoxyriboza mạch khung của ADN được thay thế với phosphoramidat và morpholin tương ứng. [Appl. Microbiol. Biotechnol. vol 71, 575-586 (2006)]. Trong khi mạch khung ADN mang điện tích âm, mạch khung PMO lại không mang điện tích. Do đó, sự liên kết giữa PMO và mARN không có lực đẩy tĩnh điện giữa các mạch khung, và có xu hướng mạnh hơn liên kết giữa ADN và

mARN. Bởi vì PMO rất khác về mặt cấu trúc với ADN, PMO không được nhận ra bởi (các) chất vận chuyển gan nhận diện ADN hoặc ARN. Tuy nhiên, PMO không dễ thâm qua màng tế bào.

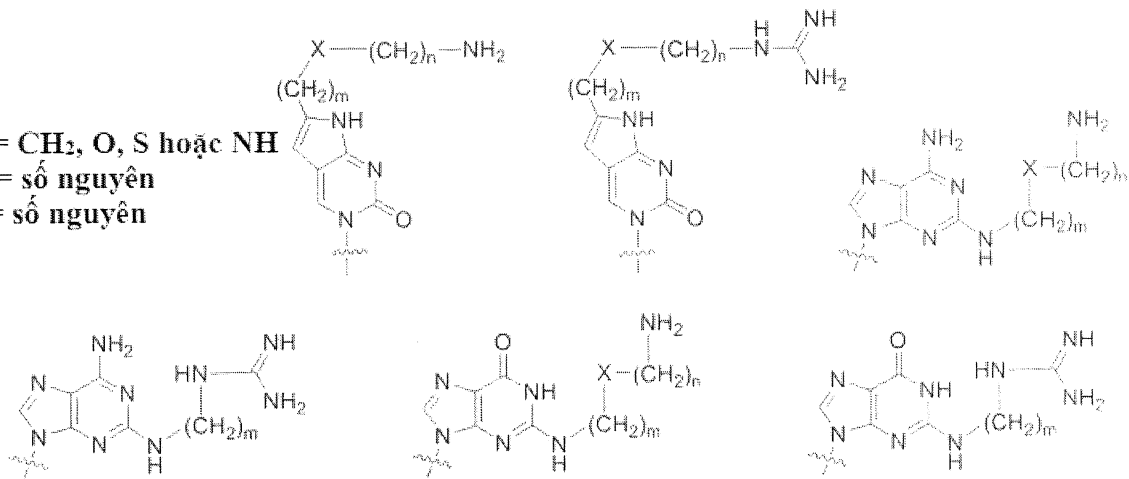
Axit nucleic peptit: Axit nucleic peptit (Peptide nucleic acid - PNA) là polypeptit có N-(2-aminoethyl)glyxin làm mạch khung đơn vị, và được phát hiện bởi Dr. Nielsen và cộng sự. [Science vol 254, 1497-1500 (1991)]. Cấu trúc hóa hoặc và danh pháp viết tắt của PNA được minh họa ở hình vẽ dưới đây. Giống như ADN và ARN, PNA còn liên kết có chọn lọc với axit nucleic bổ sung. [Nature (London) vol 365, 566-568 (1992)]. Trong liên với axit nucleic bổ sung, đầu N của PNA được cho là tương đương với “đầu 5’” của ADN hoặc ARN, và đầu C của PNA tương đương với “đầu 3’” của ADN hoặc ARN.



Giống như PMO, mạch khung PNA không mang điện tích. Do đó, việc liên kết giữa PNA và ARN có xu hướng mạnh hơn liên kết giữa ADN và ARN. Bởi vì PNA khác biệt đáng kể với ADN ở cấu trúc hóa học, PNA không được nhận ra bởi (các) chất vận chuyển gan nhận diện ADN, và sẽ thể hiện đặc tính phân bố mô khác với ADN hoặc PTO. Tuy nhiên, PNA cũng thâm nhập kém qua màng tế bào của động vật có vú. (Adv. Drug Delivery Rev. vol 55, 267-280, 2003).

Nucleobazơ được biến đổi để cải thiện khả năng thâm thấu của PNA PNA có khả năng thâm tốt qua màng tế bào của động vật có vú bằng cách đưa nucleobazơ được biến đổi với lipit cation hoặc chất tương đương hóa trị của nó được gắn vào. Cấu trúc hóa học của nucleobazơ được biến đổi này được trình bày dưới đây. Nucleobazơ được biến đổi này của xytosin, adenin, và guanin được phát hiện là lai có thể đoán trước được và bổ sung với guanin, thymin, và xytosin tương ứng. [Đơn PCT số PCT/KR2009/001256; EP2268607; US8680253].

X = CH₂, O, S hoặc NH
m = số nguyên
n = số nguyên



Việc đưa nucleobazơ được biến đổi này vào vị trí giống PNA chuyển nạp dựa vào lipid. Bằng cách chuyển nạp dựa vào lipid, phân tử oligonucleotit có mạch khung photphat được bao bọc bởi phân tử lipid cation như lipofectamin, và phức hệ lipofectamin/oligonucleotit này có xu hướng thấm qua màng dễ hơn so với phân tử oligonucleotit không bọc.

Ngoài khả năng thấm qua màng tốt, dẫn xuất PNA này được tìm thấy là có ái lực cực mạnh đối với axit nucleic bổ sung. Ví dụ, việc đưa từ 4 đến 5 nucleobazơ được biến đổi vào dẫn xuất PNA từ 11 đến 13 đơn phân dễ dàng thu được độ khuếch đại T_m của 20°C hoặc cao hơn trong việc tạo thành hệ kép với ADN bổ sung. Dẫn xuất PNA này rất nhạy với sự bắt cặp sai của bazơ đơn. Sự bắt cặp sai của bazơ đơn dẫn đến sự mất T_m của từ 11 đến 22°C phụ thuộc vào loại bazơ được biến đổi cũng như trình tự PNA.

ARN can thiệp nhỏ (siARN): ARN can thiệp nhỏ (Small interfering RNA - siARN) đề cập đến ARN mạch kép ARN mạch kép của 20-25 cặp bazơ. [Microbiol. Mol. Biol. Rev. vol 67(4), 657-685 (2003)]. Chuỗi đối nghĩa của iARN vì lý do nào đó tương tác với protein để tạo thành “phức hệ làm im lặng được gây ra bởi ARN” (RNA-induced Silencing Complex - RISC). Sau đó RISC liên kết với phần nhất định của mARN bổ sung với chuỗi đối nghĩa của siARN. mARN đã tạo phức với RISC được cho phân cắt. Do đó, siARN gây phân cắt bằng cách xúc tác mARN đích của nó, và do đó ức chế sự biểu hiện protein bởi mARN. RISC không luôn luôn liên kết với trình tự bổ sung đầy đủ trong mARN đích của nó, điều này dẫn đến các vấn đề liên

quan quan đến tác dụng tắt đích của liệu pháp siARN. Giống như các loại khác của oligonucleotit có mạch khung ADN hoặc ARN, siARN có khả năng thẩm tế bào kém và do đó có khuynh hướng thể hiện hoạt tính trị liệu invitro hoặc in vivo kém trừ khi được bào chế phù hợp hoặc được biến đổi hóa học để có khả năng thẩm qua màng tốt.

siARN tyrosinaza: siARN TYR hướng đích trình tự ARN 19 đơn phân trong mARN TYR của người được phát hiện là ức chế sự biểu hiện của mARN TYR và protein trong tế bào biểu bì tạo hắc tố của người (human epidermal melanocyte - HEM) sau khi chuyển nạp dựa vào lipit ở 20nM. siARN điều hòa giảm mARN TYR và protein, nhưng không ảnh hưởng đến sự biểu hiện của protein liên quan đến tyrosinaza 1 và 2. siARN ức chế sự tạo thành hắc tố được gây ra bởi bức xạ UV. [BMB Reports, vol 42(3), 178-183 (2009)].

siARN được thiết kế để hướng đích mARN TYR của chuột được sàng lọc về khả năng ức chế sự biểu hiện của mARN TYR và protein, và sự tạo thành hắc tố ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16 sau khi chuyển nạp dựa vào lipit ở 40nM. siARN có hiệu quả nhất được tiêm vào nhãn cầu của chuột C57BL/6 và được phát hiện là có ức chế mARN TYR trong võng mạc khoảng 60%. [Mol. Biol. International, vol 2010, Article ID 240472 (2010)].

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Vấn đề kỹ thuật cần giải quyết

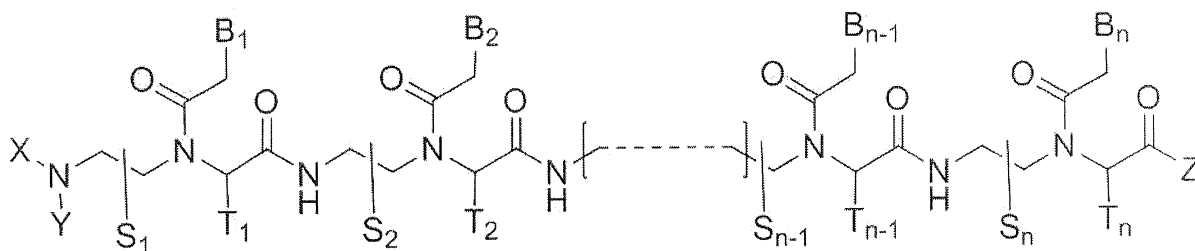
Có nhiều ví dụ hơn về các siARN TYR đã được công bố. Ví dụ, siARN được bộc lộ trong tình trạng kỹ thuật hướng đích mARN TYR của người để điều trị chứng tăng sắc tố da. [US 7504385]. Tuy nhiên, trong thực tế, các siARN này vẫn có nghi ngại khi sử dụng dựa vào việc tăng sắc tố da. siARN quá đắt cho sản xuất, và việc sử dụng chúng trong sản xuất mỹ phẩm bị hạn chế. Ngoài ra, chúng cần được phân phối đến da bằng cách dùng qua da để người dùng tuân thủ điều trị tốt. Việc phân phối qua da nên được coi là một thách thức kỹ thuật lớn cần giải quyết trong lĩnh vực oligonucleotit.

Giải pháp cho vấn đề

Sáng chế đề xuất dẫn xuất axit nucleic peptit có công thức I hoặc muối được

dụng của nó:

[Công thức I]



trong đó,

n là số nguyên từ 10 đến 21;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gôi lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' → 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN TYR của người;

Hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người, hoặc bổ sung một phần với tiền mARN TYR của người với một hoặc hai sự bất cặp sai từ toàn bộ hợp chất có công thức I;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1},$ và T_n độc lập là gốc deuterido, hydrido, alkyl được thế hoặc không được thế, hoặc aryl được thế hoặc không được thế;

X và Y độc lập là deuterido, hydrido [H], formyl [H-C(=O)-], aminocarbonyl [NH₂-C(=O)-], aminothiocarbonyl [NH₂-C(=S)-], alkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, arylaxyl được thế hoặc không được thế, alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, aryloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế, arylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế, arylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkyloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế, aryloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylsulfonyl được thế hoặc không được thế, arylsulfonyl được thế hoặc không được thế, gốc alkylphosphonyl được thế hoặc không được thế, hoặc gốc arylphosphonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc hydrido, hydroxy, alkyloxy được thể hoặc không được thể, aryloxy được thể hoặc không được thể, amino được thể hoặc không được thể, alkyl được thể hoặc không được thể, hoặc aryl được thể hoặc không được thể;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymin, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên; và,

ít nhất bốn trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có gốc amino được thể hoặc không được thể liên kết cộng hóa trị với gốc nucleobazơ.

Hợp chất có công thức I gây ra sự bỏ qua “exon 2” ở tiền mARN TYR của người, tạo ra (các) biến thể cắt nối mARN TYR của người thiếu “exon 2”, và do đó, hữu dụng để ức chế hoạt tính chức năng của gen phiên mã tiền mARN TYR của người.

Cho rằng “n là số nguyên từ 10 đến 21” có nghĩa là n là số nguyên có thể được chọn từ nhóm các số nguyên bao gồm 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, và 20.

Cấu trúc hóa học của nucleobazơ tự nhiên hoặc phi tự nhiên ở dẫn xuất PNA có công thức I được minh họa ở Fig. 1a-1c. Nucleobazơ tự nhiên (tức là, tồn tại trong tự nhiên) hoặc phi tự nhiên (không tồn tại trong tự nhiên) theo sáng chế bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở các nucleobazơ được đưa ra ở Fig. 1a-1c. Các nucleobazơ phi tự nhiên này chỉ được dùng để minh họa các nucleobazơ có thể được dùng, và do đó không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Các phần tử thể được lựa chọn để mô tả dẫn xuất PNA có công thức I được minh họa ở Fig. 2a-2e. Fig. 2a đưa ra các ví dụ về các gốc alkyl được thể hoặc không được thể. Các gốc alkylaxyl được thể hoặc không được thể và alkylaxyl aryloxyl được thể hoặc không được thể được minh họa ở Fig. 2b. Fig. 2c đưa ra các ví dụ về các gốc alkylamino được thể hoặc không được thể, arylamino được thể hoặc không được thể, aryl được thể hoặc không được thể, alkylsulfonyl hoặc arylsulfonyl được thể hoặc không được thể, và alkylphosphonyl arylphosphonyl được thể hoặc không được thể. Fig. 2d đưa ra các ví dụ về các gốc alkyloxycarbonyl hoặc aryloxycarbonyl được thể hoặc không được thể, alkyl aminocarbonyl hoặc arylaminocarbonyl được thể hoặc

không được thể. Fig. 2e đưa ra các ví dụ về các gốc alkylaminothiocarbonyl được thể hoặc không được thể, arylaminothiocarbonyl được thể hoặc không được thể, alkyloxythiocarbonyl được thể hoặc không được thể, và aryloxythiocarbonyl được thể hoặc không được thể. Các phần tử thể này chỉ được dùng để minh họa các phần tử thể có thể được dùng, và do đó không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể dễ dàng hiểu được rằng trình tự oligonucleotit là yếu tố quan trọng nhất cho việc liên kết đặc hiệu trình tự của oligonucleotit với trình tự tiền mARN đích so với phần tử thể ở đầu N hoặc đầu C.

Hợp chất có công thức I liên kết chặt chẽ với ADN bổ sung như được nêu trong tình trạng kỹ thuật [PCT/KR2009/001256]. Hệ kép giữa dẫn xuất PNA có công thức I và ADN hoặc ARN bổ sung có độ dài đầy đủ có giá trị T_m quá cao để được xác định trong đệm chứa nước. Hợp chất PNA có công thức I có giá trị T_m với ADN bổ sung có độ dài ngắn hơn.

Hợp chất có công thức I liên kết bổ sung với vùng cắt nối 3' của “exon 2” của tiền mARN TYR của người. [Trình tự tham chiếu NCBI: NG_0008748]. Trình tự 14 đơn phân của [(5' → 3') UGUACAGAUUGUCU] kéo dài đoạn nối “intron 1” và “exon 2” ở tiền mRNA TYR, và bao gồm 7 đơn phân từ “intron 1” và 7 đơn phân từ “exon 2”. Do đó, trình tự tiền mARN 14 đơn phân có thể có ký hiệu quy ước là [(5' → 3') uguacag | AUUGUCU], trong đó trình tự intron và exon được thể hiện bằng ký tự “thường” và “in hoa” tương ứng, và đoạn nối intron-exon được thể hiện là “ | ”. Ký hiệu quy ước cho tiền mARN còn được thể hiện bởi trình tự 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuuuguacag | AUUGUCUGUAGCCGA] kéo dài đoạn nối của “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người. Ngoài ra, trình tự tiền mARN 30 đơn phân xác định chính xác vùng cắt nối 3' được hướng đích bởi hợp chất có công thức I ở tiền mARN TYR của người, mặc dù việc đánh số các exon TYR có thể được thể hiện theo cách khác.

Hợp chất có công thức I liên kết chặt chẽ với vùng cắt nối 3' đích của tiền mARN TYR của người được phiên mã từ gen TYR của người, và can thiệp vào sự tạo thành “phức hệ sớm của thể cắt nối” bao gồm exon đích của hợp chất. Bởi vì hợp chất theo sáng chế ức chế về mặt không gian sự tạo thành “phức hệ sớm của thể cắt nối”,

“exon 2” TYR được cắt để tạo thành mARN TYR (các) biến thể cắt nối thiếu “exon 2”. Do đó, hợp chất theo sáng chế gây ra sự bỏ qua “exon 2” TYR.

Ái lực ARN mạnh cho phép hợp chất có công thức I gây ra sự bỏ qua “exon 2” TYR, thậm chí khi dẫn xuất PNA có một hoặc hai sự bắt cặp sai với vùng cắt nối 3' đích ở tiền mARN TYR. Dẫn xuất PNA tương tự có công thức I có thể vẫn gây ra sự bỏ qua “exon 2” TYR trong đột biến tiền mARN TYR có một hoặc hai SNP (điểm đa hình nucleotit đơn - single nucleotide polymorphism) trong vùng cắt nối đích.

Hợp chất có công thức I có khả năng thẩm tế bào tốt và có thể dễ dàng được phân phối đến tế bào dưới dạng oligonucleotit “trần” như được trình bày ở trình trạng kỹ thuật [PCT/KR2009/001256]. Do đó, hợp chất theo sáng chế gây ra sự bỏ qua “exon 2” ở tiền mARN TYR, và tạo ra (các) biến thể cắt nối mARN TYR thiếu “exon 2” TYR trong tế bào được xử lý với hợp chất có công thức I dưới dạng oligonucleotit “trần”. Hợp chất có công thức I không yêu cầu bất kỳ phương tiện hoặc dạng bào chế nào để phân phối vào tế bào để gây khả năng bỏ qua exon đích trong tế bào. Hợp chất có công thức I dễ dàng gây ra sự bỏ qua “exon 2” TYR trong tế bào được xử lý với hợp chất theo sáng chế dưới dạng oligonucleotit “trần” ở nồng độ gần femtomol.

Bởi vì có khả năng thẩm tế bào hoặc thẩm qua màng tốt, dẫn xuất PNA có công thức I có thể được dùng tại chỗ dưới dạng oligonucleotit “trần” để gây sự bỏ qua “exon 2” TYR ở da. Hợp chất có công thức I không yêu cầu bào chế để tăng sự phân phối qua da vào mô đích cho hoạt tính điều trị hoặc hoạt tính sinh học mong muốn. Thông thường, hợp chất có công thức I tan trong nước và đồng dung môi, và được dùng tại chỗ hoặc qua da ở nồng độ gần picomol để đem lại hoạt tính trị liệu hoặc hoạt tính sinh học mong muốn ở da đích. Hợp chất theo sáng chế không cần được bào chế kỹ hoặc nhiều để đem lại hoạt tính trị liệu tại chỗ. Tuy nhiên, dẫn xuất PNA có công thức I có thể được điều chế với thành phần mỹ phẩm hoặc chất hỗ trợ làm kem hoặc kem lỏng tại chỗ. Kem hoặc kem lỏng mỹ phẩm tại chỗ này có thể hữu dụng để điều trị chứng tăng sắc tố da.

