



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

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN) (11)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ



1-0053350

(51)^{2020.01} C12N 15/113; A61P 7/00; A61K 31/713; (13) B
A61K 48/00

(21) 1-2021-08184 (22) 21/05/2020
(86) PCT/CN2020/091484 21/05/2020 (87) WO2020/233650 26/11/2020
(30) 201910430588.7 22/05/2019 CN
(45) 25/11/2025 452 (43) 25/04/2022 409A
(73) SUZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO., LTD. (CN)
No.168, Yuanfeng Road, Yushan Town, Kunshan, Jiangsu 215300, China
(72) ZHANG, Hongyan (SE); GAO, Shan (CN); KANG, Daiwu (SE); LIU, Tao (CN).
(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) THỂ TIẾP HỢP SIARN VÀ PHƯƠNG PHÁP ỨC CHẾ SỰ BIỂU HIỆN CỦA GEN
YẾU TỐ ĐÔNG MÁU XI (COAGULATION FACTOR XI) IN VITRO

(21) 1-2021-08184

(57) Sáng chế đề xuất siARN ức chế sự biểu hiện của gen yếu tố đông máu XI (Coagulation Factor XI), dược phẩm chứa siARN, thể tiếp hợp, kit chất phản ứng, dược phẩm chứa nó và thể tiếp hợp để điều chế thuốc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh huyết khối và đột quỵ do thiếu máu cục bộ.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến axit nucleic có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen yếu tố đông máu trong huyết tương XI (Plasma Coagulation Factor XI -FXI), và dược phẩm và thể tiếp hợp siARN chứa axit nucleic. Sáng chế cũng đề cập đến phương pháp sản xuất các axit nucleic này, dược phẩm và thể tiếp hợp siARN.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Yếu tố đông máu trong huyết tương XI (Plasma Coagulation Factor XI) (ở đây được đề cập đến là “FXI”), thành phần quan trọng của con đường hoạt hóa tiếp xúc, là có lợi để sản xuất thrombin, mà lần lượt là thành phần quan trọng mà tham gia vào sự tạo thành fibrin và tạo ra sự bảo vệ khỏi quá trình phân hủy fibrin. Các mức FXI cao là một trong những yếu tố nguy cơ đối với chứng huyết khối tĩnh mạch. Bằng cách ức chế sự biểu hiện của gen FXI, có thể ngăn ngừa và điều trị bệnh huyết khối (cụ thể là chứng huyết khối tĩnh mạch và đột quỵ do thiếu máu cục bộ) ở mức độ tế bào.

Dựa trên cơ chế can thiệp ARN (RNA interference-RNAi), ARN can thiệp nhỏ (small interfering RNA-siRNA) có thể ức chế hoặc phong bế sự biểu hiện của gen đích quan tâm bất kỳ theo phương thức đặc hiệu trình tự, nhờ đó thu được mục đích điều trị.

Một trong những công nghệ chủ chốt để phát triển thuốc siARN mà ức chế sự biểu hiện của gen FXI và điều trị bệnh huyết khối là tìm thấy siARN thích hợp và cải biến và hệ thống phân phối hiệu quả của nó.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Ngạc nhiên là, các tác giả sáng chế đã tìm thấy rằng các siARN sau đây và các trình tự cải biến của nó được cung cấp ở đây có thể ức chế đặc hiệu sự biểu hiện của gen FXI, và các dược phẩm hoặc thể tiếp hợp siARN chứa các siARN này có thể có đích đặc hiệu là gan, do đó làm cho nó có thể ức chế sự biểu hiện của gen FXI trong gan để ngăn

ngừa hoặc điều trị bệnh huyết khối, nhờ đó hoàn thành sáng chế.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ nhất có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, bao gồm sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₁ là U và Z₂ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₃ ở vị trí tương ứng với Z₁; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₄ ở vị trí tương ứng với Z₂, trong đó Z₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ hai có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₅ là U và Z₆ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₇ ở vị trí tương ứng với Z₅; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₈ ở vị trí tương ứng với Z₆, trong đó Z₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận

cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ ba có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₉ là A và Z₁₀ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₁₁ ở vị trí tương ứng với Z₉; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₁₂ ở vị trí tương ứng với Z₁₀, trong đó Z₁₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ tư có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₁₃ là U và Z₁₄ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₁₅ ở vị trí tương ứng với Z₁₃; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₁₆ ở vị trí tương ứng với Z₁₄, trong đó Z₁₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu

tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ năm có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GAAUCUCAAAGAAAUCUUZ₁₇-3' (SEQ ID NO: 241);

5'-Z₁₈AAGAUUUCUUUGAGAUUC-3' (SEQ ID NO: 242),

trong đó, Z₁₇ là U và Z₁₈ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₁₉ ở vị trí tương ứng với Z₁₇; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₂₀ ở vị trí tương ứng với Z₁₈, trong đó Z₂₀ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ sáu có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₁ là G và Z₂₂ là C, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₂₃ ở vị trí tương ứng với Z₂₁; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₂₄ ở vị trí tương ứng với Z₂₂, trong đó Z₂₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu

tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ bảy có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₅ là A và Z₂₆ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₂₇ ở vị trí tương ứng với Z₂₅; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₂₈ ở vị trí tương ứng với Z₂₆, trong đó Z₂₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ tám có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₉ là U và Z₃₀ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₃₁ ở vị trí tương ứng với Z₂₉; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₃₂ ở vị trí tương ứng với Z₃₀, trong đó Z₃₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu

tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất siARN thứ chín có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI, chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₃₃ là A và Z₃₄ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₃₅ ở vị trí tương ứng với Z₃₃; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₃₆ ở vị trí tương ứng với Z₃₄, trong đó Z₃₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất dược phẩm, chứa siARN theo sáng chế, và chất mang dược dụng.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất thể tiếp hợp siARN, chứa siARN theo sáng chế và nhóm tiếp hợp được tiếp hợp với siARN.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất việc sử dụng siARN và/hoặc dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ gây ra bởi sự biểu hiện bất thường của gen FXI.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ, bao gồm dùng khối lượng hữu hiệu siARN, và/hoặc dược phẩm, và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế cho đối tượng bị mắc bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế sự biểu hiện của gen FXI trong tế bào gan, bao gồm tiếp xúc khối lượng hữu hiệu siARN, và/hoặc dược

phẩm, và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế với tế bào gan.

Theo một số phương án, sáng chế đề xuất kit, chứa siARN, và/hoặc dược phẩm, và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế.

Các hiệu quả có lợi

siARN, dược phẩm, và thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có độ ổn định tốt, hoạt tính ức chế mARN FXI cao, hiệu quả ngoài đích thấp và/hoặc có thể điều trị hoặc làm thuyên giảm đáng kể các triệu chứng của bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ.

Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế tuyệt vời kháng lại gen đích trong thí nghiệm tế bào *in vitro*. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% kháng lại sự biểu hiện của gen đích trong tế bào gan. Trong một số phương án, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế kháng lại mARN FXI trong hệ thống psiCHECK, với IC₅₀ kháng lại mARN FXI nằm trong khoảng từ 0,013 đến 0,119 nM. Trong một số phương án, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế cao trong tế bào HepG2, với IC₅₀ kháng lại mARN FXI nằm trong khoảng từ 1,49 đến 11,1 nM. Trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế cao trong tế bào gan sơ cấp của chuột, với IC₅₀ kháng lại mARN FXI nằm trong khoảng từ 0,012 đến 3,86 nM. Trong một số phương án, siARN theo sáng chế có thể ức chế sự biểu hiện của mARN FXI trong tế bào HepG2 và thể hiện tỷ lệ ức chế lên đến 86,9% kháng lại mARN FXI ở nồng độ 50 nM.

Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể thể hiện tính ổn định và/hoặc hoạt tính *in vivo* cao hơn nhiều. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của gen đích. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của gen FXI. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% *in vivo* kháng lại

sự biểu hiện của gen FXI trong gan. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của gen FXI trong gan trong các mô hình động vật. Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất là 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% hoặc 95% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của gen FXI trong gan trong đối tượng người. Trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế lên đến 95.0% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của mARN FXI trong chuột với nồng độ siARN là 5 mg/kg. Trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế lên đến 93,09% *in vivo* kháng lại sự biểu hiện của mARN FXI người trong chuột được làm giống người với nồng độ siARN là 3 mg/kg. Trong khi đó, thể tiếp hợp siARN có thể thể hiện hiệu quả ức chế đáng kể nồng độ protein FXI trong huyết tương với tỷ lệ ức chế lên đến khoảng 99%. Trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể thể hiện hiệu quả đáng kéo dài giá trị thử nghiệm APTT trong huyết tương trong chuột CD57 *in vivo*, ví dụ, đến 64,9%.

Trong một số phương án, siARN, dược phẩm, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện hiệu quả ngoài đích không đáng kể. Hiệu quả ngoài đích có thể là, ví dụ, ức chế sự biểu hiện bình thường của gen mà không phải là gen đích. Được xem xét rằng nếu sự gắn kết/ức chế sự biểu hiện của gen ngoài đích là 50%, 40%, 30%, 20%, hoặc 10% thấp hơn so với sự biểu hiện của gen đích, thì hiệu quả ngoài đích là không đáng kể.

Do đó, siARN, dược phẩm và thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể ức chế sự biểu hiện của gen FXI, điều trị và/hoặc ngăn ngừa hiệu quả bệnh huyết khối và/hoặc các tình trạng đột quy đột quy do thiếu máu cục bộ gây ra bởi sự biểu hiện quá mức của gen FXI, và do đó thể hiện triển vọng hứa hẹn của ứng dụng.

Các đặc điểm bổ sung và các hữu ích của sáng chế sẽ được minh họa chi tiết trong phần mô tả chi tiết sáng chế.

Mô tả chi tiết sáng chế

Dưới đây là mô tả chi tiết về các phương án cụ thể của sáng chế. Cần hiểu rằng

các phương án cụ thể được mô tả ở đây chỉ được sử dụng để minh họa và giải thích sáng chế và không được dự định là làm giới hạn phạm vi của sáng chế.

Trong sáng chế này, mARN FXI đề cập đến mARN có trình tự như được thể hiện trong Genbank Accession No. NM_000128.3. Hơn nữa, trừ khi được chỉ định khác, thuật ngữ “gen đích” được sử dụng trong sáng chế đề cập đến gen phiên mã mARN FXI nêu trên; và thuật ngữ “mARN đích” đề cập đến mARN FXI trên.

Các định nghĩa

Trong phạm vi của sáng chế, trừ khi được chỉ định khác, C, G, U, và A là thành phần bazơ của nucleotit; m thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái m là nucleotit cải biến metoxy; f thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái f là nucleotit cải biến flo; s thể hiện hai nucleotit liền kề với cả hai phía của chữ cái s được liên kết bằng liên kết thiophosphat; P1 thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của P1 là 5'-phosphat nucleotit hoặc nucleotit cải biến dạng tương tự 5'-phosphat; VP thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của VP là nucleotit cải biến vinyl phosphat (5'-(E)-vinylphosphonat, E-VP) ; Ps thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của Ps là nucleotit cải biến thiophosphat; và P thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của chữ cái P là 5'-phosphat nucleotit.

Trong phạm vi của sáng chế, “nucleotit cải biến flo” đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nguyên tử flo. “Nucleotit cải biến không phải flo” đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm không phải-flo, hoặc chất tương tự nucleotit. “Chất tương tự nucleotit” đề cập đến nhóm mà có thể thay thế nucleotit trong axit nucleic, trong khi khác về cấu trúc với ribonucleotit adenin, ribonucleotit guanin, ribonucleotit xytosin, ribonucleotit uracil, deoxyribonucleotit thymin, như isonucleotit, nucleotit có liên kết cầu (axit nucleic có liên kết cầu (bridged nucleic acid-BNA)) hoặc nucleotit vòng. “Nucleotit cải biến metoxy” đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm metoxy.

Trong phạm vi của sáng chế, sự thể hiện “bổ sung” và “bổ sung ngược” có thể được

sử dụng thay đổi cho nhau, và có nghĩa được biết nhiều trong ngành, cụ thể là, các bazơ trong một sợi là được bắt cặp bổ sung với các bazơ trong sợi khác trong phân tử axit nucleic sợi đôi. Trong các ADN, bazơ purin adenin (A) thường bắt cặp với bazơ pyrimidin thymine (T) (hoặc uracil (U) trong các ARN); và bazơ purin guanin (G) thường bắt cặp với bazơ pyrimidin xytosin (C). Mỗi cặp bazơ bao gồm một purin và một pyrimidin. Nếu adenin trong một mạch luôn bắt cặp với thymine (hoặc uracil) trong mạch khác, và guanin luôn bắt cặp với xytosin, thì hai mạch được coi là được bổ sung với nhau; và trình tự của một mạch có thể được suy ra từ trình tự của mạch bổ sung của nó. Tương ứng là, “bắt cặp sai” nghĩa là các bazơ này ở các vị trí tương ứng không được thể hiện theo phương thức bắt cặp bổ sung trong axit nucleic sợi đôi.

Trong phạm vi của sáng chế, trừ khi được chỉ định khác, “cơ bản là bổ sung ngược” nghĩa là có không nhiều hơn 3 sự bắt cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit. “Hầu như là bổ sung ngược” nghĩa là có không nhiều hơn 1 sự bắt cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit. “Bổ sung ngược hoàn toàn” nghĩa là không có sự bắt cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit.

Trong phạm vi của sáng chế, “sự khác biệt nucleotit” giữa trình tự nucleotit này và trình tự nucleotit khác đề cập đến sự thay đổi về loại bazơ nucleotit ở vị trí tương tự giữa chúng. Ví dụ, trong trường hợp mà bazơ nucleotit trong trình tự sau là A trong khi bazơ nucleotit ở vị trí tương tự trong trình tự trước là U, C, G, hoặc T, nó được coi là sự khác biệt nucleotit được đặt ở vị trí này giữa hai trình tự nucleotit này. Theo một số phương án, nếu nucleotit ở một vị trí được thay thế bằng nucleotit thiếu bazơ hoặc nhóm tương tự nucleotit, thì được coi là có sự khác biệt về nucleotit ở vị trí này.

Trong phạm vi của sáng chế, cụ thể là trong phần mô tả phương pháp điều chế siARN, chế phẩm chứa siARN, hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế, trừ khi được chỉ định khác, “monome nucleosit” đề cập đến, theo loại và trình tự của nucleotit trong siARN hoặc thể tiếp hợp siARN được điều chế, ARN phosphoramidit biến đổi hoặc không biến đổi (đôi khi ARN phosphoramidit được đề cập đến là nucleosit phosphoramidit) được sử dụng trong quá trình tổng hợp pha rắn phosphoramidit. Quá trình tổng hợp pha rắn phosphoramidit là phương pháp được biết nhiều để tổng hợp bởi chuyên gia trong ngành. Monome nucleosit được sử dụng trong sáng chế là các monome sẵn có trên thị trường.

Trong phạm vi của sáng chế, trừ khi được chỉ định khác, “sự tiếp hợp” nghĩa là hai hoặc nhiều gốc hóa học, mỗi gốc có chức năng cụ thể được liên kết với nhau thông qua liên kết đồng hóa trị. Do đó, thuật ngữ “thể tiếp hợp” được dùng để chỉ hợp chất được tạo thành bằng cách liên kết cộng hóa trị các gốc hóa học riêng. Ngoài ra, “thể tiếp hợp siARN” là hợp chất được tạo thành bởi liên kết đồng hóa trị một hoặc nhiều gốc hóa học mỗi gốc có chức năng cụ thể với siARN. Trong phần dưới đây, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế đôi khi được gọi tắt là “thể tiếp hợp”. Theo phạm vi của sáng chế, thể tiếp hợp siARN nên được hiểu là thuật ngữ chung về thể tiếp hợp siARN, thuật ngữ chung về thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (305) và (307), hoặc thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (305), (307) hoặc (308). Trong phạm vi theo sáng chế, “các phân tử tiếp hợp” nên được giải thích là các hợp chất cụ thể có khả năng được tiếp hợp với siARN thông qua các phản ứng, nhờ đó cuối cùng tạo thành thể tiếp hợp siARN theo sáng chế.

Như được sử dụng ở đây, “tùy ý” hoặc “một cách tùy ý” nghĩa là sự kiện hoặc hoàn cảnh mô tả sau đó có thể xảy ra hoặc có thể không xảy ra, và bản mô tả này bao gồm các trường hợp trong đó sự kiện hoặc hoàn cảnh xảy ra và các trường hợp trong đó nó không xảy ra. Ví dụ, “alkyl tùy ý được thế” bao gồm cả hai “alkyl” và “alkyl được thế” như được xác định dưới đây. Sẽ được hiểu bởi chuyên gia trong ngành, với nhóm bất kỳ chứa một hoặc nhiều phân tử thế, mà các nhóm này không nhằm được đưa vào sự thay thế hoặc mô hình thay thế bất kỳ mà là không thực tế về mặt không gian, không thể tổng hợp được và/hoặc bản chất là không ổn định.

Như được sử dụng ở đây, “alkyl” đề cập đến mạch thẳng và mạch nhánh có số chỉ định nguyên tử cacbon, thường là từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, ví dụ từ 1 đến 10 nguyên tử cacbon, như từ 1 đến 8 hoặc từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Ví dụ, C₁-C₆ alkyl bao gồm cả alkyl mạch thẳng và mạch nhánh có từ 1 đến 6 nguyên tử cacbon. Khi gốc alkyl có số cụ thể nguyên tử cacbon được đề cập, tất cả các dạng mạch thẳng và mạch nhánh có số nguyên tử cacbon này đều nhằm được bao gồm; do đó, ví dụ, “butyl” nghĩa là bao gồm n-butyl, sec-butyl, isobutyl, và t-butyl; “propyl” bao gồm n-propyl và isopropyl. Alkylen là một nhóm nhỏ của alkyl, được dùng để chỉ các gốc giống như alkyl, nhưng có hai điểm gắn kết.

Như được sử dụng ở đây, "alkenyl" đề cập đến nhóm alkyl mạch thẳng hoặc phân nhánh không bão hòa có ít nhất một liên kết đôi carbon-carbon thu được bằng cách loại bỏ một phân tử hydro từ hai nguyên tử cacbon liên kề của alkyl gốc. Nhóm này có thể là cấu hình cis hoặc trans gồm (các) liên kết đôi. Các nhóm alkenyl điển hình bao gồm bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etenyl; propenyl, như prop-1-en-1-yl, prop-1-en-2-yl, prop-2-en-1-yl (allyl), prop-2-en-2-yl; butenyl, như but-1-en-1-yl, but-1-en-2-yl, 2-metyl-prop-1-en-1-yl, but-2-en-1-yl, but-2-en-2-yl, buta-1,3-dien-1-yl, buta-1,3-dien-2-yl; và nhóm tương tự. Theo các phương án nhất định, nhóm alkenyl có từ 2 đến 20 nguyên tử cacbon, và theo các phương án khác, có từ 2 đến 10, 2 đến 8, hoặc 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Alkenylen là một tập hợp con của alkenyl, được dùng để chỉ các gốc giống như alkenyl, nhưng có hai điểm gắn kết.

Như được sử dụng ở đây, "alkynyl" đề cập đến nhóm alkyl mạch thẳng hoặc phân nhánh không bão hòa có ít nhất một liên kết ba carbon-carbon thu được bằng cách loại bỏ hai phân tử hydro từ hai nguyên tử cacbon liên kề của alkyl gốc. Các nhóm alkynyl điển hình bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, etynyl; propynyl, như prop-1-yn-1-yl, prop-2-yn-1-yl; butynyl, như but-1-yn-1-yl, but-1-yn-3-yl, but-3-yn-1-yl; và nhóm tương tự. Theo các phương án nhất định, nhóm alkynyl có từ 2 đến 20 nguyên tử cacbon, và theo các phương án khác, có từ 2 đến 10, 2 đến 8, hoặc 2 đến 6 nguyên tử cacbon. Alkynylen là một nhóm nhỏ của alkynyl, được dùng để chỉ các gốc giống như alkynyl, nhưng có hai điểm gắn kết.

Như được sử dụng ở đây, "alkoxy" đề cập đến nhóm alkyl có số chỉ định nguyên tử cacbon được liên kết thông qua cầu oxy, ví dụ, metoxy, etoxy, propoxy, isopropoxy, n-butoxy, sec-butoxy, tert-butoxy, pentyloxy, 2-pentyloxy, isopentyloxy, neopentyloxy, hexyloxy, 2-hexyloxy, 3-hexyloxy, 3-methylpentyloxy, và tương tự. Nhóm alkoxy thường có từ 1 đến 10, 1 đến 8, 1 đến 6, hoặc 1 đến 4 nguyên tử cacbon được liên kết thông qua cầu oxy.

Như được sử dụng ở đây, "aryl" đề cập đến gốc có nguồn gốc từ hệ thống vòng hydrocarbon đơn vòng hoặc đa vòng thơm bằng cách loại bỏ nguyên tử hydro từ nguyên tử cacbon vòng. Hệ thống vòng hydrocarbon đơn vòng hoặc đa vòng thơm chỉ chứa hydro và carbon, bao gồm từ 6 đến 18 nguyên tử cacbon, trong đó ít nhất một vòng trong hệ

thông vòng này là bão hòa hoàn toàn, nghĩa là, nó chứa hệ thống $(4n+2)\pi$ -electron được phân định vị trí, vòng theo lý thuyết Hückel. Các nhóm aryl bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các nhóm như phenyl, floenyl, và naphtyl. Arylen là một tập hợp con của aryl, được dùng để chỉ các gốc giống như aryl, nhưng có hai điểm gắn kết.

Như được sử dụng ở đây, “phần tử thế halo” hoặc “halogen” đề cập đến flo, clo, brom, và iot, và thuật ngữ “halogen” bao gồm flo, clo, brom, và iot.

Như được sử dụng ở đây, “haloalkyl” đề cập đến alkyl như được định nghĩa ở trên có số cụ thể nguyên tử cacbon được thế bằng một hoặc nhiều nguyên tử halogen, lên đến tối đa số lượng cho phép nguyên tử halogen. Các ví dụ về haloalkyl bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, triflometyl, diflometyl, 2-floetyl, và penta-floetyl.

“Heterocyclyl” đề cập đến gốc vòng không thơm có từ 3- đến 18- cạnh ổn định chứa từ hai đến mười hai nguyên tử cacbon và từ một đến sáu nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh. Trừ khi được chỉ định khác trong bản mô tả, heterocyclyl là hệ thống vòng đơn vòng, hai vòng, ba vòng hoặc bốn vòng, mà có thể bao gồm (các) hệ thống vòng được ngưng tụ hoặc có liên kết cầu. (Các) nguyên tử khác loại trong gốc heterocyclyl có thể tùy ý được oxi hóa. Một hoặc nhiều nguyên tử nitơ, nếu có, tùy ý được tạo bậc bốn. Gốc heterocyclyl là bão hòa một phần hoặc hoàn toàn. Heterocyclyl có thể được nối với phần còn lại của phân tử thông qua nguyên tử bất kỳ của (các) vòng. Các ví dụ về các gốc heterocyclyl này bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, dioxolanyl, thienyl[1,3]dithianyl, decahydroisoquinolyl, imidazolynyl, imidazolidinyl, isothiazolidinyl, isoxazolidinyl, morpholynyl, octahydroindolyl, octahydroisoindolyl, 2-oxopiperazinyl, 2-oxopiperidinyl, 2-oxapyrimidinyl, oxazolidinyl, piperidinyl, piperazinyl, 4-piperidonyl, pyrrolidinyl, pyrazolidinyl, quinuclidinyl, thiazolidinyl, tetrahydrofuryl, trithianyl, tetrahydropyranyl, thiomorpholynyl, thiamorpholynyl, 1-oxa-thiomorpholynyl, và 1,1-dioxa-thiomorpholynyl.

“Heteroaryl” đề cập đến gốc có nguồn gốc từ gốc vòng thơm có từ 3- đến 18-cạnh chứa từ hai đến mười bảy nguyên tử cacbon và từ một đến sáu nguyên tử khác loại được chọn từ nitơ, oxy hoặc lưu huỳnh. Như được sử dụng ở đây, gốc heteroaryl có thể là hệ thống vòng đơn vòng, hai vòng, ba vòng hoặc bốn vòng, trong đó ít nhất một vòng trong

hệ thống vòng này là bão hòa hoàn toàn, nghĩa là, nó chứa hệ thống $(4n+2)$ π -electron, được phân định vị trí, vòng theo lý thuyết Hückel. Heteroaryl bao gồm (các) hệ vòng ngưng tụ hoặc cầu nối. (Các) nguyên tử khác loại trong gốc heteroaryl tùy ý được oxy hóa. Một hoặc nhiều nguyên tử nitơ, nếu có, tùy ý được tạo bậc bốn Heteroaryl được nối với phần còn lại của phân tử này thông qua nguyên tử bất kỳ của (các) vòng. Các ví dụ về heteroaryl bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, azepinyl, acridinyl, benzimidazolyl, benzindolyl, 1,3-benzodioxazolyl, benzofuranyl, benzoxazolyl, benzo[d]thiazolyl, benzothiadiazolyl, benzo[b][1,4]dioxepinyl, benzo[b][1,4]oxazinyl, 1,4-benzodioxanyl, benzonaphthofuranyl, benzoxazolyl, benzodioxolyl, benzodioxinyl, benzopyranyl, benzopyranonyl, benzofuranyl, benzofuranonyl, benzothienyl, benzothieno[3,2-d]pyrimidinyl, benzotriazolyl, benzo[4,6]imidazo[1,2-a]pyridinyl, carbazolyl, cinnolinyl, cyclopenta[d]pyrimidinyl, 6,7-dihydro-5H-cyclopenta[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidinyl, 5,6-dihydrobenzo[h]quinazolinyl, 5,6-dihydrobenzo[h]cinnolinyl, 6,7-dihydro-5H-benzo[6,7]cyclohepta[1,2-c]pyridazinyl, dibenzofuranyl, dibenzothienyl, furanyl, furanonyl, furo[3,2-c]pyridinyl, 5,6,7,8,9,10-hexahydrocyclohepta[d]pyrimidinyl, 5,6,7,8,9,10-hexahydrocycloocta[d]pyridazinyl, 5,6,7,8,9,10-hexahydrocycloocta[d]pyridinyl, isothiazolyl, imidazolyl, indazolyl, indolyl, isoindolyl, indolinyl, isoindolinyl, isoquinolyl, indolizinyl, isoxazolyl, 5,8-methano-5,6,7,8-tetrahydroquinazolinyl, naphthyridinyl, 1,6-naphthyridinonyl, oxadiazolyl, 2-oxoazepinyl, oxazolyl, oxiranyl, 5,6,6a,7,8,9,10,10a-octahydrobenzo[h]quinazolinyl, 1-phenyl-1H-pyrrolyl, phenazinyl, phenothiazinyl, phenoxazinyl, phthalazinyl, pteridinyl, purinyl, pyrrolyl, pyrazolyl, pyrazolo[3,4-d]pyrimidinyl, pyridinyl, pyrido[3,2-d]pyrimidinyl, pyrido[3,4-d]pyrimidinyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrrolyl, quinazolinyl, quinoxalinyl, quinolinyl, tetrahydroquinolinyl, 5,6,7,8-tetrahydroquinazolinyl, 5,6,7,8-tetrahydrobenzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidinyl, 6,7,8,9-tetrahydro-5H-cyclohepta[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidinyl, 5,6,7,8-tetrahydropyrido[4,5-c]pyridazinyl, thiazolyl, thiadiazolyl, triazolyl, tetrazolyl, triazinyl, thieno[2,3-d]pyrimidinyl, thieno[3,2-d]pyrimidinyl, thieno[2,3-c]pyridinyl, và thiophenyl/thienyl.