Hợp chất có công thức I có thể được dùng dưới dạng kết hợp với axit hoặc bazơ chấp nhận được trong lĩnh vực được bao gồm nhưng không giới hạn ở natri hydroxit, kali hydroxit, axit clohydric, axit metansulfonic, axit xitric, axit trifloaxetic, và v.v..

Dẫn xuất PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó có thể được dùng cho đối tượng kết hợp với chất hỗ trợ chấp nhận được trong lĩnh vực được bao gồm nhưng không giới hạn ở axit xitric, axit clohydric, axit tartaric, axit stearic, polyetylenglycol, polypropylenglycol, etanol, isopropanol, natri bicarbonat, nước cất, (các) chất bảo quản, và v.v..

Hợp chất theo sáng chế có thể được dùng tại chỗ cho đối tượng ở nồng độ có hiệu quả trị liệu hoặc sinh học nằm trong khoảng từ 1aM đến cao hơn 1nM, phụ thuộc vào phác đồ điều, tình trạng hoặc tình huống của đối tượng, và v.v..

Dẫn xuất PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được ưu tiên:

trong đó,

n là số nguyên từ 10 đến 21;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần bổ sung 10 đơn phân trùng khớp với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' → 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người, hoặc bổ sung một phần với tiền mARN TYR của người với một hoặc hai sự bắt cặp sai từ toàn bộ hợp chất có công thức I;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n độc lập là gốc deuterido hoặc hydrido;

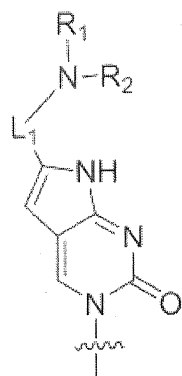
X và Y độc lập là deuterido, hydrido, formyl, aminocarbonyl, aminothiocarbonyl, alkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, arylaxyl được thế hoặc không được thế, alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, aryloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế, arylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế, arylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkyloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế, aryloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylsulfonyl được thế hoặc không được thế, arylsulfonyl được

thể hoặc không được thể, gốc alkylphosphonyl được thể hoặc không được thể, hoặc gốc arylphosphonyl được thể hoặc không được thể;

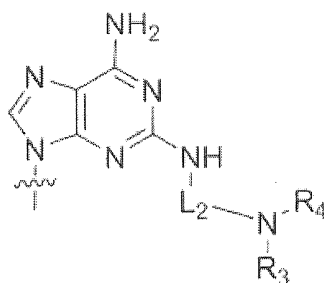
Z là gốc hydrido, hydroxy, alkyloxy được thể hoặc không được thể, aryloxy được thể hoặc không được thể, hoặc amino được thể hoặc không được thể;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymine, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

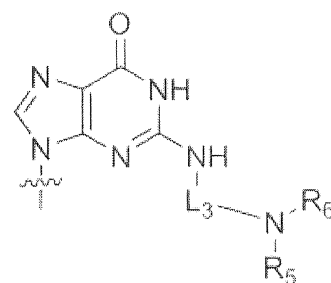
ít nhất bốn trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV:



Công thức II



Công thức III



Công thức IV

trong đó,

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 và R_6 độc lập được chọn từ gốc hydrido, và alkyl được thể hoặc không được thể;

L_1, L_2 và L_3 là mỗi liên kết cộng hóa trị có công thức V liên kết cộng hóa trị nhóm amino bazơ với gốc nucleobazơ:



Công thức V

trong đó,

Q_1 và Q_m gốc metylen ($-\text{CH}_2-$) được thể hoặc không được thể, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

$Q_2, Q_3, \dots$, và Q_{m-1} độc lập được chọn từ metylen được thế hoặc không được thế, oxy (-O-), lưu huỳnh (-S-), và gốc amino được thế hoặc không được thế [-N(H)-, hoặc -N(phần tử thế)-]; và,

m là số nguyên từ 1 đến 15.

Oligome PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được quan tâm:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 18;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gổi lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' $\rightarrow$ 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X và Y độc lập là gốc hydrido, alkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, arylaxyl được thế hoặc không được thế, alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, hoặc aryloxycarbonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymin, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất bốn trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 và R_6 độc lập được chọn từ gốc hydrido, và alkyl được thế hoặc không được thế;

Q_1 và Q_m là gốc metylen được thế hoặc không được thế, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

$Q_2, Q_3, \dots$, và Q_{m-1} độc lập được chọn từ gốc metylen được thế hoặc không được thế, oxygen, và amino; và,

m là số nguyên từ 1 đến 11.

Dẫn xuất PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được quan tâm cụ thể:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 16;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gó lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của $[(5' \rightarrow 3') \text{UGUACAGAUUGUCU}]$ ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X và Y độc lập được chọn từ gốc hydrido, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, hoặc alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymin, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất bốn trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 và R_6 độc lập được chọn từ gốc hydrido, và alkyl được thế hoặc không được thế;

Q_1 và Q_m là gốc methyl, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

$Q_2, Q_3, \dots$, và Q_{m-1} độc lập được chọn từ gốc methyl, oxy, và amino; và,

m là số nguyên từ 1 đến 9.

Oligome PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được quan tâm nhiều:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 16;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gôi lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của $[(5' \rightarrow 3') \text{UGUACAGAUUGUCU}]$ ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X và Y độc lập được chọn từ gốc hydrido, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, hoặc alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymine, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất bốn trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_3 , và R_5 là gốc hydrido, và R_2, R_4 , và R_6 độc lập là gốc hydrido, hoặc alkyl được thế hoặc không được thế;

Q_1 và Q_m là gốc methyl, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

$Q_2, Q_3, \dots$, và Q_{m-1} độc lập được chọn từ gốc methyl, oxy; và,

m là số nguyên từ 1 đến 9.

Dẫn xuất PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được quan tâm nhiều hơn:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 16;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gộp lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' $\rightarrow$ 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X và Y độc lập được chọn từ gốc hydrido, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, hoặc alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ adenin, thymin, guanin, xytosin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất năm trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , và R_6 là gốc hydrido;

Q_1 và Q_m là gốc metyl, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

$Q_2, Q_3, \dots$, và Q_{m-1} độc lập được chọn từ gốc metyl, và oxy; và,

m là số nguyên từ 1 đến 9.

Dẫn xuất PNA có công thức I hoặc muối được dụng của nó được quan tâm nhất:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 16;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gộp lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' $\rightarrow$ 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN TYR của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X là gốc hydrido;

Y là gốc alkylaxyl được thể hoặc không được thể, hoặc alkyloxycarbonyl được thể hoặc không được thể;

Z là gốc amino được thể hoặc không được thể;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ adenin, thymin, guanin, xytosin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất năm trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , và R_6 là gốc hydrido;

L_1 là $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_3-$, $-CH_2-O-(CH_2)_4-$, hoặc $-CH_2-O-(CH_2)_5-$ với đầu bên phải được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ; và,

L_2 và L_3 độc lập được chọn từ $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, và $-(CH_2)_8-$ với đầu bên phải được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ.

Dẫn xuất PNA có công thức I được chọn từ nhóm bao gồm các hợp chất được nêu dưới đây hoặc muối được dụng của nó được quan tâm đặc biệt:

$(N \rightarrow C)$ Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Fethoc-AC(1/2)A(5)-GA(5)C-AA(5)T-CTG(6)-C(1/2)C-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Ac-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Benzoyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Piv-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Metyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ n-Propyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

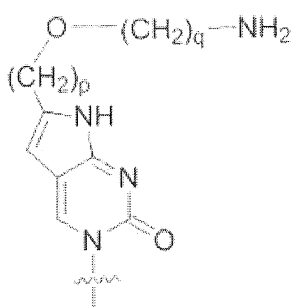
(N→C) Fmoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) p-Toluensulfonyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) H-Lys-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-Lys-Gly-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-Lys-NH₂;
 (N→C) Fethoc-Val-Gly-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Ac-Arg-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Benzyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Phenyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C)
 [N-(2-Phenylethyl)amino]carbonyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Benzoyl-Leu-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Piv-Lys-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-Val-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(7)G-AC(2O2)A-A(4)TC(1O2)-TG(6)T-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CTG(6)-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(5)G-ATA(5)-ATC(1O2)-TG(5)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-TA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-TCA(3)-GAC(1O5)-A(5)AT-C(1O2)TG(5)-TA(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(6)TA(5)-C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(6)TA(5)-CA(2O2)A-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C(1O2)-AA(6)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AC(1O3)T-GA(6)C-TA(6)T-CTG(6)-TAC(1O5)-A(4)A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C(1O2)-AA(6)-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O2)-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O2)-A-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O3)-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O4)T-AC(1O2)A-GA(4)C-AAT-CTG(6)-TA(6)C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-GA(4)C-AAT-C(1O2)TG-NH₂;

(N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-G(2O2)AC-A(5)AT-C(1O2)TG-NH₂; và
(N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-GA(4)C-A(2O2)AT-C(1O2)TG-NH₂:

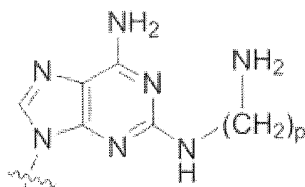
trong đó,

A, G, T, và C là đơn phân PNA có nucleobazơ tự nhiên của adenin, guanin, thymin, và xytosin tương ứng;

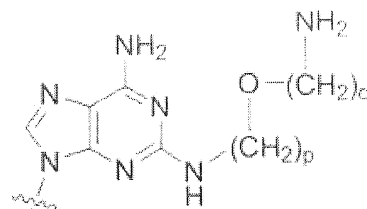
C(pOq), A(p), A(pOq), G(p), và G(pOq) là đơn phân PNA với nucleobazơ phi tự nhiên có công thức VI, công thức VII, công thức VIII, công thức IX, và công thức X, tương ứng;



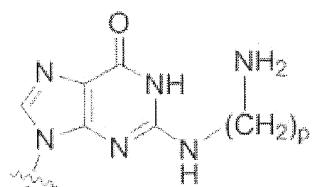
Công thức VI



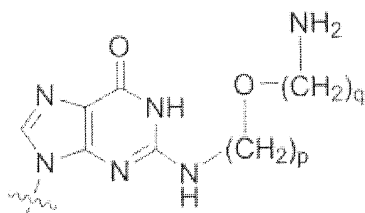
Công thức VII



Công thức VIII



Công thức IX



Công thức X

trong đó,

p và q là số nguyên; và,

các chữ viết tắt cho các phần tử thế đầu N và C được mô tả cụ thể như sau:
“Fmoc-” là chữ viết tắt cho “[2-(9-fluorenyl)ethyl-1-oxy]carbonyl-”; “Fethoc-” cho “[2-(9-fluorenyl)ethyl-1-oxy]carbonyl-”; “Ac-” cho “axetyl-”; “Benzoyl-” cho “benzencabonyl-”; “Piv-” cho “pivalyl-”; “Metyl-” cho “metyl-”; “n-Propyl-” cho “1-(n-propyl)-”; “H-” cho nhóm “hydrido-”; “p-Toluensulfonyl” cho “(4-metylbenzen)-1-sulfonyl-”; “-Lys-” cho gốc axit amin “lysin”; “-Val-” cho gốc

axit amin “valin”; “-Leu-” cho gốc axit amin “leuxin”; “-Arg-” cho gốc axit amin “arginin”; “-Gly-” cho gốc axit amin “glyxin”; “[N-(2-Phenyletyl)amino]carbonyl-” cho “[N-1-(2-phenyletyl)amino]carbonyl-”; “Benzyl-” cho “1-(phenyl)metyl-”; “Phenyl-” cho “phenyl-”; “Me-” cho “metyl-”; và “-NH₂” cho nhóm “-amino” không được thể.

Fig. 3 trình bày cấu trúc hóa học chung và rõ ràng cho đơn phân PNA được viết tắt là A, G, T, C, C(pOq), A(p), A(pOq), G(p), và G(pOq). Như được thảo luận trong tình trạng kỹ thuật [PCT/KR2009/001256], C(pOq) được coi là đơn phân PNA “xytosin được biến đổi” do sự lai hóa của nó với “guanin”. A(p) và A(pOq) được coi là đơn phân PNA “adenin được biến đổi” cho sự lai hóa của nó với “thymine”. Tương tự, G(p) và G(pOq) được coi là đơn phân PNA “guanin được biến đổi” cho sự bắt cặp bazơ của nó với “xytosin”.

Fig. 4 minh họa rõ ràng cấu trúc hóa học cho các chữ viết tắt cho các phân tử thể được sử dụng để kéo dài đầu N hoặc đầu C của dẫn xuất PNA có công thức I theo sáng chế.

Để minh họa các chữ viết tắt của được dùng cho các dẫn xuất PNA này, cấu trúc hóa học cho các dẫn xuất PNA 13 đơn phân này được viết tắt là “(N→C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂” được thể hiện ở Fig. 5a. Theo một minh họa khác, cấu trúc hóa học cho dẫn xuất PNA 15 đơn phân được viết tắt là “(N→C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(3O2)TA(5)-CA(2O2)A-NH₂” được thể hiện ở Fig. 5b.

Trình tự PNA 13 đơn phân “(N → C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂” được thể hiện cụ thể ở Fig. 5a tương đương với trình tự ADN “(5' → 3') CAG-ACA-ATC-TGT-A” cho việc liên kết bổ sung với tiền mARN. PNA 13 đơn phân có vùng gối lên nhau bổ sung 13 đơn phân với trình tự 13 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuguacag | AUUGUCUGUAGCCGA] kéo dài đoạn nối “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người.

Trình tự PNA đơn phân của “(N → C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(102)T-G(302)TA(5)-CA(202)A-NH₂” được minh họa cụ thể ở Fig. 5B tương đương với trình tự ADN của “(5' → 3') AGA-CAA-TCT-GTA-CAA” về việc liên kết bổ sung với tiền mARN. PNA 15 đơn phân có vùng gối lên nhau bổ sung 15 đơn phân với trình tự 15 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuuguacag | AUUGUCUGUAGCCGA] kéo dài đoạn nối “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người.

Trình tự PNA 17 đơn phân của “(N → C) Fethoc-AC(103)T-GA(6)C-TA(6)T-CTG(6)-TAC(105)-A(4)A-NH₂” tương đương với trình tự ADN của “(5' → 3') ACT-GAC-TAT-CTG-TAC-AA” về việc liên kết bổ sung với tiền mARN. PNA 17 đơn phân có vùng gối lên nhau bổ sung 15 đơn phân với trình tự 15 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuuguacag | AU“U”GUC“U”GUAGCCGA] kéo dài đoạn nối “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người. Hai sự bắt cặp sai được đánh dấu với dấu ngoặc kép, tức là “ ”.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị bệnh hoặc tình trạng có liên quan đến sự biểu hiện của gen tyrosinaza của người, chứa dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất được phẩm để điều trị chứng tăng sắc tố da, chứa dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó. Ví dụ về chứng tăng sắc tố da do sản xuất thừa hắc tố bao gồm chứng sạm da, sẹo mụn, đồi mồi, tàn nhang, đốm tuổi và tổn thương do nắng.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị bệnh hoặc tình trạng có liên quan đến sự biểu hiện của gen tyrosinaza của người, bao gồm bước dùng dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó. Đường dùng có thể là, ví dụ, dùng tại chỗ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị chứng tăng sắc tố da, bao gồm bước dùng dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được

dụng của nó. Đường dùng có thể là, ví dụ, dùng tại chỗ.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất việc sử dụng dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó trong điều chế thuốc để điều trị bệnh hoặc tình trạng có liên quan đến sự biểu hiện của gen tyrosinaza của người.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất việc sử dụng dẫn xuất axit nucleic peptit theo sáng chế hoặc muối được dụng của nó để điều chế thuốc trong điều chế thuốc để điều trị chứng tăng sắc tố da.

Mô tả vắn tắt các hình Vẽ

Fig. 1a-1c: Ví dụ về nucleobazơ tự nhiên hoặc phi tự nhiên (được biết đổi) có thể được chọn cho dẫn xuất axit nucleic peptit có công thức I.

Fig. 2a-2e: Ví dụ về phần tử thể có thể được chọn cho dẫn xuất axit nucleic peptit có công thức I.

Fig. 3: Cấu trúc hóa học của đơn phân PNA với nucleobazơ tự nhiên hoặc được biến đổi.

Fig. 4: Cấu trúc hóa học cho viết tắt của phần tử thể đầu N hoặc đầu C.

Fig. 5a: Cấu trúc hóa học của dẫn xuất PNA 13 đơn phân “(N → C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂”.

Fig. 5b: Cấu trúc hóa học của dẫn xuất PNA 15 đơn phân “(N → C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(3O2)TA(5)-CA(2O2)A-NH₂”.

Fig. 6: Cấu trúc hóa học của đơn phân PNA Fmoc được sử dụng để tổng hợp dẫn xuất PNA theo sáng chế.

Fig. 7a-7b: Sắc phổ HPLC pha đảo ngược C₁₈ của “ASO 1” tương ứng trước và sau khi tinh sạch HPLC.

Fig. 8: Khối phổ ESI-TOF của “ASO 1” được tinh sạch bằng HPLC điều chế C₁₈-RP.

Fig. 9a: Phân tích điện di của sản phẩm PCR được đặt vào ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 được xử lý với 0 (đối chứng âm), 1, 10 hoặc 1000 aM “ASO 1M”.

Fig. 9b: Dữ liệu giải trình tự Sanger cho sản phẩm PCR có thể được dùng để bỏ qua exon (2-3).

Fig. 10a: Thay đổi ở hàm lượng mRNA TYR có độ dài đầy đủ bởi qPCR trong tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 được xử lý với “ASO 1M” ở 0 (đối chứng âm), 1, 10, 100 hoặc 1000 aM. (thanh sai số bởi sai số chuẩn)

Fig. 10b: Dữ liệu thẩm tách tây TYR ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 được xử lý trong 24 giờ với “ASO 1M” ở 0 zM (đối chứng âm), 10zM, 100zM, 1aM, hoặc 10aM (tức là 10,000 zM).

Fig. 11: Thay đổi ở hàm lượng hắc tố ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 được xử lý với “ASO 1M” ở 1, 10, 100 hoặc 1000aM, hoặc với 10 μ g/mL hoặc 100 μ g/mL arbutin. (thanh sai số bởi sai số chuẩn).

Fig. 12: Thay đổi ở hàm lượng mRNA TYR có độ dài đầy đủ bởi qPCR ở tế bào biểu bì tạo hắc tố biểu mô sơ cấp của người được xử lý với “ASO 1” ở 0 zM (đối chứng âm), 1zM, 100zM hoặc 10aM. (thanh sai số bởi sai số chuẩn).