Các nhóm bảo vệ hydroxyl khác nhau có thể được sử dụng trong sáng chế. Nói chung, các nhóm bảo vệ làm cho các nhóm chức hóa học trơ với các điều kiện phản ứng cụ thể, và có thể được gắn vào và tách ra khỏi các nhóm chức này trong phân tử mà không làm ảnh hưởng đáng kể đến phần còn lại của phân tử. Các nhóm bảo vệ hydroxyl điển hình được bộc lộ trong Beaucage, et al., *Tetrahedron* 1992, 48, 2223-2311, và cũng trong Greene và Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Chapter 2, 2d ed, John Wiley & Sons, New York, 1991, mỗi tài liệu được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của chúng. Theo một số phương án, nhóm bảo vệ là ổn định trong các điều kiện bazơ nhưng có thể được loại bỏ trong các điều kiện axit. Trong một số phương án, các ví dụ không loại trừ về các nhóm bảo vệ hydroxyl mà có thể được sử dụng ở đây bao gồm dimetoxyltrityl (DMT), monometoxyltrityl, 9-phenylxanthen-9-yl (Pixyl) và 9-(p-metoxylphenyl)xanthen-9-yl (Mox). Trong một số phương án, các ví dụ không loại trừ về các nhóm bảo vệ hydroxyl mà có thể được sử dụng ở đây bao gồm Tr (trityl), MMTr (4-metoxyltrityl), DMTr (4,4'-dimetoxyltrityl), và TMTr (4,4',4''-trimetoxyltrityl).

Thuật ngữ “đối tượng”, như được sử dụng ở đây, được dùng để chỉ động vật bất kỳ, ví dụ, động vật có vú hoặc thú có túi. Đối tượng theo sáng chế bao gồm nhưng không bị giới hạn đến người, linh trưởng không phải người (ví dụ, khỉ rezus hoặc loại khỉ khác), chuột, lợn, ngựa, lừa, bò, cừu, chuột rat và chim loại bất kỳ.

Như được sử dụng ở đây, “điều trị” đề cập đến phương pháp thu được kết quả có lợi hoặc mong muốn, bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, lợi ích điều trị. “Lợi ích điều trị” nghĩa là sự loại bỏ hoặc cải thiện rối loạn tiềm tàng được điều trị. Ngoài ra, lợi ích điều trị thu được bằng cách loại bỏ hoặc cải thiện một hoặc nhiều triệu chứng sinh lý liên quan đến rối loạn tiềm tàng như sự cải thiện được quan sát trong đối tượng, cho dù là đối tượng này có thể vẫn mắc chứng rối loạn tiềm tàng.

Như được sử dụng ở đây, “ngăn ngừa” đề cập đến phương pháp thu được kết quả có lợi hoặc mong muốn, bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, lợi ích phòng bệnh. Đối với “lợi ích phòng bệnh”, siARN, thể tiếp hợp siARN hoặc các dược phẩm có thể được dùng cho đối tượng có nguy cơ tiến triển bệnh cụ thể, hoặc đối tượng thông báo một hoặc nhiều triệu chứng sinh lý của bệnh, thậm chí mặc dù chẩn đoán bệnh này có thể không được đưa ra.

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất các siARN từ thứ nhất đến thứ chín có khả năng ức chế sự biểu hiện của gen FXI. Chúng tôi sẽ mô tả lần lượt chi tiết dưới đây.

siARN theo sáng chế bao gồm các nhóm nucleotit làm các đơn vị cấu trúc cơ bản. Nó được biết nhiều đối với chuyên gia trong ngành rằng nhóm nucleotit chứa nhóm phosphat, nhóm riboza và bazơ. Minh họa chi tiết về các nhóm này không được đề cập ở đây.

siARN thứ nhất

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ nhất.

siARN thứ nhất chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa; mỗi nucleotit trong siARN thứ nhất độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến; trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₁ là U và Z₂ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₃ ở vị trí tương ứng với Z₁; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₄ ở vị trí tương ứng với Z₂, trong đó Z₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Trong phạm vi theo sáng chế, "vị trí tương ứng" đề cập đến vị trí tương tự trong trình tự nucleotit bằng cách đếm từ đầu tận cùng tương tự của trình tự nucleotit. Ví dụ, nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit I là nucleotit ở vị trí tương ứng với nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 3' của SEQ ID NO: 1.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO:

1, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 2 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z₄, trong đó Z₄ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z₄, trong đó Z₄ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, Z₃ là nucleotit bổ sung với Z₄. SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Trong một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là cơ bản là bổ sung ngược, hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; "cơ bản là bổ sung ngược" nghĩa là có không nhiều hơn 3 sự bất cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit; "hầu như là bổ sung ngược" nghĩa là có không nhiều hơn 1 sự bất cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit; "bổ sung ngược hoàn toàn" nghĩa là không có sự bất cặp sai giữa hai trình tự nucleotit.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 3, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4:

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

5'-Z₄UUGCUUGAAAGAAUACCC-3' (SEQ ID NO: 4),

trong đó, Z₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z₃ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₄ là nucleotit bổ sung với Z₃; trong một số phương án, Z₃ là U, và Z₄ là A.

Hơn nữa, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit. Nghĩa là, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa với sợi đối nghĩa trong siARN theo sáng chế có thể là 19/19, 19/20, 19/21, 19/22, 19/23, 19/24, 19/25, 19/26, 20/20, 20/21, 20/22, 20/23, 20/24, 20/25, 20/26, 21/20, 21/21, 21/22, 21/23, 21/24, 21/25, 21/26, 22/20, 22/21, 22/22, 22/23, 22/24, 22/25, 22/26, 23/20, 23/21, 23/22, 23/23, 23/24, 23/25, hoặc 23/26. Trong một số phương án, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa với sợi

đối nghĩa trong siARN theo sáng chế có thể là 19/21, 21/23 hoặc 23/25.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I; và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II. Trong một số phương án, trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, mà đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U, và bazơ của trình tự nucleotit IV là A; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UCU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AGA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UUCU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AGAA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ hai

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ hai.

siARN thứ hai chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa; mỗi nucleotit trong siARN thứ hai độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến; trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₅ là U và Z₆ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₇ ở vị trí tương ứng với Z₅; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₈ ở vị trí tương ứng với Z₆, trong đó Z₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 62 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z₈, trong đó Z₈ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z₈, trong đó Z₈ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, Z₇ là nucleotit bổ sung với Z₈. SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả

năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 63, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64:

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

5'-Z₈GCUGUUAUAGUUUAUGCC-3' (SEQ ID NO: 64),

trong đó, Z₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z₇ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₈ là nucleotit bổ sung với Z₇; trong một số phương án, Z₇ là U, và Z₈ là A.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I, và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, mà đề cập đến trình tự nucleotit mà là liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là G, và bazơ của trình tự nucleotit IV là C; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ

của trình tự nucleotit III là AG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AAG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CUU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GAAG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CUUC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ ba

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ ba.

SiARN thứ ba chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa; mỗi nucleotit trong siARN thứ ba độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến; trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₉ là A và Z₁₀ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z_{11} ở vị trí tương ứng với Z_9 ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z_{12} ở vị trí tương ứng với Z_{10} , trong đó Z_{12} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 122 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{12} , trong đó Z_{12} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z_{12} , trong đó Z_{12} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, Z_{11} là nucleotit bổ sung với Z_{12} . SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 123, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 124:

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

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

trong đó, Z_{12} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z_{11} được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z_{12} là nucleotit bổ sung với Z_{11} ; trong một số phương án, Z_{11} là A, và Z_{12} là U.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối

nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I, và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U, và bazơ của trình tự nucleotit IV là A; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là ACU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GAGU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là ACUC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung

ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ tư

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ tư.

SiARN thứ tư chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₁₃ là U và Z₁₄ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₁₅ ở vị trí tương ứng với Z₁₃; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₁₆ ở vị trí tương ứng với Z₁₄, trong đó Z₁₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 182 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z₁₆, trong đó Z₁₆ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z₁₆, trong đó Z₁₆ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, Z₁₅ là nucleotit bổ sung với Z₁₆. SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt

nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 183, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 184:

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

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

trong đó, Z₁₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z₁₅ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₁₆ là nucleotit bổ sung với Z₁₅; trong một số phương án, Z₁₅ là U, và Z₁₆ là A.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181 trong mRNA đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U, và bazơ của trình tự nucleotit IV là A; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UU, và thành

phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CUU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AAG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GCUU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AAGC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ năm

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ năm.

SiARN thứ năm chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GAAUCUCAAAGAAAUCU₁₇-3' (SEQ ID NO: 241);

5'-Z₁₈AAGAUUUCUUUGAGAUUC-3' (SEQ ID NO: 242),

trong đó, Z₁₇ là U và Z₁₈ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z_{19} ở vị trí tương ứng với Z_{17} ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z_{20} ở vị trí tương ứng với Z_{18} , trong đó Z_{20} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 242 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{20} , trong đó Z_{20} được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z_{20} , trong đó Z_{20} được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, Z_{19} là nucleotit bổ sung với Z_{20} . SiARNs có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 243, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 244:

5'-GAAUCUCAAGAAAUUCU Z_{19} -3' (SEQ ID NO: 243);

5'- Z_{20} AAGAUUUCUUUGAGAUUC-3' (SEQ ID NO: 244),

trong đó, Z_{20} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z_{19} được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z_{20} là nucleotit bổ sung với Z_{19} ; trong một số phương án, Z_{19} là U, và Z_{20} là A.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối

nghĩa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I, và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A, và bazơ của trình tự nucleotit IV là U; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AAA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UUU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CAAA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UUUG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung

ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ sáu

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ sáu.

SiARN thứ sáu chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₁ là G và Z₂₂ là C, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₂₃ ở vị trí tương ứng với Z₂₁; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₂₄ ở vị trí tương ứng với Z₂₂, trong đó Z₂₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 302 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z₂₄, trong đó Z₂₄ được chọn từ U, G hoặc A. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z₂₄, trong đó Z₂₄ được chọn từ U, G hoặc A. Trong một số phương án, Z₂₃ là nucleotit bổ sung với Z₂₄. SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mRNA đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt

nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 303, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 304:

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

5'-Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUAC-3' (SEQ ID NO: 304),

trong đó, Z₂₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z₂₃ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₂₄ là nucleotit bổ sung với Z₂₃; trong một số phương án, Z₂₃ là G, và Z₂₄ là C.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I, và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 trong mRNA đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A, và bazơ của trình tự nucleotit IV là U; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA, và thành

phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CGA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UCG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UCGA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UCGA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ bảy

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ bảy.