Mô tả chi tiết sáng chế

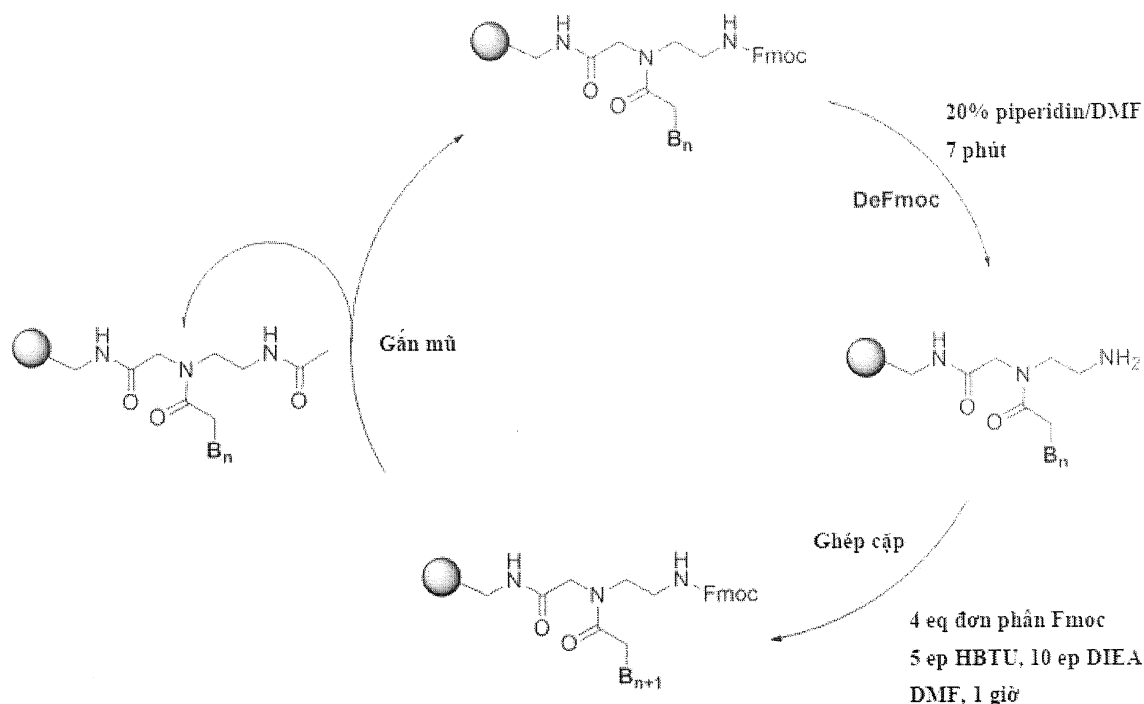
Quy trình chung để điều chế oligome PNA

Oligome PNA được tổng hợp bằng kỹ thuật tổng hợp peptit pha rắn (solid phase peptide synthesis - SPPS) trên cơ sở hóa học Fmoc theo phương pháp được bộc lộ ở tình trạng kỹ thuật [US6,133,444; WO96/40685] có thay đổi nhỏ phù hợp. Giá thể rắn được dùng trong nghiên cứu này là H-Rink Amide-ChemMatrix được mua từ PCAS BioMatrix Inc. (Quebec, Canada). Đơn phân Fmoc-PNA với nucleobazơ được biến đổi được tổng hợp như được mô tả trong tình trạng kỹ thuật [PCT/KR 2009/001256] hoặc với các biến đổi nhỏ. Đơn phân Fmoc-PNA với nucleobazơ được biến đổi và đơn phân Fmoc-PNA với nucleobazơ tồn tại trong tự nhiên được sử dụng

để tổng hợp dẫn xuất PNA theo sáng chế. Oligome PNA được tinh sạch bằng HPLC pha đảo C_{18} (nước/axetonitril hoặc nước/metanol với 0,1% TFA) và được xác định đặc tính bằng khối phổ bao gồm ESI/TOF/MS.

Sơ đồ 2 minh họa chu trình kéo dài đơn phân thông thường theo SPPS của nghiên cứu này, và các chi tiết tổng hợp được trình bày dưới đây. Tuy nhiên, đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật, có nhiều biến đổi nhỏ hiển nhiên là có thể có được dùng để chạy các phản ứng SPPS có hiệu quả trên máy tổng hợp peptit tự động hoặc máy tổng hợp peptit thủ công. Mỗi bước phản ứng trong sơ đồ 2 được trình bày tóm tắt dưới đây.

Sơ đồ 2



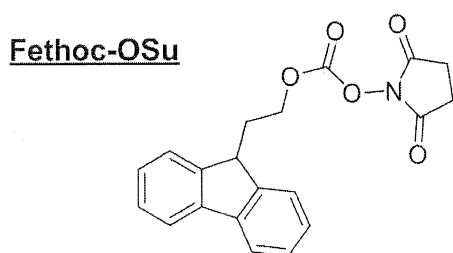
[Hoạt hóa nhựa H-Rink-ChemMatrix] 0,01 mmol (khoảng 20mg nhựa) của nhựa ChemMatrix trong 1,5mL 20% piperidin/DMF được lắc trong ống libra trong 20 phút, và dung dịch DeFmoc được lọc ra. Nhựa được rửa trong 30 giây mỗi lần với 1,5mL metyl clorua (MC), 1,5mL dimetylformamit (DMF), 1,5mL MC, 1,5mL DMF, và 1,5mL MC. Amin tự do thu được trên giá thể rắn được cho ghép cặp với đơn phân Fmoc-PNA hoặc với dẫn xuất axit amin được bảo vệ Fmoc.

Nhựa [DeFmoc] được lắc trong 1,5mL 20% piperidin/DMF trong 7 phút, và dung dịch DeFmoc được lọc ra. Nhựa được rửa trong 30 giây mỗi lần với 1,5mL MC, 1,5mL DMF, 1,5mL MC, 1,5mL DMF, và 1,5mL MC. Amin tự do thu được trên giá thể rắn được cho ghép cặp ngay lập tức với đơn phân Fmoc-PNA.

[Ghép cặp với đơn phân Fmoc-PNA] Amin tự do trên giá thể rắn được ghép cặp với đơn phân Fmoc-PNA như sau. 0,04 mmol đơn phân PNA, 0,05 mmol HBTU, và 10 mmol DIEA được ủ trong 2 phút trong 1mL DMF khan, và được thêm vào nhựa với amin tự do. Dung dịch nhựa được lắc 1 giờ và môi trường phản ứng được lọc ra. Sau đó nhựa được rửa trong 30 giây mỗi lần với 1,5mL MC, 1,5mL DMF, và 1,5mL MC. Cấu trúc hóa học của đơn phân Fmoc-PNA với nucleobazơ được biến đổi được sử dụng trong sáng chế được thể hiện ở Fig. 6. Đơn phân Fmoc-PNA với nucleobazơ được biến đổi được thể hiện ở Fig. 6 chỉ được dùng làm ví dụ, và do đó không giới hạn phạm vi của sáng chế. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật có thể dễ dàng biết được số lượng các biến đổi trong đơn phân Fmoc-PNA để tổng hợp dẫn xuất PNA có công thức I.

[Gắn mũ] Sau phản ứng ghép cặp, amin tự do không phản ứng được gắn mũ bằng cách lắc trong 5 phút trong 1,5mL dung dịch gắn mũ (5% axetic anhydrit và 6% 2,6-leutidin trong DMF). Sau đó dung dịch gắn mũ được lọc ra và rửa trong 30 giây mỗi lần với 1,5mL MC, 1,5mL DMF, và 1,5mL MC.

[Đưa gốc “Fethoc-” vào đầu N] gốc “Fethoc-” được đưa vào đầu N bằng cách cho phản ứng amin tự do trên nhựa với “Fethoc-OSu” dưới điều kiện ghép cặp bazơ. Cấu trúc hóa học của “Fethoc-OSu” [số CAS 179337-69-0, C₂₀H₁₇NO₅, MW 351.36] được trình bày dưới đây.



[Phân cắt khỏi nhựa] Oligome PNA được liên kết với nhựa được phân cắt khỏi nhựa trong 3 giờ trong 1,5mL dung dịch phân cắt (2,5% tri-isopropylsilan và 2,5%

nước trong axit trifloaxetic). Nhựa được lọc ra và sản phẩm lọc được cô đặc dưới áp suất giảm. Phần bã thu được được tán nhỏ với diethylene và phần kết tủa thu được được thu lại bằng cách lọc để tinh sạch bằng HPLC pha đảo.

[Phân tích và tinh sạch HPLC] Sau khi phân cắt khỏi nhựa, sản phẩm thô của dẫn xuất PNA được tinh sạch bởi C₁₈-HPLC pha đảo rửa giải nước/axetonitril hoặc nước/metanol (phương pháp gradien) chứa 0,1% TFA. Fig. 7a và Fig. 7b là sắc phổ HPLC ví dụ cho “ASO 1” tương ứng trước và sau khi tinh sạch HPLC. Trình tự oligome của “ASO 1” được trình bày ở bảng 1.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ tổng hợp cho dẫn xuất PNA có công thức I

Để hướng đích bổ sung với vùng cắt nối 3' của “exon 2” ở tiền mARN TYR của người, dẫn xuất PNA theo sáng chế được điều chế theo quy trình tổng hợp được nêu ở trên hoặc có các biến đổi nhỏ. Dẫn xuất PNA hướng đích tiền mARN TYR của người chỉ được dùng để minh họa dẫn xuất PNA có công thức I, và không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Bảng 1: Dẫn xuất PNA hướng đích bổ sung vùng cắt nối 3' của “exon 2” ở tiền mARN TYR của người cùng với dữ liệu xác định đặc tính cấu trúc bằng khối phổ.

Ví dụ PNA	Trình tự PNA (N→C)	Khối lượng chiết, m/z	
		lý thuyết ^a	quan sát ^b
ASO 1	Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(102)-TG(6)T-A(5)-NH ₂	4258,96	4260,99
ASO 2	Fethoc-AC(12)A-GA(5)C-AA(5)T-CTG(6)-TA(5)C(102)-AA(5)-NH ₂	5532,55	5532,54
ASO 3	Fethoc-AC(102)A(5)-GA(5)C-AA(5)T-CTG(6)-C(102)C-NH ₂	4592,11	4592,11

^a) Khối lượng chiết lý thuyết; ^b) Khối lượng chiết quan sát được

Bảng 1 đưa ra các dẫn xuất PNA hướng đích bổ sung vùng cắt nối 3' của “exon

2” ở tiền mARN TYR của người được đọc từ gen TYR của người [trình tự tham chiếu NCBI: NG_0008748] cùng với dữ liệu đặc tính cấu trúc bởi khối phổ. ASO TYR ở bảng 1 chỉ được dùng để minh họa các dẫn xuất PNA có công thức I, và không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

“ASO 1” có vùng gồi lên nhau bổ sung 13 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuuuguacag | AUUGU-CUGUAGCCGA] kéo dài đoạn nối của “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người. Do đó, “ASO 1” có vùng gồi lên nhau 5 đơn phân với “intron 1” và vùng gồi lên nhau 8 đơn phân với “exon 2” ở tiền mARN TYR của người.

Bảng 2 đưa ra “ASO 1M” hướng đích bổ sung vùng cắt nối 3' của “exon 2” ở tiền mARN TYR của chuột được đọc từ ADN của chuột [chọn ngẫu nhiên từ trình tự tham chiếu NCBI: NC_000073] cùng với dữ liệu đặc tính cấu trúc bởi khối phổ. “ASO 1M” được dùng để đánh giá hoạt tính đối nghĩa ở tế bào chuột.

Bảng 2: Dẫn xuất PNA hướng đích bổ sung vùng cắt nối 3' của “exon 2” ở tiền mARN TYR của chuột cùng với dữ liệu xác định đặc tính cấu trúc bằng khối phổ.

Ví dụ PNA	Trình tự PNA (N→C)	Khối lượng chiết, m/z	
		lý thuyết ^a	quan sát ^b
ASO 1M	Fethoc-CA(5)A-A(5)TG-A(5)TC(102)-TG(6)T-G-NH ₂	4289,95	4289,96

^a) Khối lượng chiết lý thuyết; ^b) Khối lượng chiết quan sát được

Trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') aauguuuuucacag | AUCAUUUGUAGCAGA] kéo dài đoạn nối của intron 1 và exon 2 ở tiền mARN TYR của chuột được đọc từ gen TYR của chuột [số đăng ký gen NCBI: NC_000073].

“ASO 1M” tương đương với trình tự ADN của “(5' → 3') CAA-ATG-ATC-TGT-G” về việc liên kết bổ sung với tiền mARN. “ASO 1M” có vùng gồi lên nhau bổ sung 13 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong

trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3')
 aaauuuuuucacag | AUCAUUUGUAGCAGA] kéo dài đoạn nối của “intron 1” và
 “exon 2” ở tiền mARN TYR của chuột.

Tương tự “ASO 1” chống lại tiền mARN TYR của người, “ASO 1M” có vùng
 gối lên nhau 5 đơn phân với “intron 1” và vùng gối lên nhau 8 đơn phân với “exon 2”
 ở tiền mARN TYR của chuột. “ASO 1M” có thể có vai trò như hợp chất thay thế tốt
 cho hoạt tính đối nghĩa của “ASO 1” trong tế bào có nguồn gốc từ người.

Fig. 7a là sắc phổ HPLC thu được với sản phẩm thô của “ASO 1”. Sản phẩm
 thô được tinh sạch bằng HPLC điều chế C₁₈-RP. Fig. 7b là sắc phổ HPLC cho sản
 phẩm tinh sạch của “ASO 1”. Độ tinh sạch của “ASO 1” được cải thiện đáng kể sau
 khi tinh sạch HPLC điều chế. Fig. 8 thể hiện khối phổ ESI-TOF thu được với sản phẩm
 tinh sạch của “ASO 1”. Dữ liệu phân tích cho “ASO 1” chỉ được dùng để minh họa
 cách dẫn xuất PNA có công thức I được tinh sạch và đồng nhất trong sáng chế, và
 không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ái lực liên kết của dẫn xuất PNA mô hình cho ADN bổ sung

Các dẫn xuất PNA ở bảng 1 và 2 được đánh giá về ái lực liên kết của chúng đối
 với ADN 10 đơn phân hướng đích bổ sung đầu N hoặc đầu C. Ái lực liên kết được
 đánh giá bằng giá trị T_m đối với hệ kẹp giữa PNA và ADN bổ sung 10 đơn phân. Hệ
 kẹp giữa dẫn xuất PNA và ADN bổ sung đầy đủ thể hiện giá trị T_m quá cao để dễ dàng
 xác định trong dung dịch đệm chứa nước, bởi vì dung dịch đệm có khuynh hướng sôi
 lên trong quá trình xác định T_m.

Giá trị T_m được xác định trên quang phổ kế UV/Vis như sau. Dung dịch hỗn
 hợp của 4μM oligome PNA và 4μM ADN 10 đơn phân bổ sung trong 4mL đệm chứa
 nước (pH 7,16, 10mM natri phosphat, 100mM NaCl) trong ống Falcon polypropylen
 15mL được ủ ở 90°C trong một phút và được làm nguội từ từ xuống nhiệt độ môi
 trường. Sau đó dung dịch được chuyển đến ống UV thạch anh 3mL có nắp kín khí, và
 được cho xác định T_m ở 260nm trên quang phổ kế UV/Visible như được mô tả trong
 tình trạng kỹ thuật [PCT/KR2009/001256] hoặc có cải biến nhỏ. ADN bổ sung 10 đơn
 phân cho xác định T_m được mua từ Bioneer (www.bioneer.com, Dajeon, Republic of
 Korea) và được sử dụng mà không cần tinh sạch thêm.

Các giá trị T_m quan sát được của dẫn xuất PNA có công thức I là rất cao đối với việc liên kết bổ sung với ADN 10 đơn phân, và được trình bày ở bảng 3. Ví dụ, “ASO 1” thể hiện giá trị T_m là 78,0°C cho hệ kép ADN bổ sung 10 đơn phân hướng đích 10 đơn phân đầu N ở PNA được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong [(N → C) Fethoc-**CA(5)G-ACA(5)-ATC(102)-TG(6)T-A(5)-NH₂**]. Trong khi đó, “ASO 1” thể hiện giá trị T_m là 73,0°C cho hệ kép ADN bổ sung 10 đơn phân hướng đích 10 đơn phân đầu C ở PNA được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong [(N → C) Fethoc-CA(5)G-**ACA(5)-ATC(102)-TG(6)T-A(5)-NH₂**].

Bảng 3: Giá trị T_m giữa PNA và ADN bổ sung 10 đơn phân hướng đích đầu N hoặc đầu C của PNA.

PNA	Giá trị T_m , °C	
	ADN 10 đơn phân dựa vào đầu N	ADN 10 đơn phân dựa vào đầu C
ASO 1	78,0	73,0
ASO 1M	72,0	72,0

Ví dụ về hoạt tính sinh học của dẫn xuất PNA có công thức I

Dẫn xuất PNA theo sáng chế được đánh giá về hoạt tính đối nghĩa TYR in trong tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 và tế bào biểu bì tạo hắc tố của người. Các ví dụ sinh học được đưa ra làm các ví dụ minh họa đặc tính sinh học của có công thức I, và do đó không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1 Bỏ qua exon được gây ra bởi “ASO 1M”.

“ASO 1M” được nêu ở bảng 2 có vùng gối lên nhau bổ sung 13 đơn phân được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') aauuguuuu**cacag** | **AUCAUUUGUAGCAGA**] kéo dài đoạn nối của “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của chuột. Trong khi đó, “ASO 1M” có phần bổ sung 9 đơn phân cùng với 4 sự bất cặp sai được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” trong trình tự ARN 30 đơn phân của [(5' → 3') ggguguuuug“u”**acag** | **AU**“UG”**U**“C”**UG**UAGCCGA] kéo dài đoạn nối của “intron 1” và “exon 2” ở tiền mARN TYR của người. 4 sự bất cặp sai được đánh dấu với dấu ngoặc kép (“ ”).

“ASO 1M” được đánh giá về khả năng gây ra việc bỏ qua “exon 2” TYR trong tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10, mặc dù “ASO 1M” có 4 sự bắt cặp sai với vùng cắt nối 3' của “exon 2” ở tiền mARN TYR của người. “ASO 1M” bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của chuột, có thể đóng vai trò làm hợp chất thay thế tốt cho “ASO 1” bổ sung hoàn toàn với tiền mARN TYR của người.

[Nuôi cấy tế bào & xử lý ASO] tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 (số CAT CRL-6475, ATCC) được giữ trong DMEM (môi trường thiết yếu tối thiểu của Eagle được biến đổi của Dulbecco) được bổ sung với 10% FBS, 1% streptomycin/penicillin, và 0,01 mg/ml insulin bò. Tế bào B16F10 được tăng trưởng trong đĩa nuôi cấy 60mm chứa 5mL DMEM được ủ trong 5 giờ với “ASO 1M” ở 0 (đối chứng âm), 1, 10, 100 hoặc 1000aM.