SiARN thứ bảy chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₅ là A và Z₂₆ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z_{27} ở vị trí tương ứng với Z_{25} ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z_{28} ở vị trí tương ứng với Z_{26} , trong đó Z_{28} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 362 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{28} , trong đó Z_{28} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z_{28} , trong đó Z_{28} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, Z_{27} là nucleotit bổ sung với Z_{28} . SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 363, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 364:

5'-AUUUCUGGGUAUUCUUUC Z_{27} -3' (SEQ ID NO: 363);

5'- Z_{28} GAAAGAAUACCCAGAAAU-3' (SEQ ID NO: 364),

trong đó, Z_{28} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z_{27} được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z_{28} là nucleotit bổ sung với Z_{27} ; trong một số phương án, Z_{27} là A, và Z_{28} là U.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối

nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I; và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II. Trong một số phương án, trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là G, và bazơ của trình tự nucleotit IV là C; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GCG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CGC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGCG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CGCU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CG, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là CG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung

ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ tám

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ tám.

siARN thứ tám chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₂₉ là U và Z₃₀ là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z₃₁ ở vị trí tương ứng với Z₂₉; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z₃₂ ở vị trí tương ứng với Z₃₀, trong đó Z₃₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 422 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z₃₂, trong đó Z₃₂ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z₃₂, trong đó Z₃₂ được chọn từ U, C hoặc G. Trong một số phương án, Z₃₁ là nucleotit bổ sung với Z₃₂. SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mRNA đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt

nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 423, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 424:

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

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUG-3' (SEQ ID NO: 424),

trong đó, Z₃₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z₃₁ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₃₂ là nucleotit bổ sung với Z₃₁; trong một số phương án, Z₃₁ là U, và Z₃₂ là A.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I; và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II. Trong một số phương án, trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A, và bazơ của trình tự nucleotit IV là U; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA, và thành

phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UCU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UAGA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UCUA; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là UC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

siARN thứ chín

Theo sáng chế, siARN có thể là siARN thứ chín.

SiARN thứ chín chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

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

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

trong đó, Z₃₃ là A và Z₃₄ là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z_{35} ở vị trí tương ứng với Z_{33} ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z_{36} ở vị trí tương ứng với Z_{34} , trong đó Z_{36} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

Theo một số phương án, sợi có nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chỉ bao gồm trình tự nucleotit II.

Trong một số phương án, có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482.

Theo một số phương án, sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 482 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{36} , trong đó Z_{36} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, sự khác biệt nucleotit là sự khác biệt ở vị trí Z_{36} , trong đó Z_{36} được chọn từ A, C hoặc G. Trong một số phương án, Z_{35} là nucleotit bổ sung với Z_{36} . SiARN có các sự khác biệt nucleotit này cũng thể hiện khả năng cao để ức chế mARN đích, và do đó các siARN này chứa các sự khác biệt nucleotit cũng trong phạm vi bảo hộ theo sáng chế.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II về cơ bản bổ sung ngược, bổ sung ngược đáng kể, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 483, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 484:

5'-GGAUUCUGGAGAAAACUC Z_{35} -3' (SEQ ID NO: 483);

5'- Z_{36} GAGUUUUCUCCAGAAUCC-3' (SEQ ID NO: 484),

trong đó, Z_{36} là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, Z_{35} được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z_{36} là nucleotit bổ sung với Z_{35} ; trong một số phương án, Z_{35} là A, và Z_{36} là U.

Ngoài ra, sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit.

Trong một số phương án, sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit III, sợi đối

nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I, và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II. Trong một số phương án, trình tự nucleotit IV là hầu như là bổ sung ngược, hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit thứ hai, đề cập đến trình tự nucleotit mà là liền kề với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481 trong mARN đích và có chiều dài giống như trình tự nucleotit IV.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U, và bazơ của trình tự nucleotit IV là A; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 20/20; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là ACU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AGU; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 22/22; hoặc, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GACU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AGUC; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 23/23. Trong một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU, và thành phần bazơ của trình tự nucleotit IV là AG; trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của nó là 21/21.

Theo một số phương án, trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV bổ sung

ngược hoàn toàn. Do đó, nếu (các) bazơ của trình tự nucleotit III được đề cập, thì (các) bazơ của trình tự nucleotit IV cũng được xác định.

Mô tả sau đây về trình tự nucleotit V, trình tự axit nucleic, hoặc sự thay đổi nucleotit và trình tự thay đổi trong siARN có thể áp dụng cho một trình tự bất kỳ trong số các trình tự siARN thứ nhất đến siARN thứ chín được đề cập trên. Cụ thể là, trừ khi được trình bày khác, mô tả sau về siARN nên được xem là mô tả về từng siARN thứ nhất, thứ hai, thứ ba, thứ tư, thứ năm, thứ sáu, thứ bảy, thứ tám và thứ chín. Ví dụ, nếu không phải là siARN cụ thể được chỉ định cụ thể, “siARN chứa thêm trình tự nucleotit V” nghĩa là “siARN thứ nhất, siARN thứ hai, siARN thứ ba, siARN thứ tư, siARN thứ năm, siARN thứ sáu, siARN thứ bảy, siARN thứ tám, hoặc siARN thứ chín chứa thêm trình tự nucleotit V”.

Trong một số phương án, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit V. Trình tự nucleotit V có chiều dài từ 1 đến 3 nucleotit và được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa, nhờ đó tạo thành phần nhô ra 3' của sợi đối nghĩa. trong trường hợp này, tỷ lệ chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế có thể là 19/20, 19/21, 19/22, 20/21, 20/22, 20/23, 21/22, 21/23, 21/24, 22/23, 22/24, 22/25, 23/24, 23/25, hoặc 23/26. Theo một số phương án, trình tự nucleotit V có chiều dài gồm 2 nucleotit. Trong trường hợp này, tỷ lệ theo chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế có thể là 19/21, 21/23 hoặc 23/25.

Mỗi nucleotit trong trình tự nucleotit V có thể là nucleotit bất kỳ. Để dễ dàng tổng hợp và tiết kiệm chi phí tổng hợp, trình tự nucleotit V là 2 thymine deoxyribonucleotit (dTdT) liên tiếp hoặc 2 uracil deoxyribonucleotit (UU) tương ứng; hoặc, để tăng cường ái lực giữa sợi đối nghĩa của siARN và mARN đích, trình tự nucleotit V là bổ sung với các nucleotit ở các vị trí tương ứng của mARN đích. Do đó, theo một số phương án, tỷ lệ chiều dài của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế là 19/21 hoặc 21/23. Trong trường hợp này, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính tốt hơn để cảm mARN đích.

Các nucleotit ở các vị trí tương ứng của mARN đích đề cập đến các nucleotit hoặc trình tự nucleotit liền kề với đầu tận cùng 5' của đoạn trình tự nucleotit của mARN đích. Đoạn này của trình tự nucleotit của mARN đích đề cập đến đoạn trình tự nucleotit là hầu

như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit II, hoặc là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với trình tự nucleotit bao gồm trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit IV.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ nhất, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 5, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8:

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

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

trong đó, Z₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₃ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₄ là nucleotit bổ sung với Z₃.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ hai, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 65, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 67, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 68:

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

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

trong đó, Z₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₇ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₈ là nucleotit bổ sung với Z₇.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ ba, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 125, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 126:

5'-GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ₁₁-3' (SEQ ID NO: 125);

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 127, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 128:

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

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

trong đó, Z₁₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₁ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₁₂ là nucleotit bổ sung với Z₁₁.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ tư, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 185, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 186:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 187, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 188:

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

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

trong đó, Z₁₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₅ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₁₆ là nucleotit bổ sung với Z₁₅.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ năm, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 245, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 246:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 247, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 248:

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

5'-Z₂₀AAGA UUUCUUUGAGA UUUCUUUG-3' (SEQ ID NO: 248),

trong đó, Z₂₀ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₉ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₀ là nucleotit bổ sung với Z₁₉.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ sáu, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 305, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 306:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 307, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 308:

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

5'-Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUACUGA-3' (SEQ ID NO: 308),

trong đó, Z₂₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₂₃ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₄ là nucleotit bổ sung với Z₂₃.

Theo một số phương án, đối với siARN thứ bảy, sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 365, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 366:

5'-AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇-3' (SEQ ID NO: 365);

5'-Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAUCG-3' (SEQ ID NO: 366),

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 367, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 368:

5'-CGAUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇-3' (SEQ ID NO: 367);

5'-Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU-3' (SEQ ID NO: 368),

trong đó, Z₂₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₂₇ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₈ là nucleotit bổ sung với Z₂₇.

Trong một số phương án, đối với siARN thứ tám, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 425, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 426:

5'-CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁-3' (SEQ ID NO: 425);

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUGUC-3' (SEQ ID NO: 426),

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 427, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 428:

5'-GACAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁-3' (SEQ ID NO: 427);

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA-3' (SEQ ID NO: 428),

trong đó, Z₃₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₃₁ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₃₂ là nucleotit bổ sung với Z₃₁.

Trong một số phương án, đối với siARN thứ chín, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 485, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 486:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 487, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 488:

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

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

trong đó, Z₃₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu 5' của sợi đối nghĩa; Z₃₅ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₃₆ là nucleotit bổ sung với Z₃₅.

Trong một số phương án, siARN theo sáng chế là siFXIa1, siFXIa2, siFXIb1, siFXIb2, siFXIc1, siFXIc2, siFXId1, siFXId2, siFXIe1, siFXIe2, siFXIf1, siFXIf2, siFXIg1, siFXIg2, siFXIh1, siFXIh2, siFXIi1, hoặc siFXIi2 như được thể hiện trong Bảng 1a đến 1i.

Như đề cập trên đây, trong siARN theo sáng chế, mỗi nucleotit độc lập là nucleotit được cải biến hoặc không được cải biến. Theo một số phương án, nucleotit trong siARN theo sáng chế là nucleotit không được cải biến; theo một số phương án, trong siARN theo sáng chế, một vài hoặc toàn bộ các nucleotit là các nucleotit đã cải biến. Các sự thay đổi này trên các nhóm nucleotit sẽ không dẫn đến việc làm giảm hoặc làm mất các chức năng

của thể tiếp hợp siARN theo sáng chế để ức chế sự biểu hiện của gen FXI.

Theo một số phương án, siARN theo sáng chế bao gồm ít nhất một nucleotit cải biến. Trong phạm vi theo sáng chế, thuật ngữ “nucleotit cải biến” được sử dụng để cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza của nó bằng các nhóm khác, hoặc chất tương tự nucleotit, hoặc nucleotit bằng bazơ thay đổi. Nucleotit cải biến sẽ không dẫn đến suy yếu đáng kể hoặc làm mất chức năng của siARN để ức chế sự biểu hiện gen. Ví dụ, các nucleotit cải biến được bộc lộ trong J.K. Watts, G. F. Deleavey và M. J. Damha, *Chemically Modified siRNA: tools and applications*. *Drug Discov Today*, 2008.13(19-20): p.842-55 có thể được chọn.

Theo một số phương án, ít nhất một nucleotit trong sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế là nucleotit cải biến, và/hoặc ít nhất một nhóm phosphat là nhóm phosphat có (các) nhóm cải biến. Nói cách khác, ít nhất một phần của các nhóm phosphat và/hoặc riboza trong khung phosphat-riboza của ít nhất một mạch trong sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa là các nhóm phosphat có các nhóm cải biến và/hoặc các nhóm riboza có các nhóm cải biến.

Theo một số phương án, toàn bộ các nucleotit trong sợi có nghĩa và/hoặc sợi đối nghĩa là các nucleotit được cải biến. Trong một số phương án, mỗi nucleotit trong sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế độc lập là nucleotit cải biến flo hoặc nucleotit cải biến không phải flo.

Các tác giả của sáng chế ngạc nhiên phát hiện ra rằng siARN theo sáng chế đạt được sự cân bằng cao giữa độ ổn định trong huyết tương và hiệu quả làm câm gen trong các thí nghiệm động vật.

Trong một số phương án, các nucleotit cải biến flo được đặt trong trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II. Ngoài ra, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', ít nhất các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I là nucleotit cải biến flo; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', ít nhất các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II là nucleotit cải biến flo.

Trong một số phương án, các nucleotit cải biến flo được đặt trong trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II; và trình tự nucleotit I chứa không nhiều hơn 5 nucleotit cải biến flo. Ngoài ra, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', ít nhất các nucleotit ở

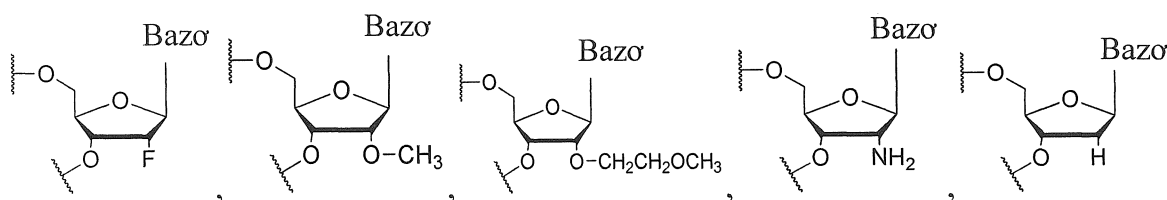
các vị trí 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I là nucleotit cải biến flo; trình tự nucleotit II chứa không nhiều hơn 7 nucleotit cải biến flo; và ít nhất các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II là nucleotit cải biến flo.

Trong một số phương án, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 hoặc ở các vị trí 5, 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến không phải flo; theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 hoặc ở các vị trí 2, 6, 8, 9, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa là nucleotit không phải flo.

Trong phạm vi theo sáng chế, “nucleotit cải biến flo” đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza của nó bằng nguyên tử flo, mà có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức sau (7). “Nucleotit không cải biến flo” đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza của nó bằng nhóm không phải flo, hoặc chất tương tự nucleotit. Trong một số phương án, mỗi nucleotit cải biến không phải flo độc lập được chọn từ nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza của nó bằng nhóm không phải flo, hoặc chất tương tự nucleotit.

Các nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm không phải flo được biết nhiều đối với chuyên gia trong ngành, và có thể là nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm nucleotit cải biến 2'-alkoxy, nucleotit cải biến alkoxy được thế ở vị trí 2', nucleotit cải biến 2'-alkyl, nucleotit cải biến alkyl được thế ở vị trí 2', nucleotit cải biến 2'-amino, nucleotit cải biến amino được thế ở vị trí 2', và 2'-deoxy nucleotit.

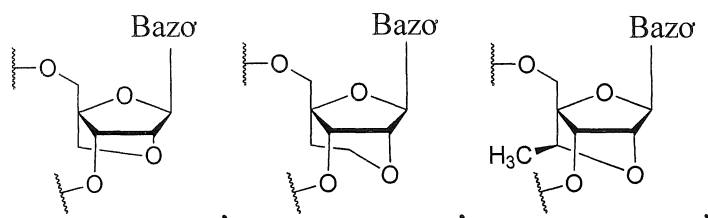
Trong một số phương án, nucleotit cải biến 2'-alkoxy là nucleotit cải biến 2'-metoxy (2'-OMe), như được thể hiện bằng công thức (8). Trong một số phương án, nucleotit cải biến alkoxy được thế ở vị trí 2' là ví dụ nucleotit cải biến 2'-metoxyetyl (2'-MOE), như được thể hiện bằng công thức (9). Trong một số phương án, nucleotit cải biến 2'-amino (2'-NH₂) là như được thể hiện bằng công thức (10). Theo một số phương án, nucleotit 2'-deoxy (ADN) như được thể hiện bởi công thức (11).



Công thức (7) Công thức (8) Công thức (9) Công thức (10) Công thức (11)

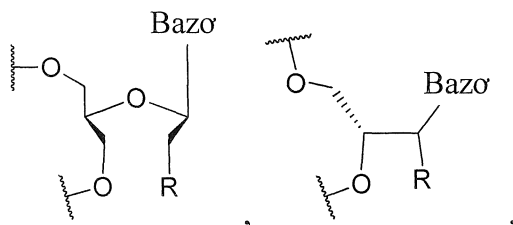
Chất tương tự nucleotit đề cập đến nhóm có thể thay thế nucleotit trong axit nucleic, trong khi khác về cấu trúc với adenin ribonucleotit, guanin ribonucleotit, cytosin ribonucleotit, uracil ribonucleotit, hoặc thymin deoxyribonucleotit. Theo một số phương án, nhóm tương tự nucleotit có thể là isonucleotit, nucleotit cầu nối hoặc nucleotit không vòng.

Axit nucleic có cầu (BNA) đề cập đến nucleotit không tự nhiên và khó kiếm. BNA có thể chứa cấu trúc có cầu dạng vòng 5-, 6- cạnh hoặc 7-cạnh có nếp đường C3'-endo “cố định”. Cầu thường được kết hợp ở các vị trí 2'- và 4'-của riboza để thu được 2', 4'-BNA nucleotit. Trong một số phương án, BNA có thể là LNA, ENA, cET BNA và v.v..., mà được thể hiện tương ứng bằng công thức (12), (13) và (14):



Công thức (12) Công thức (13) Công thức (14).

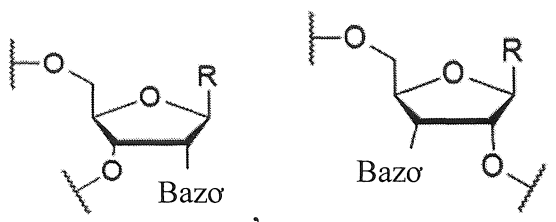
Nucleotit không vòng được dùng để chỉ nhóm các nucleotit trong đó vòng đường được mở. Trong một số phương án, acrylic nucleotit có thể là axit nucleic không bị khóa (unlocked nucleic acid-UNA) hoặc axit glyxerol nucleic (glycerol nucleic acid-GNA), mà là như được thể hiện bằng công thức (15) và (16) :



Công thức (15) Công thức (16).

Trong các công thức (15) và (16) trên đây, R được chọn từ H, OH hoặc alkoxy (O-alkyl).

Isonucleotit là một hợp chất được tạo thành bằng cách thay đổi vị trí của bazơ trên vòng riboza trong nucleotit. Trong một số phương án, isonucleotit có thể là hợp chất được tạo thành bằng cách di chuyển bazơ từ vị trí-1' đến vị trí-2' hoặc vị trí-3' trên vòng riboza, như được thể hiện tương ứng bằng công thức (17) hoặc (18).



công thức (17) công thức (18)

Trong các hợp chất trên có công thức (17)-(18), “Bazơ” là bazơ của axit nucleic, như A, U, G, C, hoặc T; R được chọn từ H, OH, F, hoặc nhóm không phải flo nêu trên

Theo một số phương án, nhóm tương tự nucleotit là nhóm được chọn từ nhóm bao gồm isonucleotit, LNA, ENA, cET, UNA, và GNA. Theo một số phương án, mỗi nucleotit được cải biến không có flo là nucleotit được cải biến có nhóm metoxy. Trong phạm vi theo sáng chế, nucleotit được cải biến metoxy đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm metoxy.

Trong phạm vi của sáng chế, “nucleotit được cải biến flo”, “nucleotit được cải biến 2'-flo”, “nucleotit trong đó 2'-hydroxy của nhóm riboza được thế bằng nguyên tử flo”, và “nucleotit có 2'-floribosyl” có nghĩa giống nhau, đề cập đến hợp chất trong đó 2'-hydroxy của nucleotit được thế bằng nguyên tử flo, mà có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (7). “Nucleotit được cải biến metoxy”, “nucleotit được cải biến 2'-metoxy”, “nucleotit trong đó 2'-hydroxy của nhóm riboza được thế bằng metoxy” và “nucleotit có 2'-metoxyribosyl” có nghĩa giống nhau, đề cập đến hợp chất trong đó 2'-hydroxy của nhóm riboza trong nucleotit này được thế bằng metoxy, mà có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (8).

Theo một số phương án, siARN theo sáng chế là siARN có các sự thay đổi sau: theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 hoặc ở các vị trí 5, 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến metoxy; các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 hoặc ở các vị trí 2, 6, 8, 9, 14, và 16 của trình tự

nucleotit II trong sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến metoxy.

Trong một số phương án, siARN theo sáng chế là siARN có các sự thay đổi sau: theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 5, 7, 8, và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác của sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 8, 9, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy;

hoặc, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 5, 7, 8, và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy;

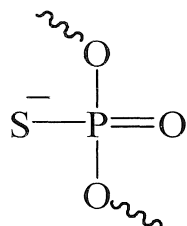
hoặc, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit được cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit được cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy.

Trong một số phương án, siARN theo sáng chế là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1, siFXIa1-M2, siFXIa1-M3, siFXIa2-M1, siFXIa2-M2, siFXIa2-M3, siFXIb1-M1, siFXIb1-M2, siFXIb1-M3, siFXIb2-M1, siFXIb2-M2, siFXIb2-M3, siFXIc1-M1, siFXIc1-M2, siFXIc1-M3, siFXIc2-M1, siFXIc2-M2, siFXIc2-M3, siFXId1-M1, siFXId1-M2, siFXId1-M3, siFXId2-M1, siFXId2-M2, siFXId2-M3, siFXIe1-M1, siFXIe1-M2, siFXIe1-M3, siFXIe2-M1, siFXIe2-M2, siFXIe2-M3, siFXIf1-M1, siFXIf1-M2, siFXIf1-M3, siFXIf2-M1, siFXIf2-M2, siFXIf2-M3, siFXIg1-M1,

siFXIg1-M2, siFXIg1-M3, siFXIg2-M1, siFXIg2-M2, siFXIg2-M3, siFXIh1-M1, siFXIh1-M2, siFXIh1-M3, siFXIh2-M1, siFXIh2-M2, siFXIh2-M3, siFXIi1-M1, siFXIi1-M2, siFXIi1-M3, siFXIi2-M1, siFXIi2-M2, và siFXIi2-M3 như được thể hiện trong Bảng 1a đến 1i.

SiARN với các sự thay đổi trên đây không chỉ có chi phí thấp, mà còn cho phép các ribonucleaza trong máu là ít có khả năng bị chia tách axit nucleic này, nhờ đó gia tăng độ ổn định của axit nucleic này và làm cho axit nucleic này có tính chống chịu cao hơn chống lại sự thủy phân do nucleaza. Ngoài ra, siARN có các thay đổi trên đây thể hiện hoạt tính ức chế cao hơn kháng lại mARN đích.

Theo một số phương án, ít nhất một phần các nhóm phosphat trong khung phosphat-riboza của ít nhất một mạch đơn trong sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN theo sáng chế là các nhóm phosphat với các nhóm cải biến. Trong một số phương án, nhóm phosphat bằng (các) nhóm thay đổi là nhóm phosphorothioat được tạo thành bằng cách thay thế ít nhất một nguyên tử oxy trong liên kết phosphodiester trong nhóm phosphat bằng nguyên tử lưu huỳnh. Theo một số phương án, nhóm phosphat với (các) nhóm cải biến là nhóm phosphorothioat có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (1):



công thức (1).

Sự cải biến này có thể là ổn định cấu trúc sợi đôi của siARN, nhờ đó duy trì tính đặc hiệu cao và ái lực cao của cặp bazơ.

Trong một số phương án, trong siARN theo sáng chế, liên kết phosphorothioat được đặt trong ít nhất một vị trí được chọn từ nhóm bao gồm các vị trí sau: vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở một trong số các đầu tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa, vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở một trong số các đầu tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa, hoặc sự kết hợp bất kỳ của nó. Trong một số phương án, liên kết phosphorothioat được đặt trong tất cả các vị trí trên ngoại trừ đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa. Trong một số phương án, liên kết phosphorothioat được đặt trong tất cả các vị

trí trên ngoại trừ đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa. Trong một số phương án, liên kết phosphorothioat được đặt ở ít nhất một trong số các vị trí sau:

vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa;

vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa;

vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa;

vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa;

vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

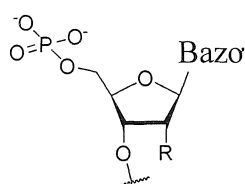
vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa; và

vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa.

Trong một số phương án, siARN theo sáng chế là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1S, siFXIa1-M2S, siFXIa1-M3S, siFXIa2-M1S, siFXIa2-M2S, siFXIa2-M3S, siFXIb1-M1S, siFXIb1-M2S, siFXIb1-M3S, siFXIb2-M1S, siFXIb2-M2S, siFXIb2-M3S, siFXIc1-M1S, siFXIc1-M2S, siFXIc1-M3S, siFXIc2-M1S, siFXIc2-M2S, siFXIc2-M3S, siFXId1-M1S, siFXId1-M2S, siFXId1-M3S, siFXId2-M1S, siFXId2-M2S, siFXId2-M3S, siFXIe1-M1S, siFXIe1-M2S, siFXIe1-M3S, siFXIe2-M1S, siFXIe2-M2S, siFXIe2-M3S, siFXIf1-M1S, siFXIf1-M2S, siFXIf1-M3S, siFXIf2-M1S, siFXIf2-M2S, siFXIf2-M3S, siFXIg1-M1S, siFXIg1-M2S, siFXIg1-M3S, siFXIg2-M1S, siFXIg2-M2S, siFXIg2-M3S, siFXIh1-M1S, siFXIh1-M2S, siFXIh1-M3S, siFXIh2-M1S, siFXIh2-M2S, siFXIh2-M3S, siFXIi1-M1S, siFXIi1-M2S, siFXIi1-M3S, siFXIi2-M1S, siFXIi2-M2S, và siFXIi2-M3S như được thể hiện trong Bảng 1a đến 1i.

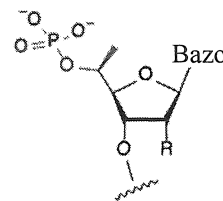
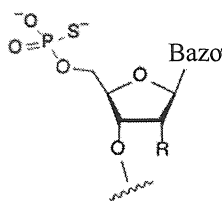
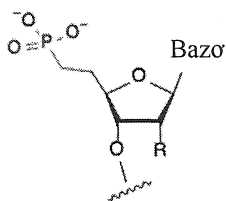
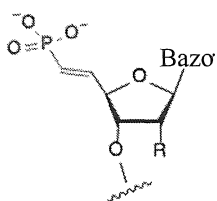
Trong một số phương án, nucleotit ở đầu tận cùng 5' trong sợi đối nghĩa của siARN là 5'-phosphat nucleotit hoặc nucleotit cải biến chất tương tự 5'-phosphat.