[Chiết ARN & tổng hợp cADN bằng PCR một bước] Sau khi ủ trong 5 giờ, toàn bộ ARN được chiết sử dụng kit “Universal ARN Extraction Kit” (số CAT 9767, Takara) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. 200ng mẫu ARN được dùng cho phản ứng phiên mã ngược 25 μ l sử dụng kit RT-PCR một bước Super Script[®] với polymeraza Platinum[®] Taq (số CAT 10928-042, Invitrogen) dựa vào bộ mồi đặc hiệu exon [exon 1_xuôi: (5' $\rightarrow$ 3') GTAAGTTTGGATTTGGGG; và exon 4_ngược: (5' $\rightarrow$ 3') AGAGC-GGTATGAAAGGAA] theo điều kiện chu trình sau: 50°C trong 30 phút và 94°C trong 2 phút, sau đó là 15 chu trình 30 giây ở 94°C, 30 giây ở 52°C, và 40 giây ở 72°C.

[Khuếch đại PCR được đặt vào] 1 μ l của cADN còn được khuếch đại ở phản ứng PCR được đặt vào 20 μ l (số CAT K2612, Bioneer) dựa vào bộ mồi của [exon 1n_xuôi: (5' $\rightarrow$ 3') GAGAACTAACTGGGGATGA; và exon 4n_ngược: (5' $\rightarrow$ 3') CGATAGGTGCATTGGCTT] theo điều kiện chu trình cụ thể như sau: 95°C trong 5 phút, sau đó là 30 chu trình 30 giây ở 95°C, 30 giây ở 52°C, và 40 giây ở 72°C.

[Đồng nhất sản phẩm bỏ qua exon] sản phẩm PCR được tách điện di trên gel 2% agarosa. Các dải có kích cỡ đích được thu lại và phân tích bằng kỹ thuật giải trình tự Sanger.

Fig. 9a thể hiện dữ liệu điện di của sản phẩm PCR. Các tế bào không được xử lý với “ASO 1M” tạo ra hai dải PCR mạnh, một dải của mARN TYR có độ dài đầy đủ và một dải của biến thể cắt nối mARN TYR thiếu exon 2 và 3. Do đó việc bỏ qua exon 2-3 được coi là xảy ra tự phát. Tuy nhiên, các tế bào được xử lý với “ASO 1M” ở từ 1 đến 1000aM chỉ tạo ra biến thể cắt nối mARN TYR thiếu exon 2 và 3. Do đó, “ASO 1M” làm tăng khuynh hướng bỏ qua exon 2-3 trong tế bào khối u hắc tố B16F10. Sản phẩm PCR bỏ qua exon được giải trình tự để được bỏ qua exon 2-3 như được thể hiện ở Fig. 9b.

Ví dụ 2: qPCR cho mARN TYR trong tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 được xử lý với “ASO 1M”.

“ASO 1M” được đánh giá bằng TYR được đặt vào qPCR về khả năng gây ra sự thay đổi về hàm lượng mARN TYR của chuột ở tế bào B16F10 như được mô tả dưới đây.

[Nuôi cấy tế bào & xử lý ASO] Tế bào B16F10 được tăng trưởng trong đĩa nuôi cấy 60mm chứa 5mL DMEM được xử lý với “ASO 1M” ở 0 (đối chứng âm), 1, 10, 100 hoặc 1000 aM. (2 đĩa nuôi cấy trên liều).

[Chiết ARN & tổng hợp cADN bằng PCR một bước] Sau khi ủ với “ASO 1M” trong 5 giờ, toàn bộ ARN được chiết từ tế bào sử dụng kit “Universal ARN Extraction Kit” (số CAT 9767, Takara) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. 200ng của mẫu ARN được sử dụng cho phản ứng phiên mã ngược 25 μ l sử dụng kit RT-PCR một bước (Invitrogen, USA) dựa vào bộ mồi đặc hiệu exon [exon 1_xuôi: (5' $\rightarrow$ 3') GTAAGTTTGGATTTGGGG; và exon 4_ngược: (5' $\rightarrow$ 3') AGAGCGGTATGAAAGGAA] theo điều kiện chu trình sau: 50°C trong 30 phút và 94°C trong 2 phút, sau đó là 15 chu trình 30 giây ở 94°C, 30 giây ở 52°C, và 40 giây ở 72°C.

[Khuếch đại qPCR được đưa vào] dung dịch cADN được pha loãng 100 lần, và 1 μ l của mỗi sản phẩm PCR được pha loãng được cho phản ứng PCR thời gian thực 20 μ l với bộ đầu dò Taqman kéo dài đoạn nối của exon 2 và exon 3 (số CAT

Mm00495818_m1, Thermo Fisher Scientific) theo điều kiện chu trình sau: 95°C trong 3 phút, sau đó là 30 chu trình 10 giây ở 95°C, và 30 giây ở 60°C.

[Phân tích thống kê] Thí nghiệm qPCR được đưa vào được lặp lại độc lập bốn lần, và mỗi hàm lượng mARN từ mỗi thí nghiệm được chuẩn hóa dựa vào hàm lượng mARN mà không xử lý “ASO 1M”. Hàm lượng mARN thu được từ 4 thí nghiệm riêng rẽ được dùng cho phân tích thống kê bởi kiểm định T student. Do đó, số lượng mẫu là 8 trên nồng độ.

Fig. 10a thể hiện dữ liệu qPCR được kết hợp, trong đó hàm lượng mARN có độ dài đầy đủ giảm đáng kể xuống khoảng 40% trong tế bào được xử lý với “ASO 1M” ở từ 1 đến 1000aM.

Ví dụ 3: Ức chế sự biểu hiện protein TYR ở tế bào khối u hắc tố B16F10 bởi “ASO 1M”.

“ASO 1M” được đánh giá về khả năng điều hòa giảm sự biểu hiện protein TYR ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 như được mô tả ở dưới đây.

Tế bào B16F10 được tăng trưởng trong đĩa nuôi cấy 60 mm chứa 5mL DMEM được xử lý “ASO 1M” ở 0zM (đối chứng âm), 10zM, 100zM, 1aM hoặc 10aM. 24 giờ sau, tế bào được rửa 2 lần với PBS lạnh (muối được đệm photphat - phosphate buffered saline), và sau đó được cho phân giải với 200μl 1X đệm phân giải tế bào (số CAT 9803, Cell Signaling Tech) được bổ sung với 1X dung dịch hỗn hợp chất ức chế proteaza (số CAT P8340, Sigma). 200μl của mỗi sản phẩm phân giải trong ống thí nghiệm 1,5mL với 100μl 5X đệm mẫu, và được đun sôi ở 100°C trong 5 phút. 20μl của sản phẩm phân giải được cho phân tách điện di trên gel TGX gradien 4-15% (số CAT 456-1086, Bio-Rad), và chuyển protein trên màng PVDF 0,45μm. Màng được dò với kháng thể kháng TYR (số CAT 9319, Cell Signaling Tech) và kháng thể kháng -β-actin (số CAT a3845, Sigma).

Fig. 10b đưa ra dữ liệu thấm miễn dịch sự biểu hiện protein TYR ở tế bào B16F10. Cường độ dải của sự biểu hiện TYR yếu hơn đáng kể ở sản phẩm phân giải

có xử lý “ASO 1M” hơn sản phẩm phân giải không có xử lý “ASO 1M”, tức là đối chứng âm. Protein TYR và hàm lượng mRNA giảm đáng bởi xử lý ASO. (So với "ví dụ 2").

Ví dụ 4: Ức chế sự tạo thành hắc tố ở tế bào khối u hắc tố B16F10 bởi “ASO 1M”.

“ASO 1M” được đánh giá về khả năng ức chế sự tạo thành hắc tố ở tế bào khối u hắc tố của chuột B16F10 như được mô tả ở dưới đây.

Tế bào B16F10 được nuôi cấy trước trong đĩa nuôi cấy 60mm chứa 5mL DMEM được xử lý với không có gì (đối chứng âm), với “ASO 1M” ở từ 1 đến 1000aM, hoặc với 10 hoặc 100 $\mu\text{g/mL}$ arbutin làm đối chứng dương. (2 đĩa nuôi cấy trên liều) 24 giờ sau, tế bào được rửa 2 lần với PBS lạnh, và được cho phân giải với 200 μL NaOH 1N. Mỗi sản phẩm phân giải được thu lại trong ống thí nghiệm 1,5mL, và để qua đêm ở nhiệt độ phòng. Hàm lượng hắc tố trong mỗi sản phẩm phân giải được xác định bằng khả năng hấp thụ bức xạ 475nm trên máy đọc ELISA. Thí nghiệm tương tự được lặp lại bốn lần sử dụng tế bào ở lần chuyển khác nhau. Bốn tập hợp dữ liệu hàm lượng hắc tố được dùng cho phân tích thống kê bằng kiểm nghiệm T student dựa vào hàm lượng hắc tố mà không xử lý (đối chứng âm).

Fig. 11 tóm tắt các thay đổi về hàm lượng hắc tố ở tế bào B16F10 sau khi ủ 24 giờ với “ASO 1M” hoặc với arbutin. Hàm lượng hắc tố giảm đáng kể xuống khoảng 15% và 25% ở tế bào được xử lý với 10 $\mu\text{g/mL}$ và 100 $\mu\text{g/mL}$ arbutin, tương ứng. Trong trường hợp tế bào được xử lý với “ASO 1M”, hàm lượng hắc tố giảm đáng kể xuống khoảng 15% mà không phụ thuộc nhiều vào liều. Hoạt tính ức chế của “ASO 1M” là có thể so sánh với hoạt tính của 10 $\mu\text{g/mL}$ arbutin.

Ví dụ 5 Điều chế kem tại chỗ chứa hợp chất có công thức I.

Hợp chất có công thức I, ví dụ “ASO 2” được bào chế dưới dạng kem để dùng tại chỗ cho đối tượng. Kem tại chỗ được điều chế như được mô tả dưới đây. Cho rằng có nhiều biến đổi có thể có của kem tại chỗ, việc bào chế này nên chỉ có mục đích làm ví dụ và không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế.

[Điều chế dung dịch A] Trong cốc, trộn nước khử ion (196g), EDTA dinatri (0,06g), glycerin (15g), dipropylene glycol (30g), phenoxyetanol (0,9g), ethylhexylglycerin (0,9g), copolyme hydroxyethyl acrylate/natri acryloyldimethyl taurat(2,4g), và 1nM dung dịch chứa nước của “ASO 2” (0,3mL). Đồng nhất hỗn hợp ở 70 ~ 75°C sử dụng máy trộn đồng nhất.

[Điều chế dung dịch B] Trong một cốc khác, trộn 70 ~ 75°C cetearyl ethylhexanoat (12g), dimethicon (6g), axit stearic/dầu thực vật được hydro hóa/rượu behenyl/rượu cetearyl (15g), bơ butyrospermum parkii (cây hạt mỡ) (9g), và polyglyxeryl-3-metylglucoza distearat/glyxeryl stearat SE/metyl glucoza sesquistearat (6g).

[Điều chế kem tại chỗ] Trộn đồng nhất “dung dịch A” và “dung dịch B” để đồng nhất ở 7.200 vòng/phút và 70 ~ 75°C trong 3 phút sử dụng máy trộn đồng nhất. Để hỗn hợp nguội dần đến nhiệt độ phòng để tạo ra kem tại chỗ chứa 1pM “ASO 2”.

Ví dụ 6: qPCR cho mARN TYR ở tế bào biểu bì tạo hắc tố của người được xử lý với “ASO 1”.

“ASO 1” được nêu ở bảng 1 là ASO TYR 13 đơn phân bổ sung hoàn toàn với vùng cắt nối 3' kéo dài đoạn nối của intron 1 và exon 2 ở TYR của người được đánh dấu “in đậm” và “gạch chân” ở trình tự tiền mARN TYR 30 đơn phân của người của [(5' → 3') ggguguuuuguacag | AUUGUCUGUAGCCGA].

“ASO 1” được đánh giá bằng TYR được đặt vào qPCR về khả năng gây ra sự thay đổi về hàm lượng mARN TYR ở tế bào biểu bì tạo hắc tố biểu mô sơ cấp của người như sau.

[Nuôi cấy tế bào & xử lý ASO] Tế bào biểu bì tạo hắc tố biểu mô sơ cấp (số CAT PCS-200-013, ATCC) tế bào được duy trì trong môi trường nền tế bào biểu mô (Dermal Cell Basal Medium) (số CAT PCS-200-030, ATCC) được bổ sung với thành phần kit tế bào biểu bì tạo hắc tố trưởng thành (Adult Melanocyte Growth Kit Component) (số CAT PCS-200-042, ATCC). Tế bào biểu bì tạo hắc tố được tăng trưởng trong đĩa nuôi cấy 60mm chứa 5mL môi trường nuôi cấy được xử lý với “ASO 1” ở 0zM (đối chứng âm), 1zM, 100zM, hoặc 10aM. (3 đĩa nuôi cấy trên nồng độ).

[Chiết ARN & tổng hợp cADN bằng PCR một bước] Sau khi ủ với “ASO 1” trong 5 giờ, toàn bộ ARN được chiết sử dụng “RNeasy Mini Kit” (số CAT 74106, Qiagen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. 200 ng mẫu ARN được cho phản ứng phiên mã ngược 25 μ l sử dụng kit RT-PCR một bước Super Script[®] với polymeraza Platinum[®] Taq (số CAT 10928-042, Invitrogen) dựa vào bộ mồi đặc hiệu exon [exon 1_xuôi(2): (5' $\rightarrow$ 3') CTCTTTGTCTGGATGCATT; và exon 5_ngược: (5' $\rightarrow$ 3') CTGTGGTAATCCTCTTTCT] theo các điều kiện chu trình cụ thể sau: 50°C trong 30 phút và 94°C trong 2 phút, sau đó là 15 chu trình 30 giây ở 94°C, 30 giây ở 50°C, và 1 phút ở 72°C.

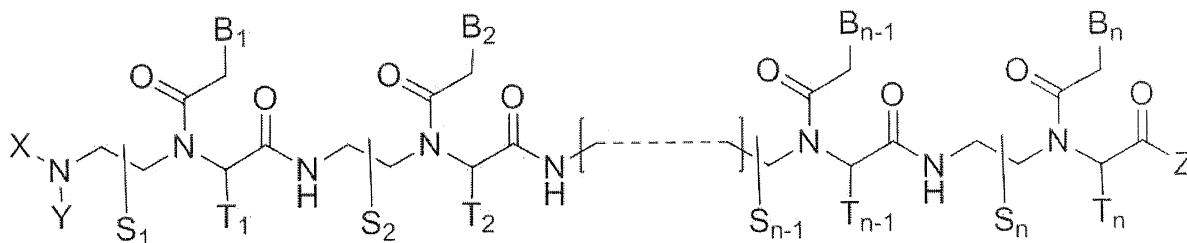
[Khuếch đại PCR được đặt vào] 1 μ L của cADN còn được khuếch đại ở phản ứng PCR được đặt vào 20 μ L (số CAT K2612, Bioneer) dựa vào bộ mồi đặc hiệu exon của [exon 2n_xuôi: (5' $\rightarrow$ 3') GATAAAGCTGCCAATTTC; và exon 3n_ngược: (5' $\rightarrow$ 3') TTGTGCATGCTGCTTTGA] dựa vào đầu dò Taqman [(5' $\rightarrow$ 3') 5,6-FAM-CACTGG-ZEN- AAGGATTTGCTAGTCCAC-3IABkFQ]. Điều kiện chu trình: 95 trong 3 phút, sau đó là 40 chu trình 10 giây ở 95°C, và 30 giây ở 60°C.

Fig. 12 thể hiện dữ liệu qPCR, trong đó hàm lượng mARN TYR có độ dài đầy đủ giảm xuống khoảng 30% trong tế bào biểu bì tạo hắc tố của người được xử lý với “ASO 1” ở từ 1 μ M đến 10 μ M. Sự giảm xuống quan sát được là đáng kể (kiểm nghiệm T student) ở tế bào được xử lý với “ASO 1” at 1 μ M và 10 μ M.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Dẫn xuất axit nucleic peptit có công thức I hoặc muối được dụng của nó:

[Công thức I]



trong đó,

n là số nguyên từ 10 đến 21;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gôi lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của [(5' → 3') UGUACAGAUUGUCU] ở tiền mARN tyrosinaza của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN tyrosinaza của người;

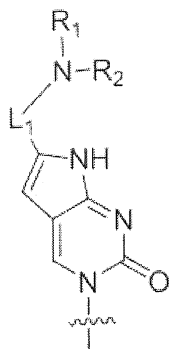
S₁, S₂, ..., S_{n-1}, S_n, T₁, T₂, ..., T_{n-1}, và T_n là gốc hydrido;

X và Y độc lập là gốc deuterido, hydrido [H], alkyl được thế hoặc không được thế, aryl được thế hoặc không được thế, alkylaxyl được thế hoặc không được thế, arylaxyl được thế hoặc không được thế, alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế, alkylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế, hoặc arylsulfonyl được thế hoặc không được thế;

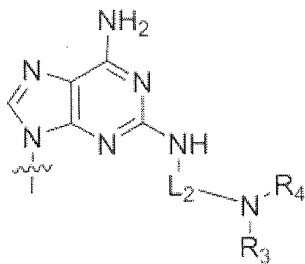
Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

B₁, B₂, ..., B_{n-1}, và B_n độc lập được chọn từ nucleobazơ tự nhiên bao gồm adenin, thymin, guanin, xytosin và uraxin, và nucleobazơ phi tự nhiên; và,

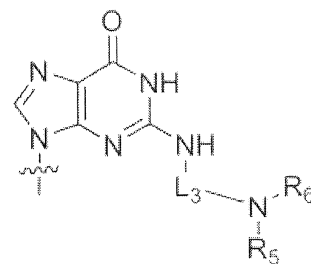
ít nhất bốn trong số B₁, B₂, ..., B_{n-1}, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV:



Công thức II



Công thức III



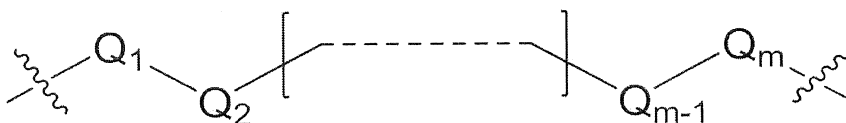
Công thức IV

trong đó,

R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 và R_6 là gốc hydrido;

L_1 , L_2 và L_3 là mỗi liên kết cộng hóa trị có công thức V liên kết cộng hóa trị nhóm amino bazơ với gốc nucleobazơ:

[Công thức V]



trong đó,

Q_1 và Q_m là gốc metylen ($-\text{CH}_2-$) được thế hoặc không được thế, và Q_m được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ;

Q_2 , Q_3 , ..., và Q_{m-1} độc lập được chọn từ gốc metylen và oxy ($-\text{O}-$); và,

m là số nguyên từ 1 đến 15.

2. Dẫn xuất axit nucleic peptit theo điểm 1, hoặc muối được dụng của nó:

trong đó,

n là số nguyên từ 11 đến 16;

hợp chất có công thức I có ít nhất phần gồi lên nhau bổ sung 10 đơn phân với trình tự tiền mARN 14 đơn phân của $[(5' \rightarrow 3') \text{UGUACAGAUUGUCU}]$ ở tiền mARN tyrosinaza của người;

hợp chất có công thức I bổ sung hoàn toàn với tiền mARN tyrosinaza của người;

$S_1, S_2, \dots, S_{n-1}, S_n, T_1, T_2, \dots, T_{n-1}$, và T_n là gốc hydrido;

X là gốc hydrido;

Y là gốc alkylaxyl được thế hoặc không được thế, hoặc alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế;

Z là gốc amino được thế hoặc không được thế;

$B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ adenin, thymine, guanin, xytosin, và nucleobazơ phi tự nhiên;

ít nhất năm trong số $B_1, B_2, \dots, B_{n-1}$, và B_n độc lập được chọn từ các nucleobazơ phi tự nhiên có công thức II, công thức III, hoặc công thức IV;

R_1, R_2, R_3, R_4, R_5 , và R_6 là gốc hydrido;

L_1 là $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_2-$, $-CH_2-O-(CH_2)_3-$, $-CH_2-O-(CH_2)_4-$, hoặc $-CH_2-O-(CH_2)_5-$ với đầu bên phải được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ; và,

L_2 và L_3 độc lập được chọn từ $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-O-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_2-O-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_2-$, $-(CH_2)_3-$, $-(CH_2)_4-$, $-(CH_2)_5-$, $-(CH_2)_6-$, $-(CH_2)_7-$, và $-(CH_2)_8-$ với đầu bên phải được liên kết trực tiếp với nhóm amino bazơ.

3. Dẫn xuất axit nucleic peptit theo điểm 1, dẫn xuất này được chọn từ nhóm các dẫn xuất axit nucleic peptit được nêu dưới đây hoặc muối được dụng của nó:

$(N \rightarrow C)$ Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Ac-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Benzoyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Piv-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

$(N \rightarrow C)$ Metyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

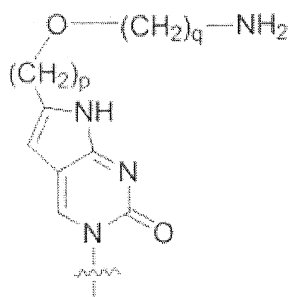
$(N \rightarrow C)$ n-Propyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;

(N→C) Fmoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) p-Toluensulfonyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) H-Lys-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-Lys-Gly-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-Lys-NH₂;
 (N→C) Fethoc-Val-Gly-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Ac-Arg-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Benzyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Phenyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C)
 [N-(2-Phenyletyl)amino]carbonyl-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Benzoyl-Leu-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-NH₂;
 (N→C) Piv-Lys-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)-Val-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(7)G-AC(2O2)A-A(4)TC(1O2)-TG(6)T-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-CA(5)G-ACA(5)-ATC(1O2)-TG(6)T-A(5)C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(6)TA(5)-C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AG(6)A-CA(5)A-TC(1O2)T-G(6)TA(5)-CA(2O2)A-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C(1O2)-AA(6)-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C(1O2)-AA(6)-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O2)-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O2)-A-NH₂;
 (N→C)
 Fethoc-AC(1O2)A-GA(6)C-AA(6)T-CTG(6)-TA(6)C-A(5)AA(2O3)-A-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O4)T-AC(1O2)A-GA(4)C-AAT-CTG(6)-TA(6)C-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-GA(4)C-AAT-C(1O2)TG-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-G(2O2)AC-A(5)AT-C(1O2)TG-NH₂;
 (N→C) Fethoc-GC(1O2)T-A(3)CA-GA(4)C-A(2O2)AT-C(1O2)TG-NH₂; và
 (N→C) Fethoc-AC(1O2)A-GA(5)C-AA(5)T-CTG(6)-TA(5)C(1O2)-AA(5)-NH₂;

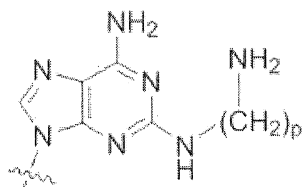
trong đó,

A, G, T, và C là đơn phân PNA có nucleobazơ tự nhiên của adenin, guanin, thymin, và xytosin tương ứng;

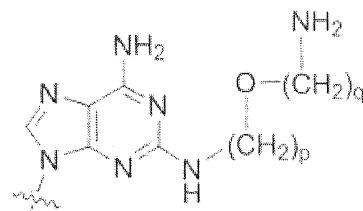
C(pOq), A(p), A(pOq), G(p), và G(pOq) là đơn phân PNA với nucleobazơ phi tự nhiên có công thức VI, công thức VII, công thức VIII, công thức IX, và công thức X tương ứng;



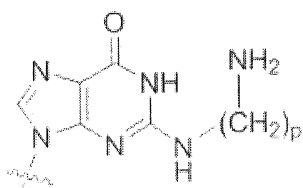
Công thức VI



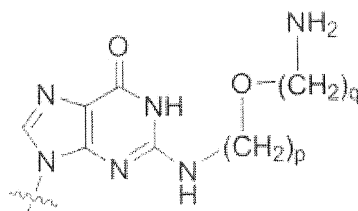
Công thức VII



Công thức VIII



Công thức IX



Công thức X

trong đó,

p và q là số nguyên; và,

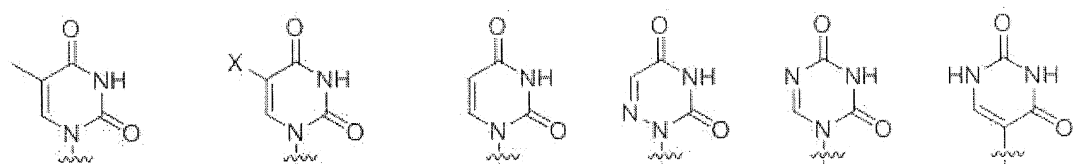
các chữ viết tắt cho các phần tử thế đầu N và C được mô tả cụ thể như sau: “Fmoc-” là chữ viết tắt cho “[9-florenyl)metyloxy]carbonyl-”; “Fethoc-” cho “[2-(9-florenyl)etyl-1-oxy]carbonyl-”; “Ac-” cho “axetyl-”; “Benzoyl-” cho “benzencabonyl-”; “Piv-” cho “pivalyl-”; “Metyl-” cho “metyl-”; “n-Propyl-” cho “1-(n-propyl)-”; “H-” cho nhóm “hydrido-”; “p-Toluensulfonyl” cho “(4-metylbenzen)-1-sulfonyl-”; “-Lys-” cho gốc axit amin “lysin”; “-Val-” cho gốc axit amin “valin”; “-Leu-” cho gốc axit amin “leuxin”; “-Arg-” cho gốc axit amin “arginin”; “-Gly-” cho gốc axit amin “glyxin”; “[N-(2-Phenyletyl)amino]carbonyl-” cho “[N-1-(2-phenyletyl)amino]carbonyl-”; “Benzyl-” cho “1-(phenyl)metyl-”;

“Phenyl-” cho “phenyl-”; “Me-” cho “metyl-”; và “-NH₂” cho nhóm “-amino” không được thể.

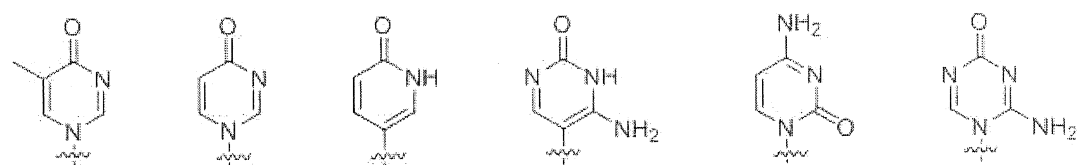
4. Dược phẩm để điều trị sự tạo thành sắc tố da quá mức bằng cách điều hòa giảm của gen tyrosinaza của người, dược phẩm này chứa dẫn xuất axit nucleic peptit theo điểm 1, hoặc muối dược dụng của nó.

5. Dược phẩm để điều trị chứng tăng sắc tố da do sự tạo ra melanin quá mức, dược phẩm này chứa dẫn xuất axit nucleic peptit theo điểm 1, hoặc muối dược dụng của nó.

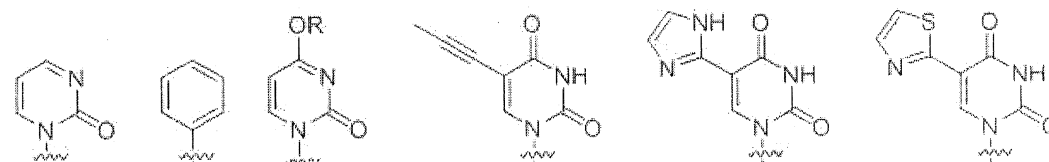
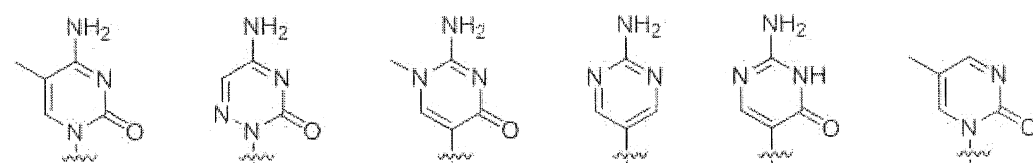
Fig. 1a



Thymin X = F, Cl, Br hoặc I Uraxin



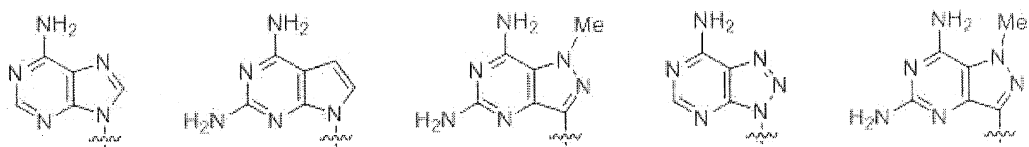
Xytosin



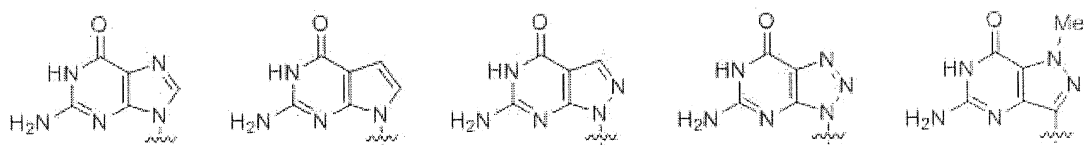
R = alkyl



Fig. 1b



Adenin



Guanin

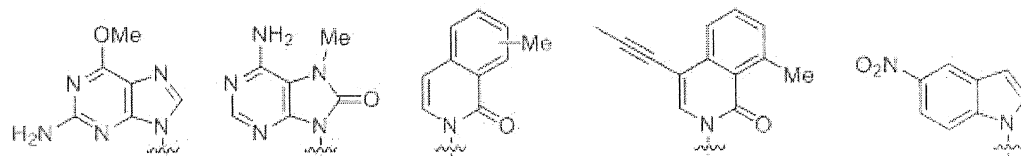
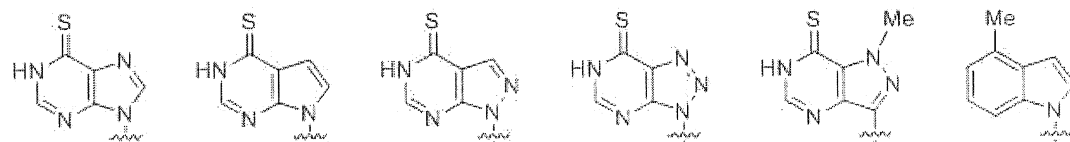
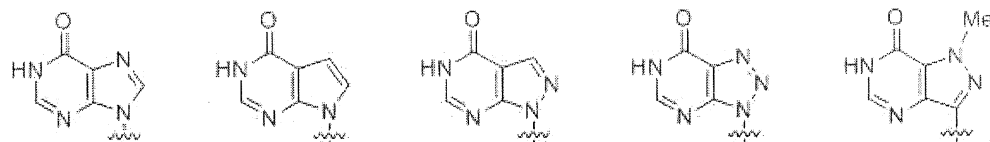
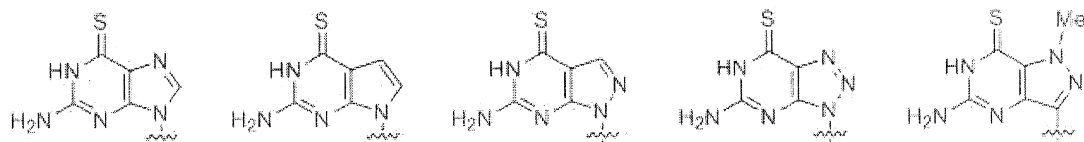
6-O-methylguanin

Fig. 1c

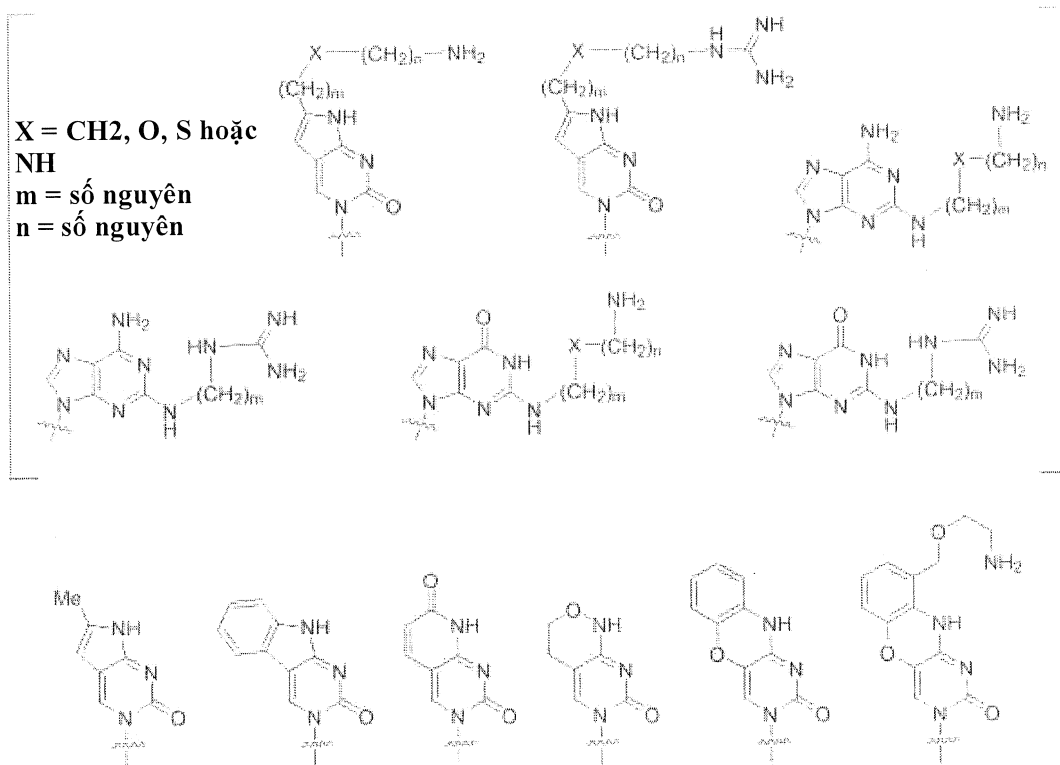
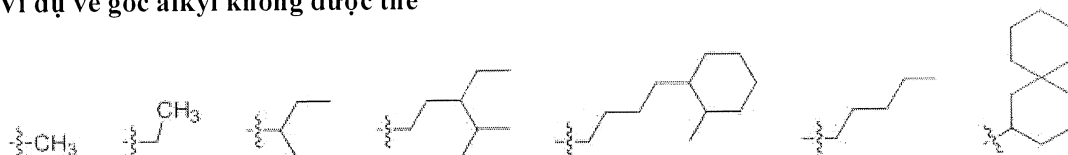