5'-Phosphat nucleotit được sử dụng thông thường hoặc nucleotit cải biến chất tương tự 5'-phosphat được biết nhiều đối với chuyên gia trong ngành. Ví dụ, 5'-phosphat nucleotit có thể có cấu trúc sau:



công thức (2);

như ví dụ khác, Anastasia Khvorova và Jonathan K. Watts, The chemical evolution of oligonucleotide therapies of clinical utility. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(3): 238-48 bộc lộ bốn nucleotit cải biến chất tương tự 5'-phosphat sau:



Công thức (3)

Công thức (4)

Công thức (5)

Công thức (6)

trong đó R được chọn từ H, OH, metoxy, và F;

“Bazo” là bazơ axit nucleic được chọn từ A, U, C, G, hoặc T.

Trong một số phương án, 5'-phosphat nucleotit là nucleotit có sự cải biến 5'-phosphat như được thể hiện bằng công thức (2); nucleotit cải biến chất tương tự 5'-phosphat là nucleotit với sự cải biến vinylphosphonat như được thể hiện bằng công thức (3), hoặc nucleotit cải biến phosphorothioat như được thể hiện bằng công thức (5).

Trong một số phương án, siARN theo sáng chế là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1P1, siFXIa1-M2P1, siFXIa1-M3P1, siFXIa2-M1P1, siFXIa2-M2P1, siFXIa2-M3P1, siFXIa1-M1SP1, siFXIa1-M2SP1, siFXIa1-M3SP1, siFXIa2-M1SP1, siFXIa2-M2SP1, siFXIa2-M3SP1, siFXIb1-M1P1, siFXIb1-M2P1, siFXIb1-M3P1, siFXIb2-M1P1, siFXIb2-M2P1, siFXIb2-M3P1, siFXIb1-M1SP1, siFXIb1-M2SP1, siFXIb1-M3SP1, siFXIb2-M1SP1, siFXIb2-M2SP1, siFXIb2-M3SP1, siFXIc1-M1P1, siFXIc1-M2P1, siFXIc1-M3P1, siFXIc2-M1P1, siFXIc2-M2P1, siFXIc2-M3P1, siFXIc1-M1SP1, siFXIc1-M2SP1, siFXIc1-M3SP1, siFXIc2-M1SP1, siFXIc2-M2SP1, siFXIc2-M3SP1, siFXId1-M1P1, siFXId1-M2P1, siFXId1-M3P1, siFXId2-M1P1, siFXId2-M2P1, siFXId2-M3P1, siFXId1-M1SP1, siFXId1-M2SP1, siFXId1-M3SP1, siFXId2-M1SP1, siFXId2-M2SP1, siFXId2-M3SP1, siFXIe1-M1P1, siFXIe1-M2P1, siFXIe1-M3P1, siFXIe2-M1P1, siFXIe2-M2P1, siFXIe2-M3P1, siFXIe1-M1SP1, siFXIe1-M2SP1, siFXIe1-M3SP1, siFXIe2-M1SP1, siFXIe2-M2SP1, siFXIe2-M3SP1, siFXIf1-M1P1, siFXIf1-M2P1, siFXIf1-M3P1, siFXIf2-M1P1, siFXIf2-M2P1, siFXIf2-M3P1, siFXIf1-M1SP1, siFXIf1-M2SP1, siFXIf1-M3SP1, siFXIf2-M1SP1, siFXIf2-M2SP1, siFXIf2-M3SP1, siFXIg1-M1P1, siFXIg1-M2P1, siFXIg1-M3P1, siFXIg2-M1P1, siFXIg2-

M2P1, siFXIg2-M3P1, siFXIg1-M1SP1, siFXIg1-M2SP1, siFXIg1-M3SP1, siFXIg2-M1SP1, siFXIg2-M2SP1, siFXIg2-M3SP1, siFXIh1-M1P1, siFXIh1-M2P1, siFXIh1-M3P1, siFXIh2-M1P1, siFXIh2-M2P1, siFXIh2-M3P1, siFXIh1-M1SP1, siFXIh1-M2SP1, siFXIh1-M3SP1, siFXIh2-M1SP1, siFXIh2-M2SP1, siFXIh2-M3SP1, FXIi1-M1P1, siFXIi1-M2P1, siFXIi1-M3P1, siFXIi2-M1P1, siFXIi2-M2P1, siFXIi2-M3P1, siFXIi1-M1SP1, siFXIi1-M2SP1, siFXIi1-M3SP1, siFXIi2-M1SP1, siFXIi2-M2SP1, và siFXIi2-M3SP1 như được thể hiện trong Bảng 1a đến 1i.

Các tác giả theo sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng các siARN theo sáng chế trên đây đã tăng cường đáng kể độ ổn định huyết tương và lysosom, trong khi thể hiện hoạt tính ức chế mARN đích cao.

Các siARN theo sáng chế có thể được tạo thành bằng các phương pháp sản xuất siARN thông thường trong lĩnh vực kỹ thuật này, ví dụ phương pháp tổng hợp ở pha rắn và phương pháp tổng hợp ở pha lỏng. Trong số chúng, dịch vụ thông thường thương mại đã sẵn có rồi cho tổng hợp pha rắn. Nhóm nucleotit cải biến có thể được đưa vào siARN theo sáng chế bằng cách sử dụng monome nucleotit có cải biến tương ứng. Phương pháp sản xuất monome nucleotit có cải biến tương ứng và phương pháp đưa nhóm nucleotit đã nhóm phosphat vào siARN cũng đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Dược phẩm

Sáng chế đề xuất dược phẩm, chứa siARN trên đây làm thành phần hoạt tính và chất mang dược dụng.

Chất mang dược dụng có thể có thể là chất mang được sử dụng thông thường trong lĩnh vực dùng siARN, ví dụ, nhưng không bị giới hạn đến, một hoặc nhiều hạt nano từ (như Fe_3O_4 và hạt nano dựa trên Fe_2O_3), ống nano cacbon, mesoporous silicon, các hạt nano canxi phosphat, polyetylenimin (PEI), polyamidoamin (PAMAM) dendrime, poly(L-lysine) (PLL), chitosan, 1,2-dioleoyl-3-trimetylammoni-propan (DOTAP), poly(axit D&L-lactic/glycolic) copolyme (PLGA), poly(2-aminoethyl etylen phosphat) (PPEEA), poly(2-dimetylaminoethyl metacrylat) (PDMAEMA), và các dẫn xuất của nó.

Trong dược phẩm, không có yêu cầu cụ thể về hàm lượng của siARN và chất mang dược dụng. Chúng có thể có mặt với khối lượng bất kỳ được sử dụng thông thường cho

mỗi thành phần. Trong một số phương án, tỷ lệ theo trọng lượng của siARN với chất mang được dụng có thể là 1: (1-500), và trong một số phương án, tỷ lệ theo trọng lượng trên là 1: (1-50).

Trong một số phương án, được phẩm có thể cũng chứa tá được dụng khác, mà có thể là một hoặc nhiều công thức hoặc hợp chất khác nhau được sử dụng thông thường trong ngành. Ví dụ, tá được dụng khác này có thể chứa ít nhất một trong số đệm pH, chất bảo vệ và chất điều hòa áp suất thẩm thấu.

Chất đệm pH có thể là dung dịch đệm tris(hydroxymetyl) aminometan hydroclorua có độ pH nằm trong khoảng từ 7,5 đến 8,5, và/hoặc dung dịch đệm phosphat có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5, như dung dịch đệm phosphat có độ pH nằm trong khoảng từ 5,5 đến 8,5.

Chất bảo vệ có thể là ít nhất một trong số inositol, sorbitol, sucroza, trehaloza, mannoza, maltoza, lactoza, và glucoza. Hàm lượng của chất bảo vệ có thể là từ 0,01% trọng lượng đến 30% trọng lượng tính trên tổng trọng lượng của được phẩm.

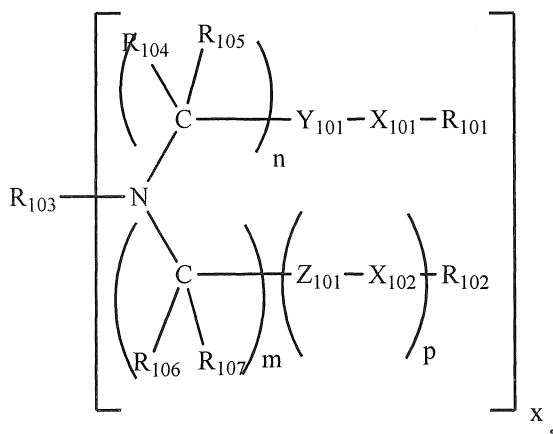
Chất điều biến áp suất thẩm thấu có thể là natri clorua và/hoặc kali clorua. Hàm lượng của chất điều hòa áp suất thẩm thấu của tạo ra áp suất thẩm thấu của được phẩm là từ 200-700 mOsm/kg. Tùy thuộc vào áp suất thẩm thấu mong muốn, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này có thể dễ dàng xác định lượng chất điều biến áp suất thẩm thấu.

Theo một số phương án, được phẩm có thể là được phẩm dạng lỏng, ví dụ, dung dịch tiêm; hoặc sản phẩm đông khô dùng để tiêm, mà có thể được trộn với tá được lỏng để tạo thành được phẩm dạng lỏng khi sử dụng. Chế phẩm lỏng có thể được dùng bởi, nhưng không bị giới hạn đến, tiêm dưới da, trong cơ hoặc trong tĩnh mạch, và cũng có thể được dùng cho, nhưng không bị giới hạn đến, phổi bằng cách phun, mô cơ quan khác (như gan) thông qua phổi bằng cách phun. Theo một số phương án, được phẩm được sử dụng bằng cách tiêm tĩnh mạch.

Theo một số phương án, được phẩm có thể ở dạng được phẩm liposom. Theo một số phương án, chất mang được dụng được sử dụng trong được phẩm liposom chứa hợp chất chuyển nhiễm chứa nhóm amin (sau đây được gọi là amin hữu cơ), lipid trợ giúp và/hoặc lipid được PEGyl hóa. Ở đây, amin hữu cơ, lipid trợ giúp và lipid được PEGyl hóa

có thể tương ứng được chọn từ một hoặc nhiều hợp chất truyền nhiễm chứa amin hoặc muối được dụng hoặc dẫn xuất của nó, lipid trợ giúp và lipid được PEGylat hóa như được mô tả trong CN103380113A, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó.

Trong một số phương án, amin hữu cơ có thể là hợp chất như được thể hiện bằng công thức (201) hoặc muối được dụng của nó như được mô tả trong CN103380113A:



công thức (201)

trong đó,

X_{101} và X_{102} độc lập với nhau được chọn từ O, S, N-A hoặc C-A, trong đó A là hydro hoặc chuỗi $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ hydrocarbon;

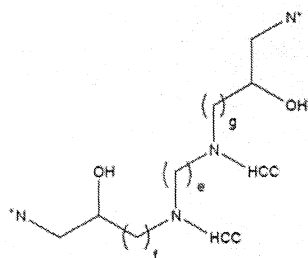
Y_{101} và Z_{101} độc lập với nhau được chọn từ C=O , C=S , S=O , CH-OH hoặc SO_2 ;

R_{101} , R_{102} , R_{103} , R_{104} , R_{105} , R_{106} và R_{107} độc lập với nhau được chọn từ hydro; nhóm béo mạch thẳng hoặc phân nhánh, được thế hoặc không được thế, vòng hoặc không vòng; nhóm dị béo vòng hoặc không vòng, được thế hoặc không được thế, phân nhánh hoặc mạch thẳng; nhóm acyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thế hoặc không được thế; nhóm aryl mạch thẳng hoặc mạch nhánh được thế hoặc không được thế; và nhóm heteroaryl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, được thế hoặc không được thế;

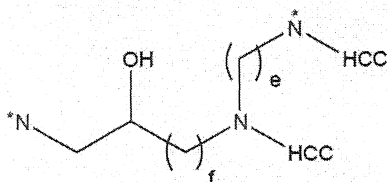
x là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10;

n là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3, m là một số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 20, p là 0 hoặc 1, trong đó nếu $m=p=0$, thì R_{102} là hydro; và

nếu ít nhất một trong số n và m là 2, thì R_{103} và nitơ trong công thức (201) tạo thành cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (202) hoặc (203):



Công thức (202)

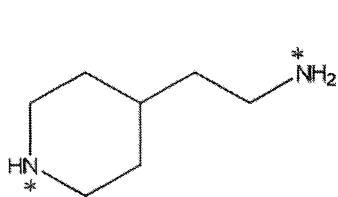


Công thức (203)

trong đó g, e và f độc lập với nhau là số nguyên từ 1-6; “HCC” là chuỗi hydrocarbon, và mỗi *N là nguyên tử nitơ được thể hiện trong công thức (201).

Theo một số phương án, R₁₀₃ là polyamin. Theo các phương án khác, R₁₀₃ là ketal. Trong một số phương án, R₁₀₁ và R₁₀₂ trong công thức (201) độc lập với nhau alkyl hoặc alkenyl mạch thẳng hoặc phân nhánh, được thế hoặc không được thế bất kỳ, trong đó alkyl hoặc alkenyl có từ 3 đến khoảng 20 nguyên tử cacbon (như từ 8 đến khoảng 18 nguyên tử cacbon) và 0-4 liên kết đôi (như 0-2 liên kết đôi).

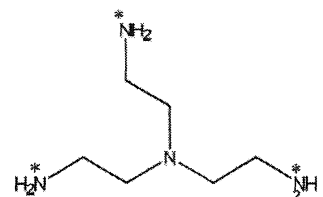
Trong một số phương án, nếu n và m độc lập với nhau là 1 hoặc 3, R₁₀₃ có thể là bất kỳ trong số các công thức sau (204)-(213):



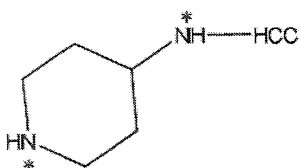
Công thức (204)



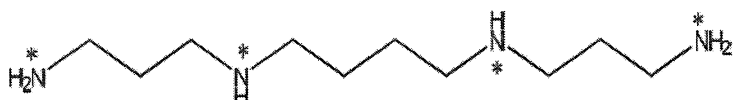
Công thức (205)



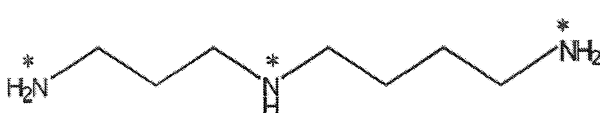
Công thức (206)



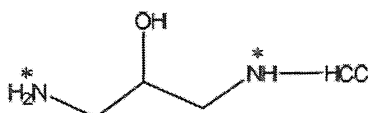
Công thức (207)



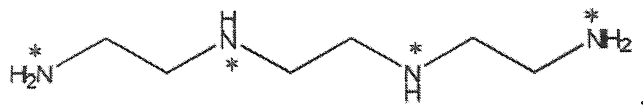
Công thức (208)



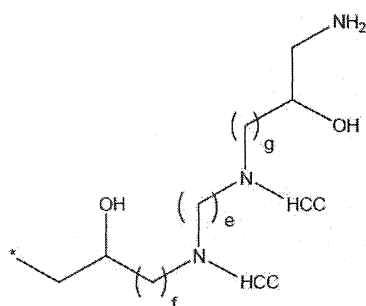
Công thức (209)



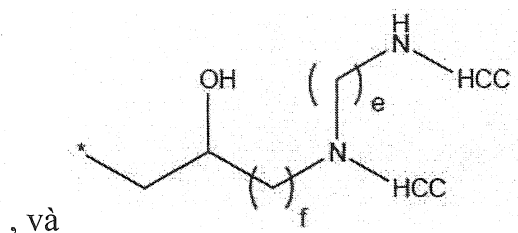
Công thức (210)



công thức (211)



Công thức (212)

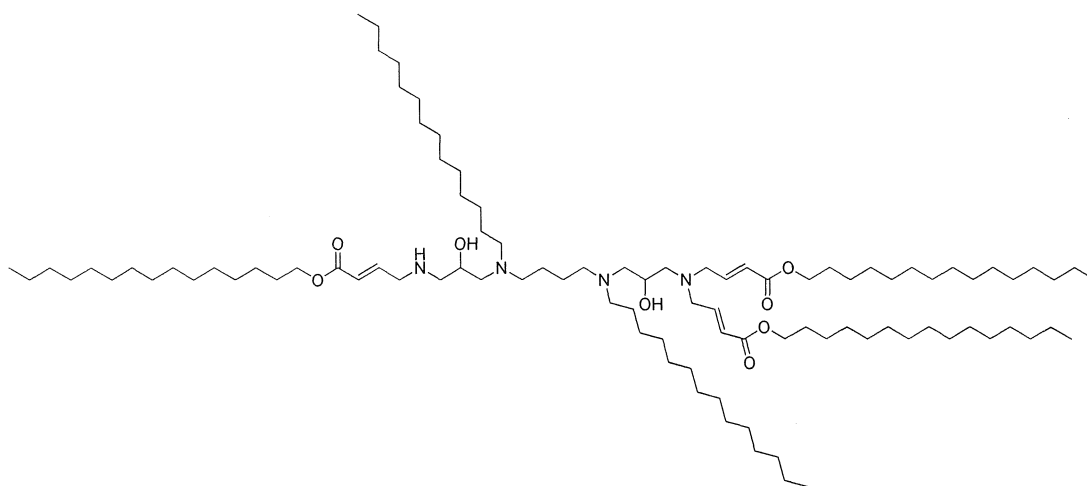


Công thức (213)

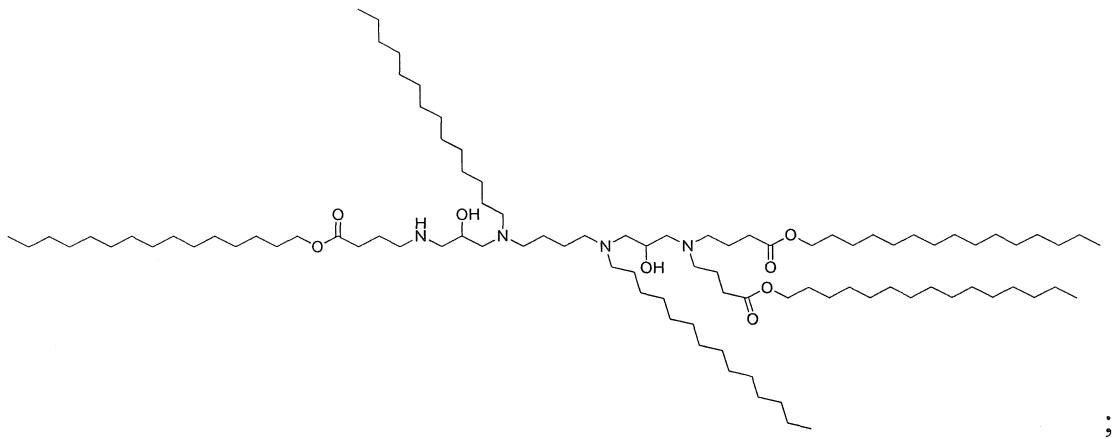
trong đó, trong công thức (204)-(213), g, e và f độc lập với nhau là số nguyên từ 1-6, mỗi "HCC" là chuỗi hydrocarbon, và mỗi * là điểm gắn tiềm năng của R₁₀₃ với nguyên tử nitơ trong công thức (201), trong đó mỗi H ở vị trí * bất kỳ có thể được thay thế để thu được việc gắn với nguyên tử nitơ trong công thức (201).

Hợp chất như được thể hiện bằng công thức (201) có thể được điều chế theo sự mô tả của CN103380113A.

Theo một số phương án, amin hữu cơ là amin hữu cơ như được thể hiện bởi công thức (214) và/hoặc amin hữu cơ như được thể hiện bởi công thức (215):



công thức (214)



công thức (215)

lipit trợ giúp là cholesterol, chất tương tự cholesterol và/hoặc dẫn xuất cholesterol, và

lipit được PEGyl hóa là 1,2-dipalmitoylamin-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamin-N- [metoxy(polyetylen glycol)]-2000.

Theo một số phương án, tỷ lệ mol giữa amin hữu cơ, lipit trợ giúp, và lipit được PEGyl hóa trong dược phẩm là (19,7-80): (19,7-80): (0,3-50), ví dụ, tỷ lệ mol; có thể là (50-70): (20-40): (3-20).

Theo một số phương án, các hạt dược phẩm được tạo thành bởi siARN theo sáng chế và các chất chuyển nhiễm chứa amin nêu trên có đường kính hạt trung bình nằm trong khoảng từ 30 nm đến 200 nm, thông thường nằm trong khoảng từ 40 nm đến 135 nm, và thông thường hơn, đường kính trung bình của hạt liposom nằm trong khoảng từ 50 nm đến 120 nm, từ 50 nm đến 100 nm, từ 60 nm đến 90 nm, hoặc từ 70 nm đến 90 nm; ví dụ, đường kính trung bình của hạt liposom là 30, 40, 50, 60, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 hoặc 160 nm.

Theo một số phương án, trong dược phẩm được tạo thành bởi siARN theo sáng chế và chất chuyển nhiễm chứa amin nêu trên, tỷ lệ khối lượng (tỷ lệ khối lượng/khối lượng) của siARN so với tổng lượng lipit, ví dụ, các amin hữu cơ, các lipit hỗ trợ và/hoặc các lipit được PEGyl hóa, nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:50, từ 1:1 đến 1:30, từ 1:3 đến 1:20, từ 1:4 đến 1:18, từ 1:5 đến 1:17, từ 1:5 đến 1:15, từ 1:5 đến 1:12, từ 1:6 đến 1:12, hoặc từ 1:6 đến 1:10. ví dụ, tỷ lệ khối lượng của siARN theo sáng chế so với tổng lượng lipit là khoảng 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17, hoặc

1:18.

Theo một số phương án, dược phẩm có thể được bán trên thị trường ở dạng mỗi thành phần riêng biệt, và được sử dụng ở dạng dược phẩm dạng lỏng. Theo một số phương án, dược phẩm được tạo thành bởi siARN theo sáng chế và chất mang dược dụng nêu trên có thể được bào chế bằng các quy trình đã biết khác nhau, ngoại trừ là thay thế siARN hiện nay bằng siARN theo sáng chế. Theo một số phương án, dược phẩm có thể được bào chế theo quy trình sau:

Các amin hữu cơ, lipit trợ giúp và lipit được PEGyl hóa được tạo huyền phù trong rượu ở tỷ lệ mol như được mô tả trên đây và được trộn đồng nhất để thu được dung dịch lỏng; rượu được sử dụng với lượng sao cho dung dịch lipit thu được có mặt với tổng nồng độ khối lượng là từ 2 đến 25 mg/mL (ví dụ, 8 đến 18 mg/mL). Rượu là rượu dược dụng, như rượu mà ở dạng lỏng ở khoảng nhiệt độ trong phòng, ví dụ, một hoặc nhiều etanol, propylen glycol, rượu benzyl, glyxerol, polyetylen glycol 200, polyetylen glycol 300, và polyetylen glycol 400, như etanol.

siARN theo sáng chế được hòa tan trong dung dịch nước muối được đệm để tạo ra dung dịch nước chứa siARN. Dung dịch nước muối được đệm có nồng độ nằm trong khoảng từ 0,05 đến 0,5 M, như 0,1 đến 0,2 M. Độ pH của dung dịch nước muối được đệm được điều chỉnh đến mức nằm trong khoảng từ 4,0 đến 5,5, như từ 5,0 đến 5,2. Dung dịch muối đệm được sử dụng với khối lượng sao cho siARN có mặt với nồng độ không nhiều hơn 0,6 mg/ml, như từ 0,2 đến 0,4 mg/mL. Dung dịch muối được đệm có thể là một hoặc nhiều dung dịch được chọn từ nhóm bao gồm axetat hòa tan và xitrat hòa tan, như natri axetat và/hoặc kali axetat.

Dung dịch lipit và dung dịch nước chứa siARN được trộn với nhau. Sản phẩm thu được bằng cách trộn được ủ ở nhiệt độ từ 40 đến 60°C trong ít nhất 2 phút (ví dụ, từ 5 đến 30 phút) để tạo ra chế phẩm liposom được ủ. Tỷ lệ theo thể tích của dung dịch lipit so với dung dịch nước chứa siARN là 1: (2-5) (như 1:4).

Chế phẩm liposom được ủ được cô đặc hoặc pha loãng, và sau đó được đưa đến loại bỏ tạp chất và khử trùng thu được dược phẩm theo sáng chế, mà có các thông số lý hóa sau: pH là từ 6,5 đến 8, phần trăm nang hóa là không thấp hơn 80%, cỡ hạt là từ 40 đến 200 nm, chỉ số đa phân tán không lớn hơn 0,30, và áp suất thẩm thấu là từ 250 đến

400 mOsm/kg. Ví dụ, các thông số lý hóa có thể là như sau: pH là từ 7,2 đến 7,6, phần trăm nang hóa không thấp hơn 90%, cỡ hạt là 60 đến 100 nm, chỉ số đa phân tán không lớn hơn 0,20, và áp suất thẩm thấu là 300 đến 400 mOsm/kg.

Trong đó, bước cô hoặc pha loãng có thể được thực hiện trước, sau hoặc đồng thời với bước loại bỏ các tạp chất. Phương pháp loại bỏ các tạp chất có thể là phương pháp bất kỳ đã có khác nhau, ví dụ, siêu lọc dưới 100 kDa sử dụng cột sợi rỗng, đệm phosphat (PBS) ở pH 7,4 làm dung dịch trao đổi siêu lọc, và hệ thống lọc tiếp tuyến. Phương pháp vô trùng có thể là phương pháp bất kỳ trong số nhiều phương pháp hiện nay, như vô trùng bằng cách lọc trên màng lọc có kích thước lỗ lọc bằng 0,22 μm .

Thể tiếp hợp siARN

Sáng chế đề xuất thể tiếp hợp siARN chứa siARN nêu trên và nhóm tiếp hợp được liên kết với siARN bằng cách tiếp hợp.