Fig. 2a

Ví dụ về gốc alkyl không được thể



Ví dụ về gốc alkyl được thể

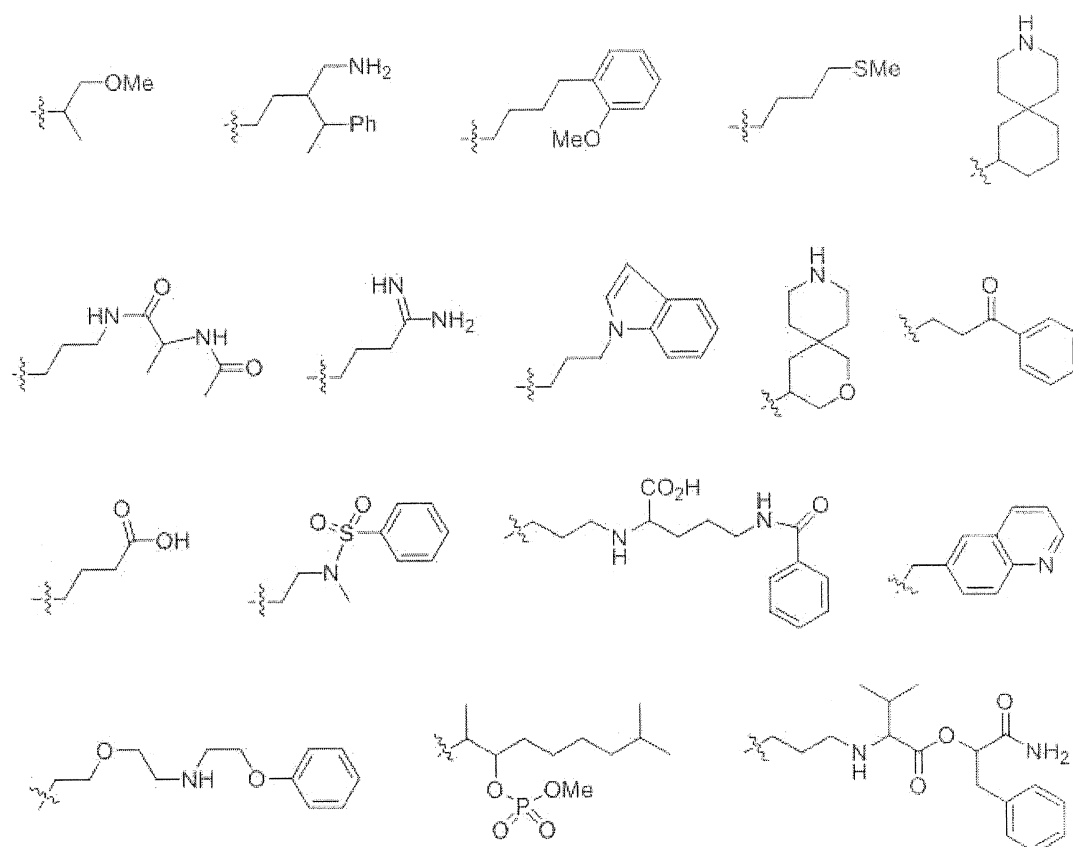
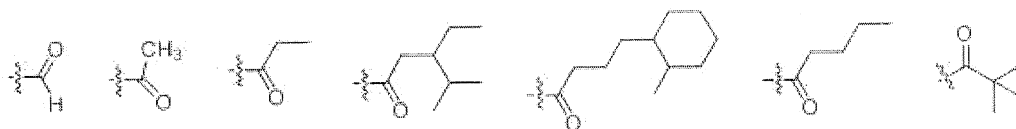
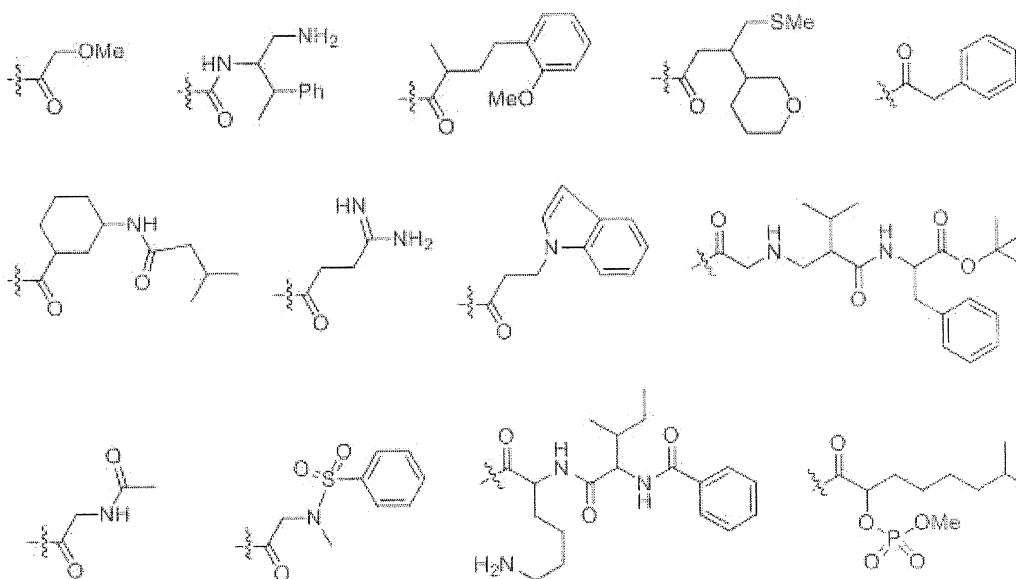


Fig. 2b

Ví dụ về gốc alkylaxyl không được thể



Ví dụ về gốc alkylaxyl được thể



Ví dụ về gốc arylaxyl được thể hoặc không được thể

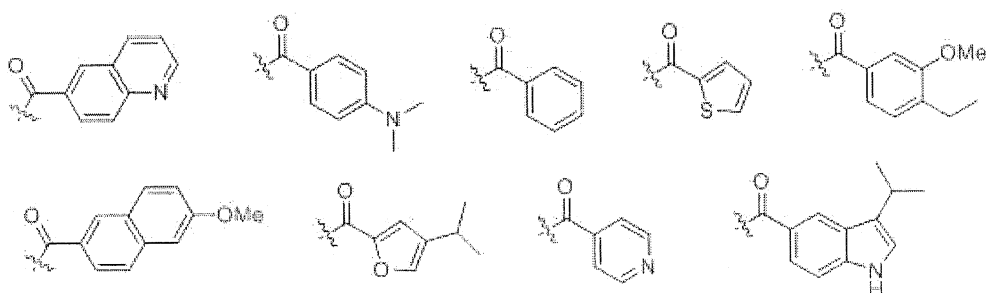
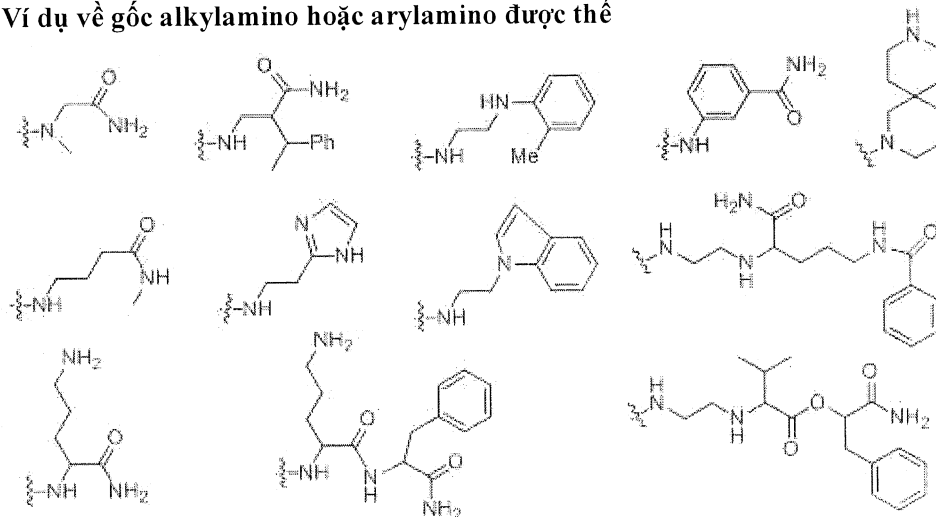
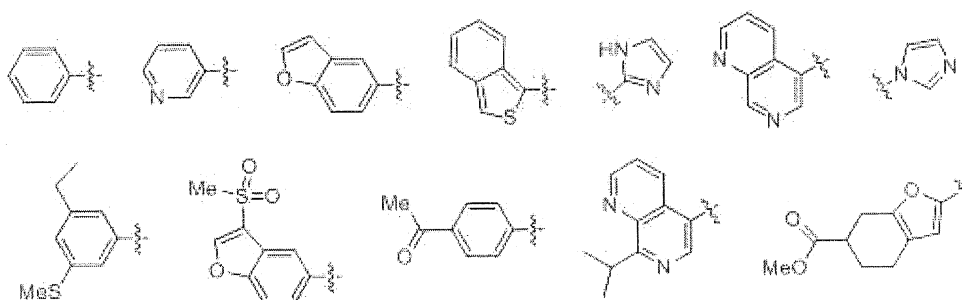


Fig. 2c

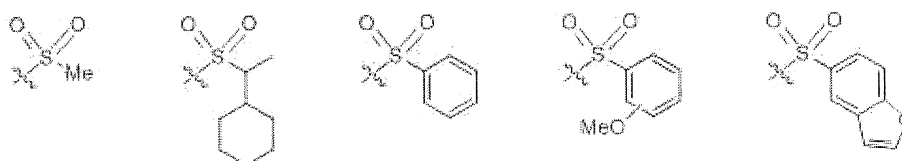
Ví dụ về gốc alkylamino hoặc arylamino được thế



Ví dụ về gốc aryl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc alkylsulfonyl hoặc arylsulfonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc alkyl- hoặc aryl-phosphonyl được thế hoặc không được thế

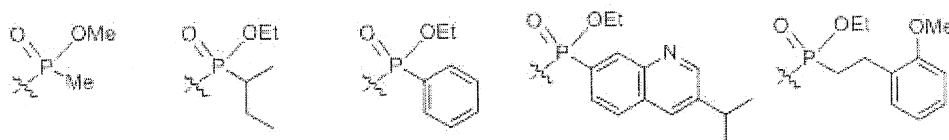
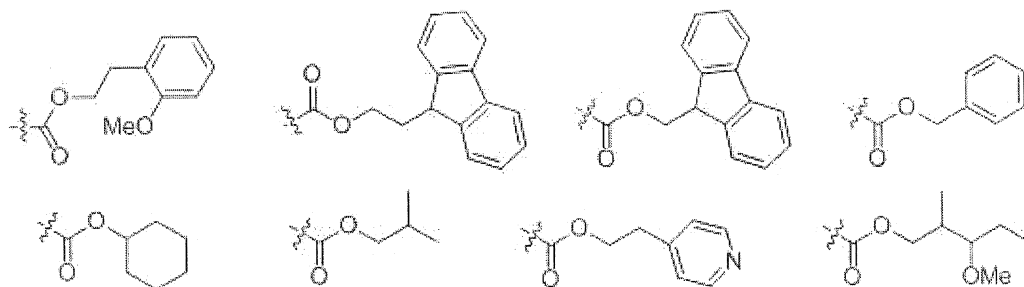
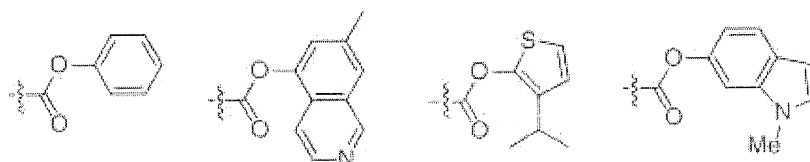


Fig. 2d

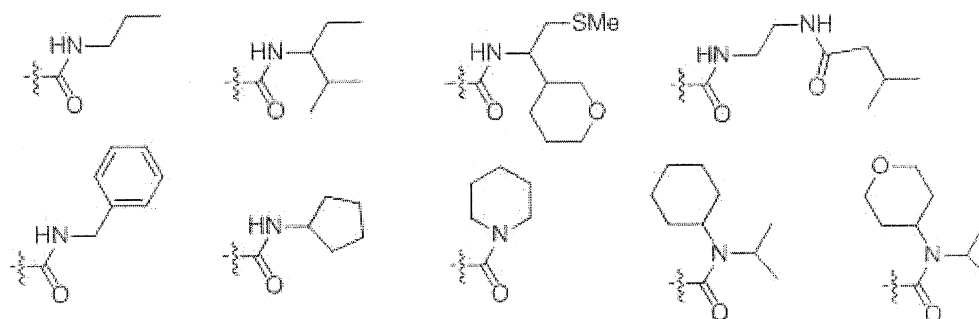
Ví dụ về gốc alkyloxycarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc aryloxycarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc alkylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc arylaminocarbonyl được thế hoặc không được thế

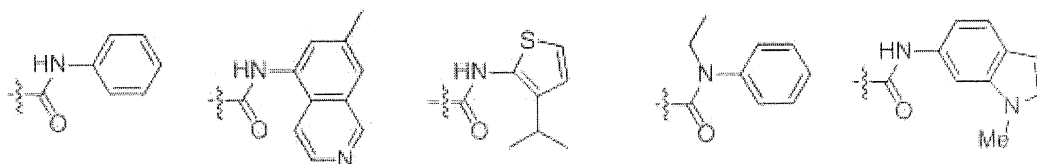
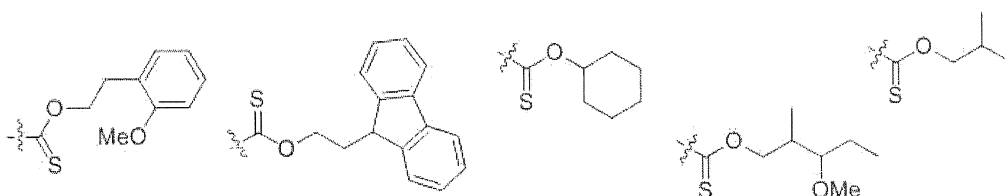
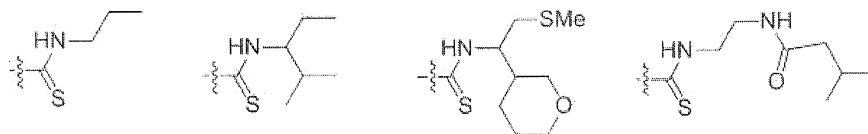


Fig. 2e

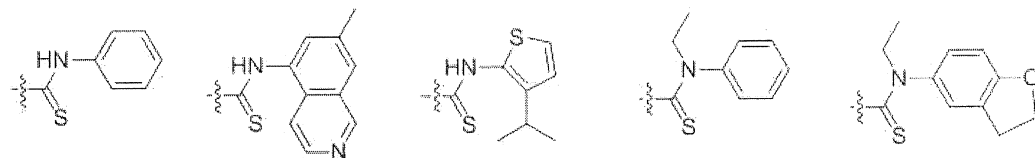
Ví dụ về gốc alkyloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc alkylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc arylaminothiocarbonyl được thế hoặc không được thế



Ví dụ về gốc aryloxythiocarbonyl được thế hoặc không được thế

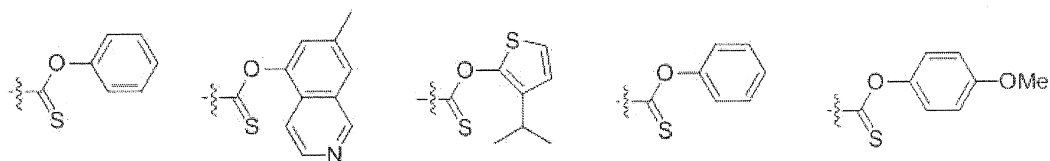


Fig. 3:

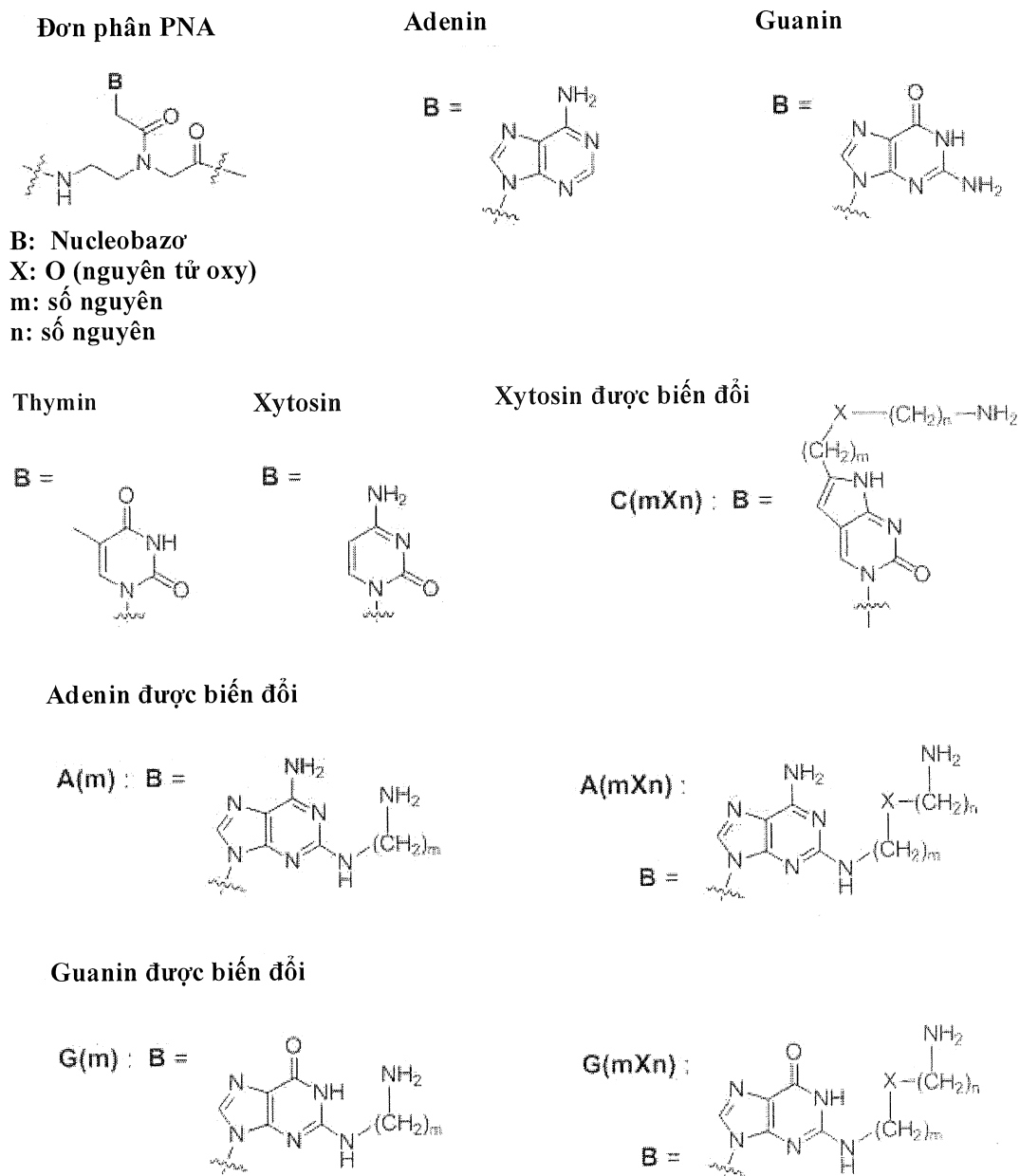


Fig. 4:

Cấu trúc hóa học cho chữ viết tắt cho nhóm thế đầu N hoặc C

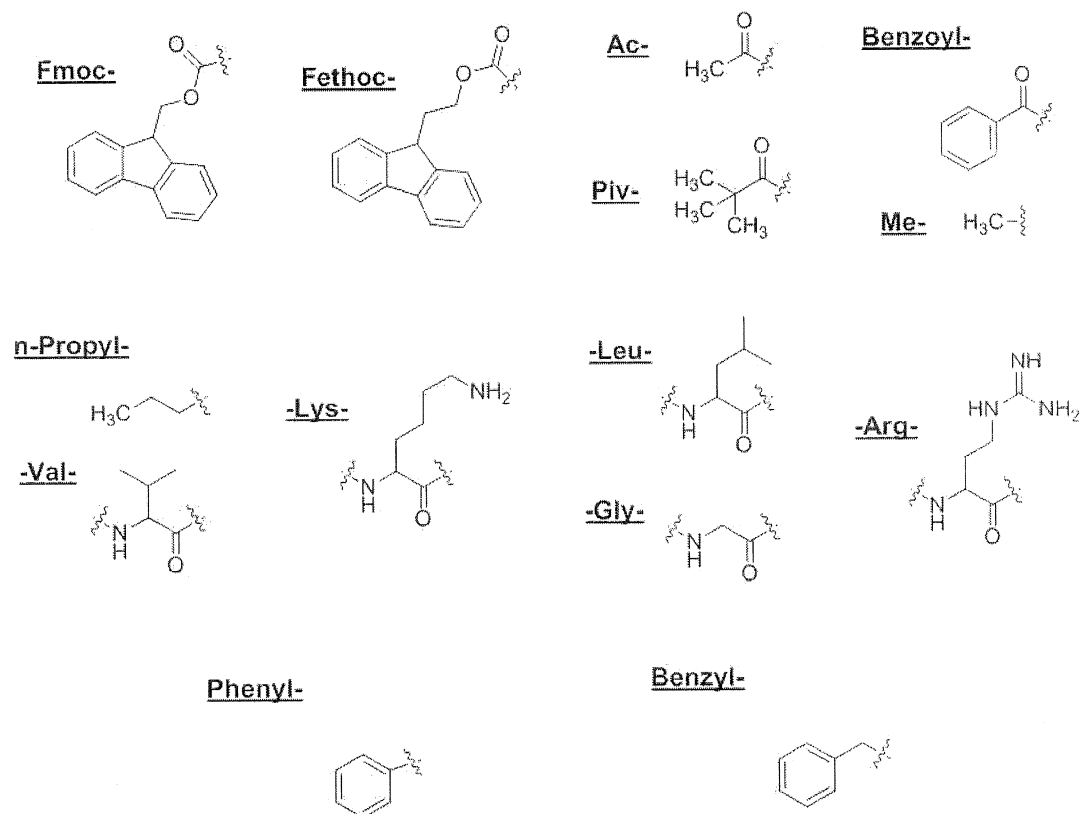


Fig. 5a

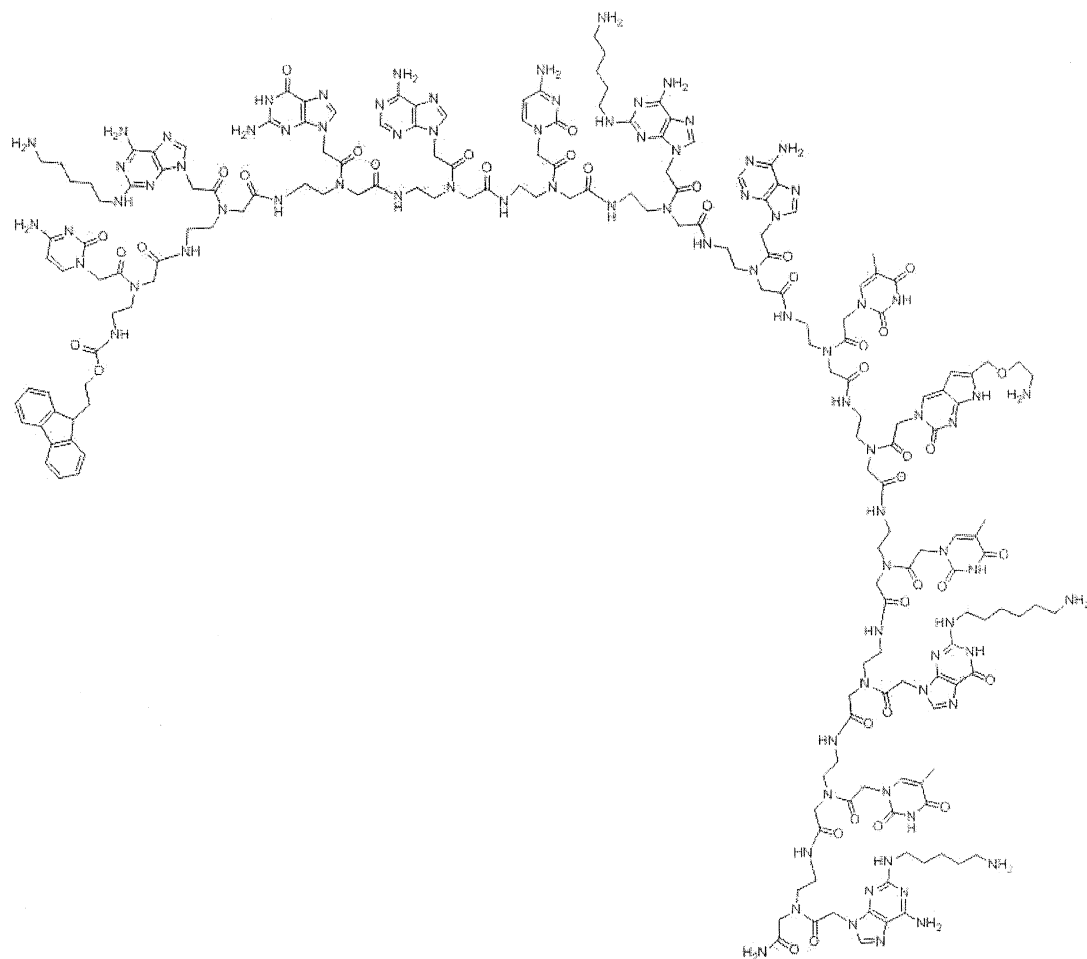


Fig. 5b

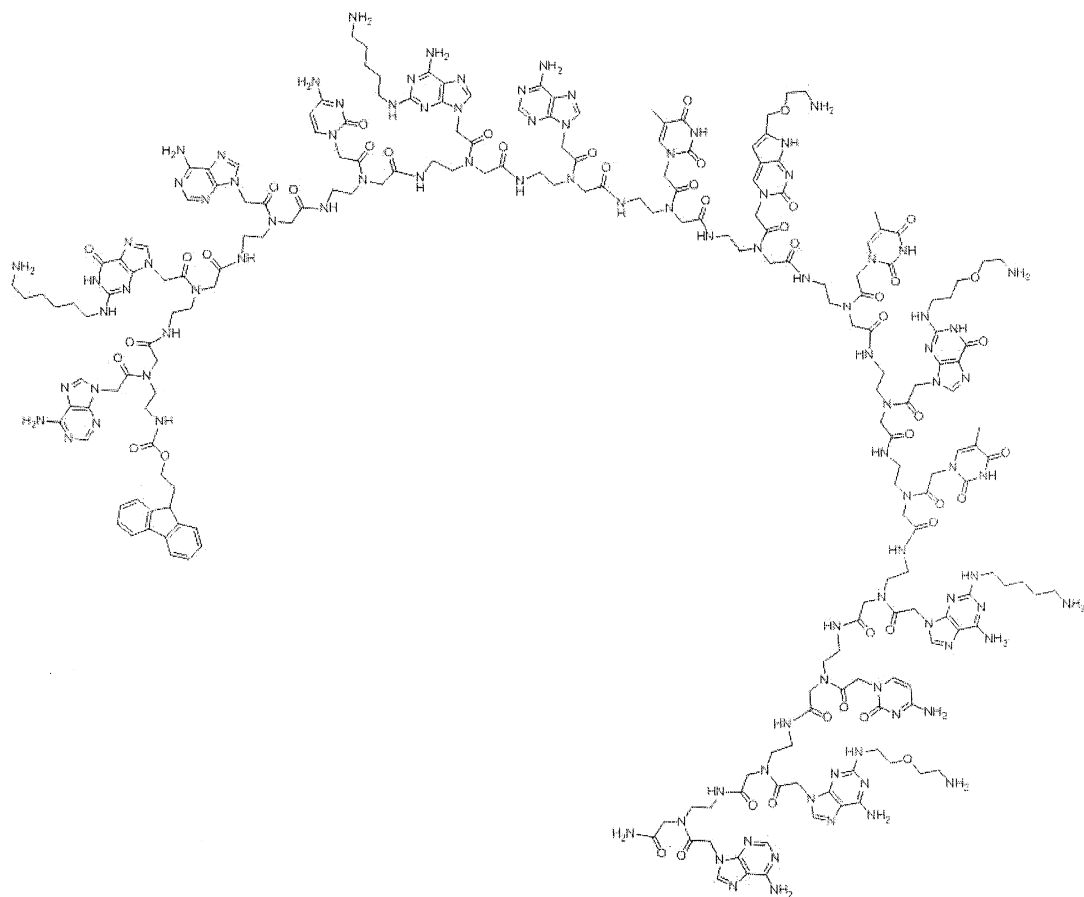
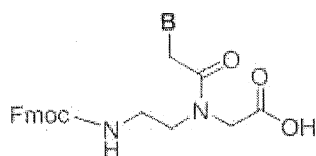


Fig. 6:

Đơn phân Fmoc-PNA

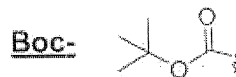


B: Nucleobazơ có (các) nhóm bảo vệ

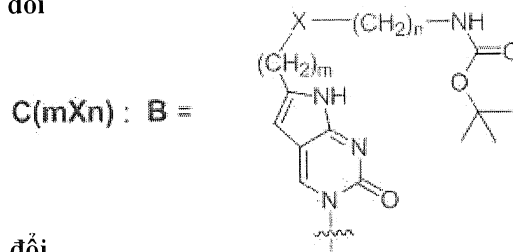
X: metylen, oxy, lưu huỳnh hoặc amino được bảo vệ Boc

m: số nguyên

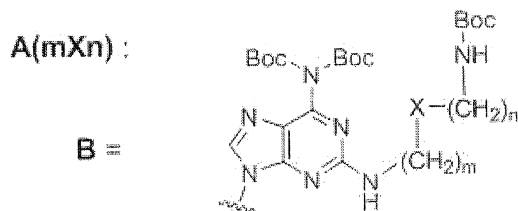
n: số nguyên



Xytosin được biến đổi



Adenin được biến đổi



Guanin được biến đổi

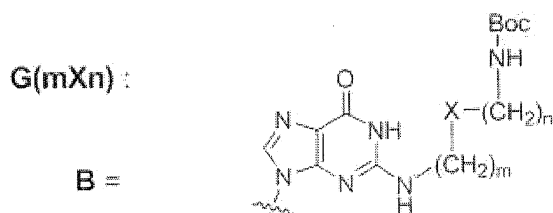


Fig. 7a

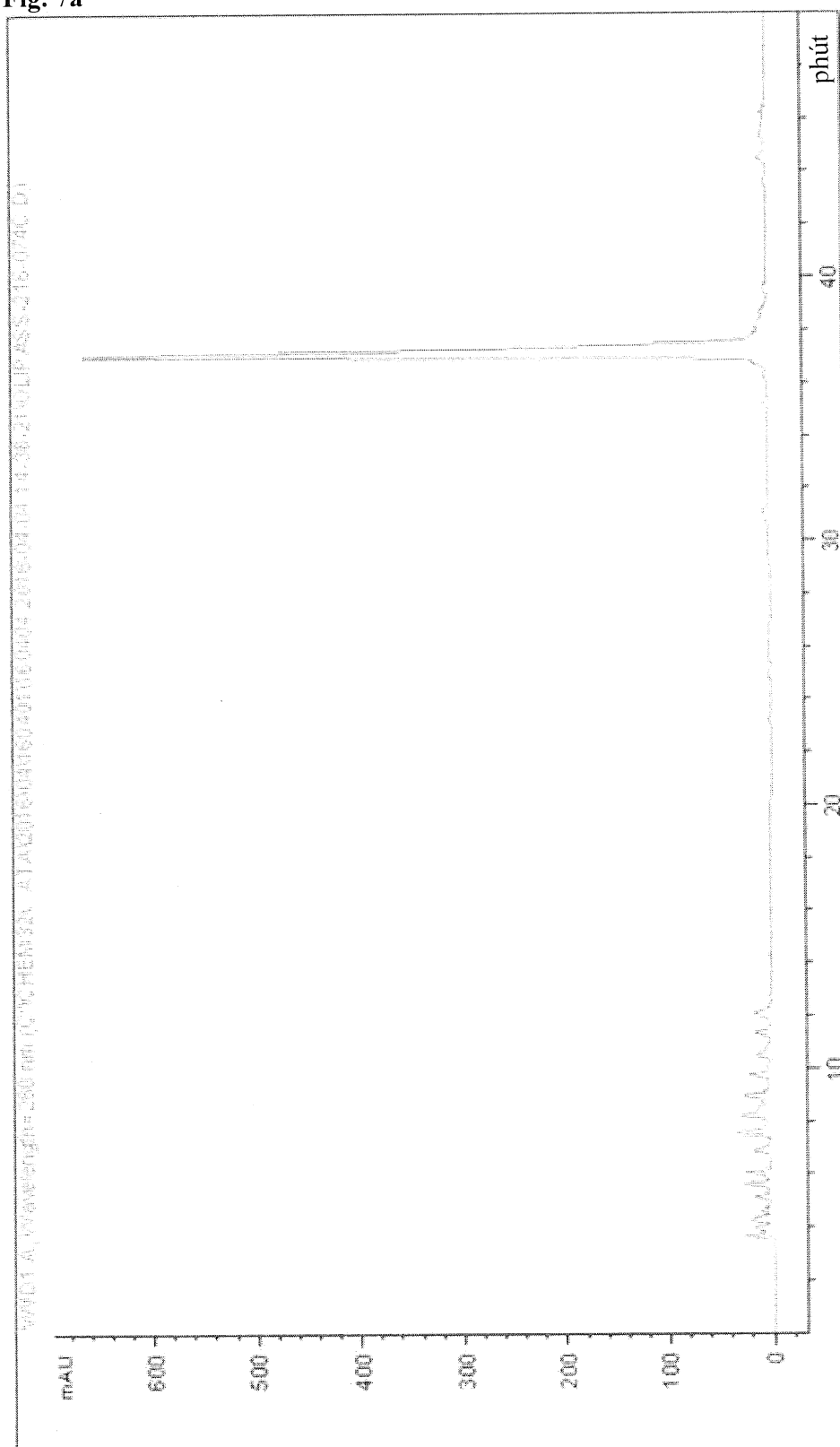


Fig. 7b

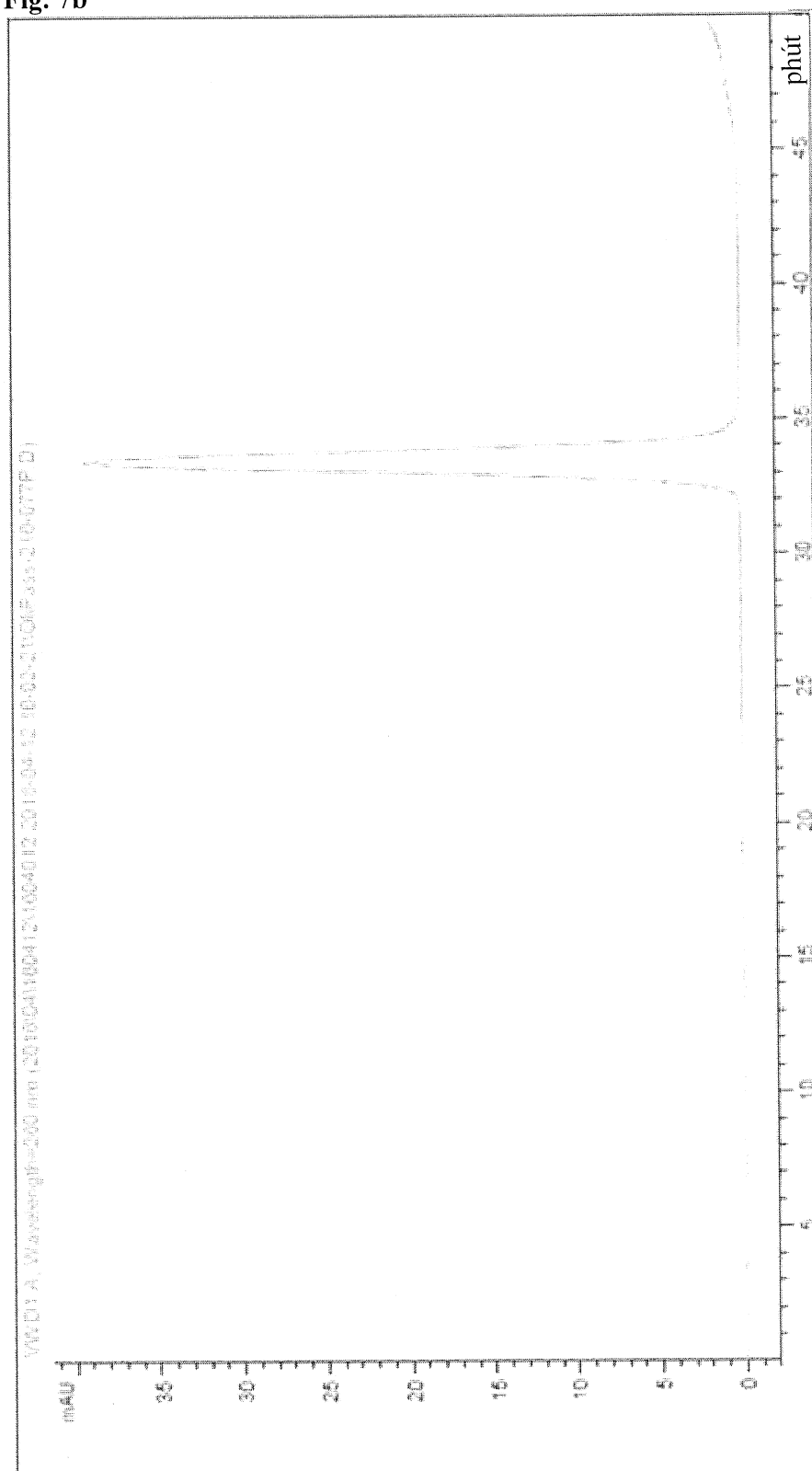
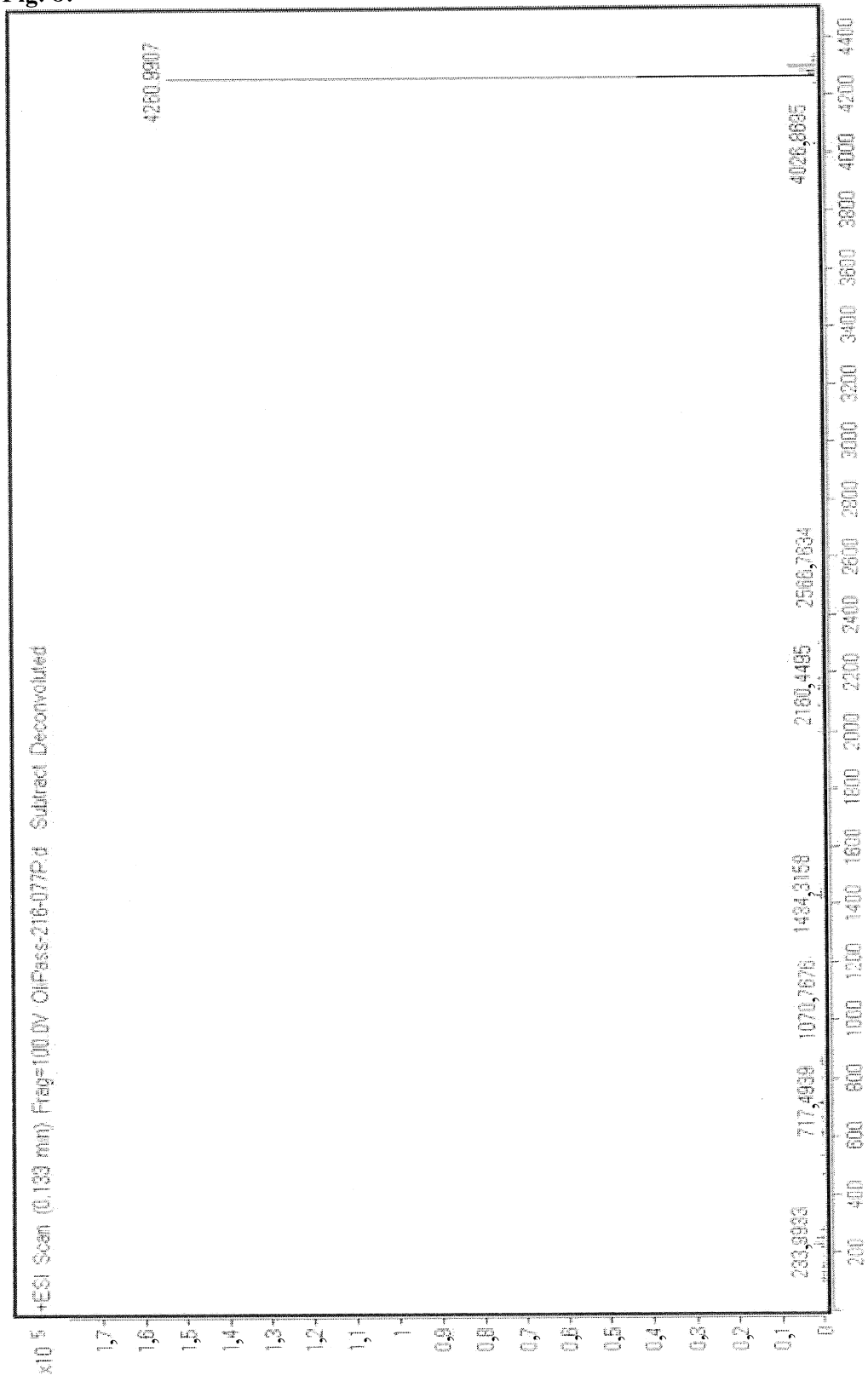


Fig. 8:



ASO 1M (aM)

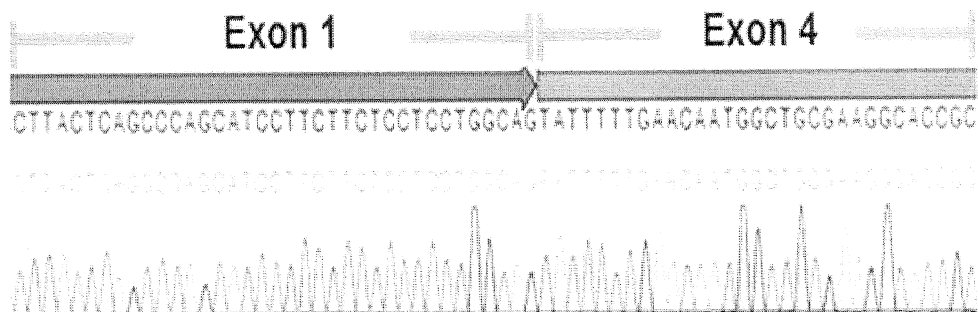
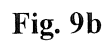


Fig. 10a

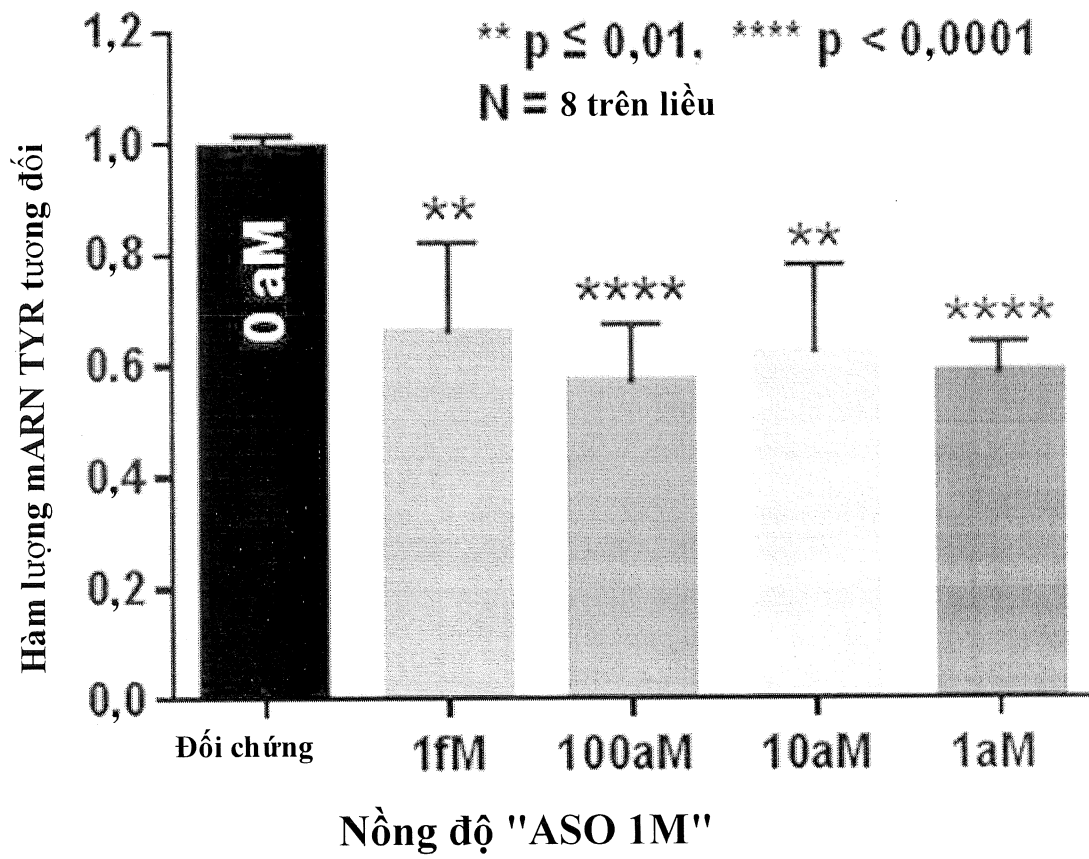


Fig. 10b

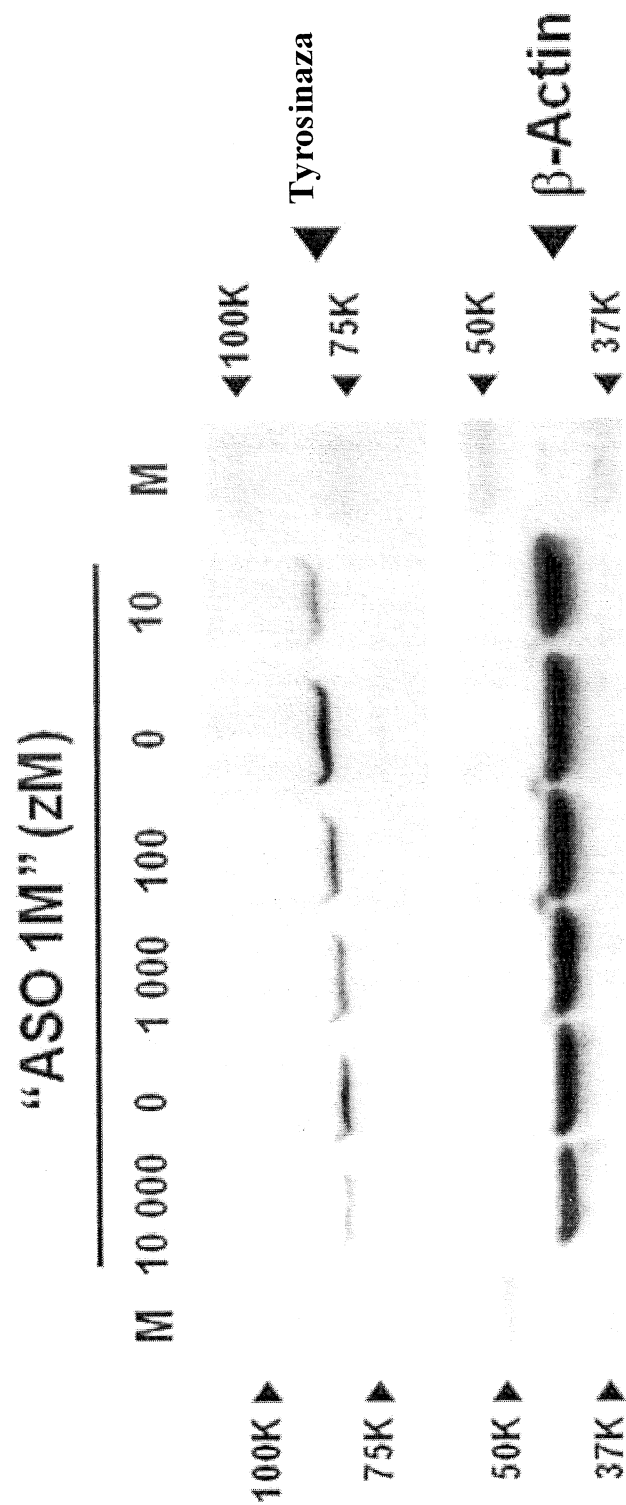


Fig. 11:

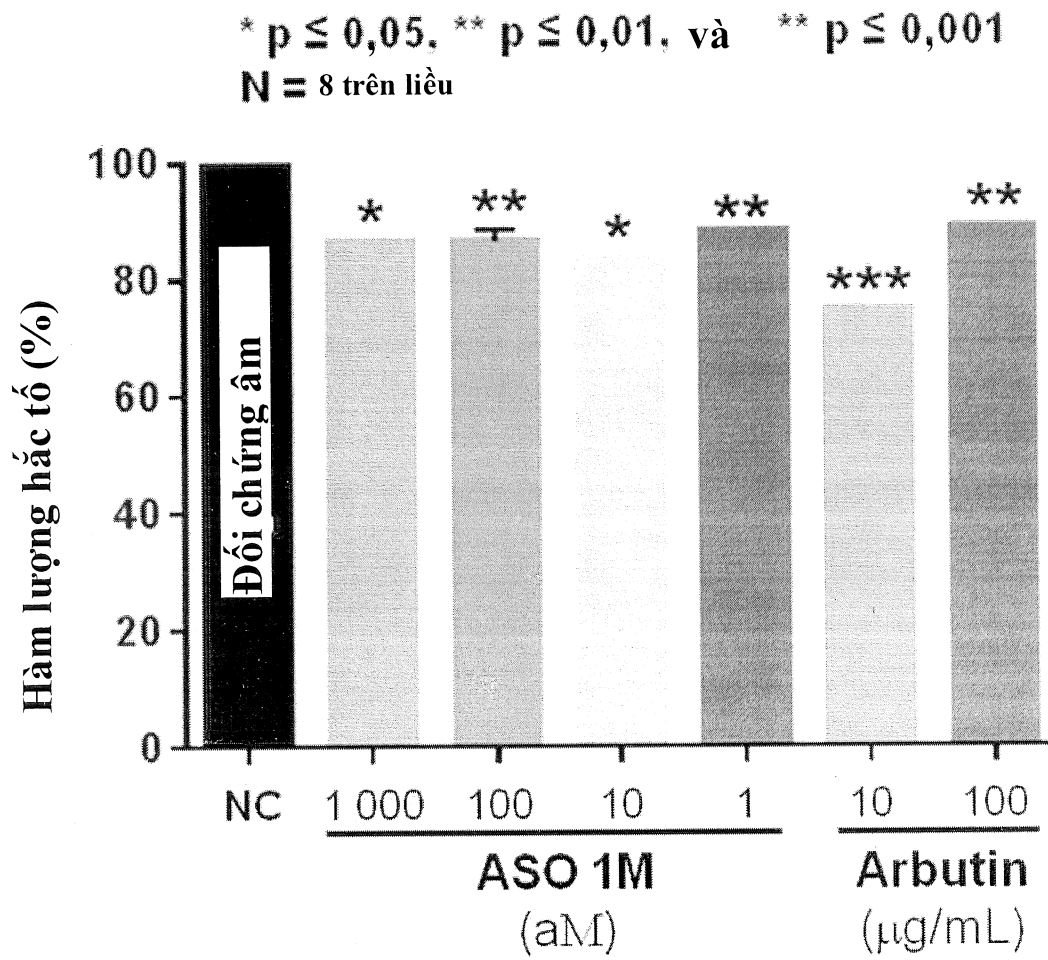
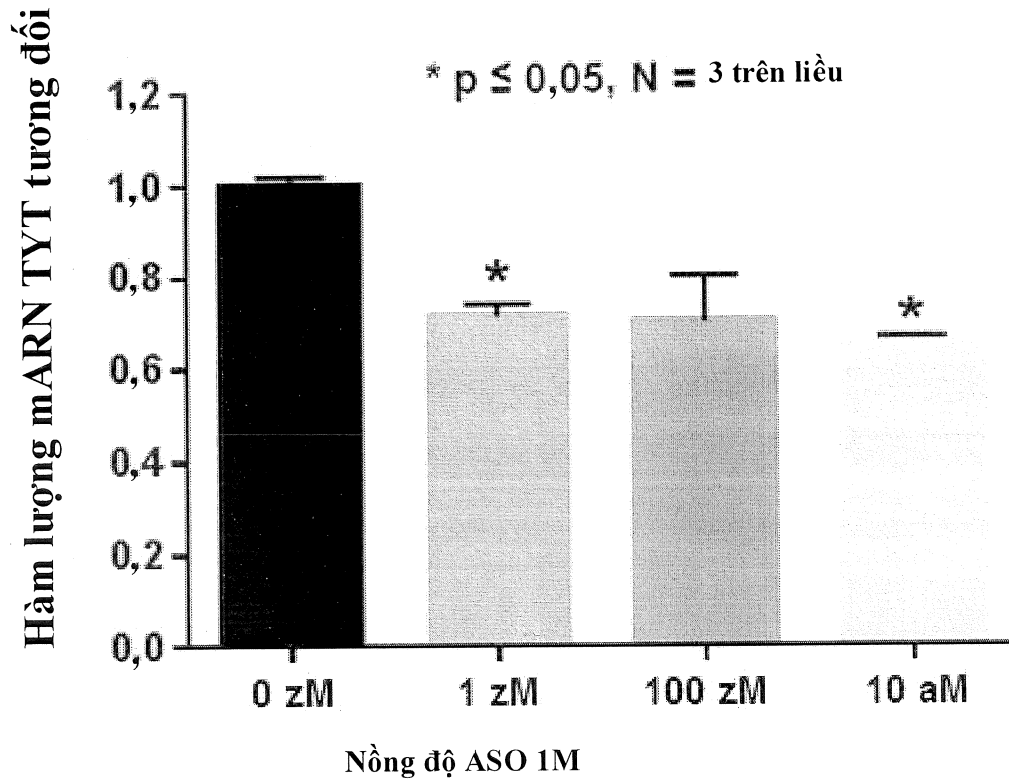


Fig. 12:



DANH SÁCH TRÌNH TỰ

- <110> Jung, Daram
 Park, HyeMi
 Han, Seon-Young
 Kim, Soyoung
- <120> DẪN XUẤT AXIT NUCLEIC PEPTIT VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA DẪN XUẤT AXIT NUCLEIC PEPTIT NÀY
- <130> 2018op103ar
- <150> KR10-2017-0093605
 <151> 2017-07-24
- <150> KR10-2017-0167558
 <151> 2017-12-07
- <160> 38
- <170> PatentIn version 3.2
- <210> 1
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
- <220>
 <223> Trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi
- <220>
 <221> misc_feature

<222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 1
 cngacnatnt ntn

13

<210> 2
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 2
 anngcanc tc tnnc

14

<210> 3
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 3
 cngacnatnt ntn

13

<210> 4
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 4
 cngacnatnt ntn

13

<210> 5
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 5
cngacnatnt ntn

13

<210> 6
<211> 13
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(13)
<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> Mono-alkylated N-terminal

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> bazơ được biến đổi

<400> 6
cngacnatnt ntn

13

<210> 7
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Mono-alkylated N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 7
 cngacnatnt ntn

13

<210> 8
 <211> 13

<212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 8
 cngacnatnt ntn

13

<210> 9
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Sulfonylated N-terminal

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 9

cngacnatnt ntn

13

<210> 10

<211> 13

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 10
 cngacnatnt ntn

13

<210> 11
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hưởng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 11
 cngacnatnt ntn

13

<210> 12
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 12
 cngacnatnt ntn

13

<210> 13
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 13

cngacnatnt ntn

13

<210> 14

<211> 13

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu C được axetyl hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 14
 cngacnatnt ntn

13

<210> 15
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Mono-alkylated N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 15
 cngacnatnt ntn

13

<210> 16
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> Mono-arylated N-terminal

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 16
 cngacnatnt ntn

13

<210> 17
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được ure hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 17
 cngacnatnt ntn

13

<210> 18
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu C được axetyl hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 18
cngacnatnt ntn

13

<210> 19
<211> 13
<212> ADN
<213> Trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(13)
<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1)
<223> đầu C được axetyl hóa

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> bazơ được biến đổi

<400> 19
cngacnatnt ntn

13

<210> 20
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 20
 cnganantnt nta

13

<210> 21
 <211> 13

<212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 21
 ctnacnatnt ntn

13

<210> 22
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo
 <220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (11)..(11)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 22

cngatnatnt ntn

13

<210> 23

<211> 13

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 23
 tngacnatnt ntn

13

<210> 24
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 24
 tcngannatn tntn

14

<210> 25
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(6)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 25
 cngacnatnt ntnc

14

<210> 26
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 26

anacnatttn tnc

13

<210> 27

<211> 15

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(15)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 27
 anacnatntn tncna

15

<210> 28
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(17)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 28
 anagncantc tntnnan

17

<210> 29
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(17)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 29
 antgncnttc tntanna

17

<210> 30
 <211> 14
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(14)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (9)..(9)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 30
 gncantctnt nnan

14

<210> 31
 <211> 19
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(19)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (16)..(16)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 31

anagcantic tntncnana

19

<210> 32

<211> 13

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(13)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 32

antctntncn ana

13

<210> 33

<211> 19

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature
 <222> (1)..(19)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (14)..(14)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (16)..(16)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 33
 anagncantc tntncnana

19

<210> 34
 <211> 18
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(18)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (15)..(15)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 34
 gntanagnca atctntnc

18

<210> 35
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(15)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 35
 gntncagnca atntg

15

<210> 36
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(15)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> bazơ được biến đổi

<400> 36

gntncanacn atntg

15

<210> 37

<211> 15

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự nhân tạo được hướng đích tyrosinaza của người

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(15)

<223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> đầu N được carbamat hóa

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (4)..(4)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> bazơ được biến đổi

<400> 37
 gntncagncn atntg

15

<210> 38
 <211> 13
 <212> ADN
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>
 <223> mouse tyrosinase targetted artificial sequence

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(13)
 <223> oligonucleotit được biến đổi PNA

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> đầu N được carbamat hóa

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> bazơ được biến đổi

<220>

<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> bazơ được biến đổi

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> bazơ được biến đổi

<400> 38
cnantgntnt ntg

13