Nói chung, nhóm tiếp hợp chứa ít nhất một nhóm hướng đích được dụng và đoạn nối tùy ý. Ngoài ra, siARN, đoạn nối và nhóm hướng đích được liên kết sau đó. Theo một số phương án, số nhóm hướng đích là từ 1 đến 6. Theo một số phương án, số nhóm hướng đích là từ 2 đến 4. Phân tử siARN có thể được tiếp hợp cộng hóa trị hoặc không cộng hóa trị với nhóm tiếp hợp, ví dụ phân tử siARN có thể được tiếp hợp cộng hóa trị với nhóm tiếp hợp. Vị trí tiếp hợp giữa siARN và nhóm tiếp hợp có thể ở đầu tận cùng 3' hoặc đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa của siARN, hoặc ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa của siARN, và có thể là trong trình tự bên trong của siARN. Trong một số phương án, vị trí tiếp hợp giữa siARN và nhóm tiếp hợp là ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN.

Trong một số phương án, nhóm tiếp hợp có thể được liên kết với nhóm phosphat, 2'-hydroxy hoặc bazơ của nucleotit. Trong một số phương án, nhóm tiếp hợp có thể cũng được nối với nhóm 3'-hydroxy khi các nucleotit được liên kết thông qua liên kết 2'-5'-phosphodiester. Khi nhóm tiếp hợp được liên kết với đầu tận cùng của sợi siARN, nhóm tiếp hợp điển hình là được liên kết với nhóm phosphat của nucleotit; khi nhóm tiếp hợp được liên kết với trình tự bên trong của siARN, nhóm tiếp hợp điển hình là được liên kết với vòng riboza hoặc bazơ. Để biết thêm về các cách thức liên kết khác nhau, có thể tham khảo tài liệu: Muthiah Manoharan *et.al.* Muthiah Manoharan *et.al.* siRNA conjugates

carrying sequentially assembled trivalent N-acetylgalactosamine linked through nucleosides elicit robust gene silencing in vivo in hepatocytes. ACS Chemical biology, 2015, 10(5): 1181-7.

Trong một số phương án, siARN và nhóm tiếp hợp có thể được liên kết bằng liên kết hóa học có thể điều chỉnh hoặc không bền với axit, và các liên kết hóa học này có thể được phân hủy dưới môi trường axit của các endosom tế bào, nhờ đó tạo ra siARN là ở trạng thái tự do. Đối với các cách thức tiếp hợp không dễ bị phân hủy, nhóm tiếp hợp có thể được liên kết với sợi có nghĩa của siARN, nhờ đó làm giảm tối thiểu tác động của việc tiếp hợp đến hoạt tính của siARN.

Trong một số phương án, nhóm hướng đích được dụng có thể là phối tử được sử dụng thông thường trong lĩnh vực dùng siARN, ví dụ, các phối tử khác nhau như được mô tả trong WO2009082607A2, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó.

Trong một số phương án, nhóm hướng đích được dụng có thể được chọn từ một hoặc nhiều phối tử được tạo thành bởi các phân tử đích sau hoặc dẫn xuất của nó: các phân tử ưa lipid, như cholesterol, axit mật, vitamin (như vitamin E), các phân tử lipid có các chiều dài chuỗi khác nhau; polyme, như polyetylen glycol; polypeptit, như peptit thấm tế bào; aptame; các kháng thể; các chấm lượng tử; saccharit, như lactoza, polylactoza, mannoza, galactoza, N-acetylgalactosamin (GalNAc); folat; hoặc các phối tử thụ thể biểu hiện trong các tế bào nhu mô gan, như asialoglycoprotein, gốc asialo-đường, lipoprotein (như lipoprotein tỷ trọng cao, lipoprotein tỷ trọng thấp và dạng tương tự), glucagon, chất dẫn truyền thần kinh (như adrenalin), các yếu tố tăng trưởng, transferrin và dạng tương tự.

Theo một số phương án, mỗi phối tử độc lập được chọn từ phối tử có khả năng gắn kết với thụ thể trên bề mặt tế bào. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là phối tử có khả năng gắn kết với thụ thể trên bề mặt của tế bào gan. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là phối tử có khả năng gắn kết với thụ thể trên bề mặt của tế bào gan của động vật có vú. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là phối tử có khả năng gắn kết với thụ thể trên bề mặt của tế bào gan của người. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là phối tử có khả năng gắn kết với thụ thể asialoglycoprotein (ASGPR) trên

bề mặt của tế bào gan. Các loại thụ thể này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này và chúng thường có chức năng gắn kết với thụ thể đặc hiệu trên bề mặt của tế bào đích, nhờ đó phân phối siARN đã liên kết với phối tử vào tế bào đích.

Trong một số phương án, nhóm hướng đích được dụng có thể là phối tử bất kỳ có ái lực với thụ thể asialoglycoproteins (ASGPR) trên bề mặt của tế bào gan của động vật có vú. Theo một số phương án, mỗi phối tử độc lập là asialoglycoprotein, như asialoorosomuroid (ASOR) hoặc asialofetuin (ASF). Theo một số phương án, phối tử là sacarit hoặc dẫn xuất của nó.

Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là sacarit. Theo một số phương án, mỗi phối tử là sacarit. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử là monosacarit, polysacarit, monosacarit được cải biến, polysacarit được cải biến, hoặc dẫn xuất sacarit. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử có thể là monosacarit, disacarit hoặc trisacarit. Theo một số phương án, ít nhất một phối tử sacarit đã cải biến. Theo một số phương án, mỗi phối tử là sacarit đã cải biến. Theo một số phương án, mỗi phối tử độc lập được chọn từ polysacarit, polysacarit đã cải biến, monosacarit, monosacarit đã cải biến, dẫn xuất polysacarit, và dẫn xuất monosacarit. Trong một số phương án, mỗi phối tử hoặc ít nhất một phối tử được chọn từ nhóm bao gồm glucoza và dẫn xuất của nó, mannoza và dẫn xuất của nó, galactoza và dẫn xuất của nó, xyloza và dẫn xuất của nó, riboza và dẫn xuất của nó, fucoza và dẫn xuất của nó, lactoza và dẫn xuất của nó, maltoza và dẫn xuất của nó, arabinoza và dẫn xuất của nó, fructoza và dẫn xuất của nó, và axit sialic.

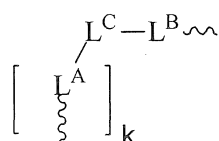
Theo một số phương án, mỗi phối tử có thể độc lập được chọn từ nhóm bao gồm D-mannopyranoza, L-mannopyranoza, D-arabinoza, D-xylofuranoza, L-xylofuranoza, D-glucoza, L-glucoza, D-galactoza, L-galactoza, α -D-mannofuranoza, β -D-mannofuranoza, α -D-mannopyranoza, β -D-mannopyranoza, α -D-glucopyranoza, β -D-glucopyranoza, α -D-glucofuranoza, β -D-glucofuranoza, α -D-fructofuranoza, α -D-fructopyranoza, α -D-galactopyranoza, β -D-galactopyranoza, α -D-galactofuranoza, β -D-galactofuranoza, glucosamin, axit sialic, galactosamin, N-axetyl galactosamin, N-trifloaxetyl galactosamin, N-propionyl galactosamin, N-n-butyryl galactosamin, N-isobutyryl galactosamin, 2-amino-3-O-[(R)-1-carboxyetyl]-2-deoxy- β -D-glucopyranoza,

2-deoxy-2-methylamino-L-glucopyranoza, 4,6-dideoxy-4-formamido-2,3-di-O-metyl-D-mannopyranoza, 2-deoxy-2-sulfoamino-D-glucopyranoza, axit N-glycolyl- α -neuraminic, 5-thio- β -D-glucopyranoza, methyl 2,3,4-tris-O-axetyl-1-thio-6-O-trityl- α -D-glucopyranosit, 4-thio- β -D-galactopyranoza, etyl 3,4,6,7-tetra-O-axetyl-2-deoxy-1,5-dithio- α -D-glucoheptopyranosit, 2,5-anhydro-D-allononitril, riboza, D-riboza, D-4-thioriboza, L-riboza, L-4-thioriboza. Các lựa chọn khác về phối tử có thể được tìm thấy trong, ví dụ, bản mô tả của công bố đơn Trung Quốc số CN105378082A, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, nhóm hướng đích được dùng trong thể tiếp hợp siARN có thể là galactoza hoặc N-axetylgalactosamin, trong đó các phân tử galactoza hoặc N-axetylgalactosamin có thể có hóa trị một, hai, ba hoặc bốn. Cần hiểu rằng các thuật ngữ hóa trị một, hai, ba hoặc bốn được mô tả ở đây lần lượt có nghĩa là tỷ lệ mol của phân tử siARN so với phân tử galactoza hoặc N-axetylgalactosamin trong thể tiếp hợp siARN là 1:1, 1:2, 1:3 hoặc 1:4, trong đó thể tiếp hợp siARN được tạo thành từ phân tử siARN và nhóm tiếp hợp chứa phân tử galactoza hoặc N-axetylgalactosamin làm nhóm hướng đích. Theo một số phương án, nhóm hướng đích được dùng là N-axetylgalactosamin. Trong một số phương án, khi siARN theo sáng chế được tiếp hợp với nhóm tiếp hợp chứa N-axetylgalactosamin, phân tử N-axetylgalactosamin là hóa trị ba hoặc hóa trị bốn. Theo một số phương án, khi siARN theo sáng chế được tiếp hợp với nhóm tiếp hợp chứa N-axetylgalactosamin, thì phân tử N-axetylgalactosamin có hóa trị ba.

Nhóm hướng đích có thể được liên kết với phân tử siARN thông qua đoạn nối thích hợp, và đoạn nối thích hợp có thể được chọn bởi chuyên gia trong ngành theo kiểu nhóm hướng đích cụ thể. Các loại đoạn nối và các nhóm hướng đích này và các cách thức liên kết với siARN có thể được tìm hiểu trong bản mô tả của công bố đơn quốc tế số WO2015006740A2, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn.

Theo một số phương án, khi nhóm hướng đích là N-axetylgalactosamin, thì đoạn nối thích hợp có thể có cấu trúc sau như được thể hiện bởi công thức (301):

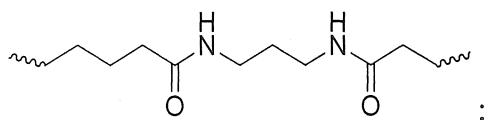


công thức (301)

trong đó,

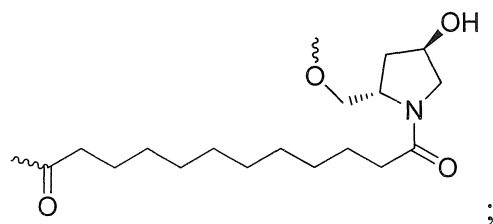
k là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3;

L^A là liên kết amit chứa gốc chuỗi có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (302), và mỗi L^A tương ứng được liên kết với nhóm hướng đích và gốc L^C thông qua liên kết ete ở hai đầu cuối của nó:



công thức (302)

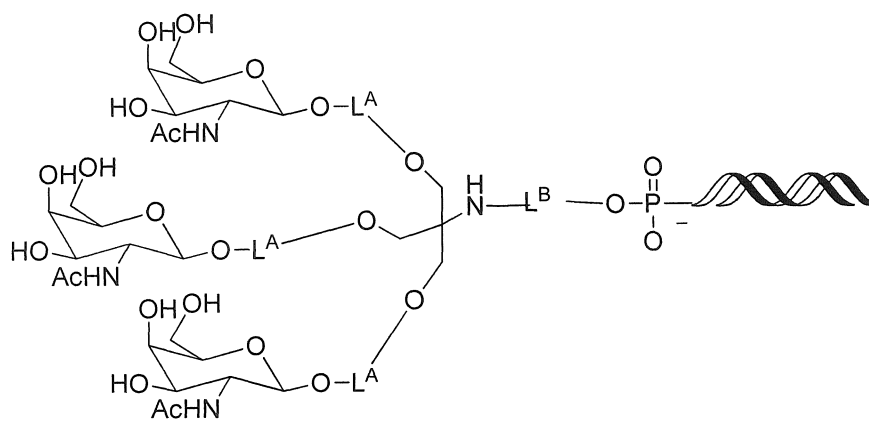
L^B là N-axylpyrrolidin-chứa gốc chuỗi có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (303), trong đó gốc chuỗi có nhóm carbonyl ở một đầu tận cùng của nó và được liên kết với gốc L^C thông qua liên kết amit, và có nhóm oxy ở đầu còn lại và được liên kết với siARN thông qua liên kết phosphoeste:



công thức (303)

L^C là nhóm liên kết hóa trị hai đến hóa trị bốn dựa trên hydroxymetyl aminometan, dihydroxymetyl aminometan hoặc trihydroxymetyl aminometan, và L^C được liên kết với mỗi gốc L^A thông qua liên kết ete thông qua nguyên tử oxy, và được liên kết với gốc L^B thông qua liên kết amit thông qua nguyên tử nitơ.

Theo một số phương án, khi $n=3$ và L^C là nhóm liên kết hóa trị bốn dựa trên trihydroxymetyl aminometan, thể tiếp hợp siARN được tạo thành bằng cách liên kết các phân tử N-axetyl galactosamin với phân tử siARN thông qua $-(L^A)_3$ -trihydroxymetyl aminometan- L^B làm đoạn nối có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (304):

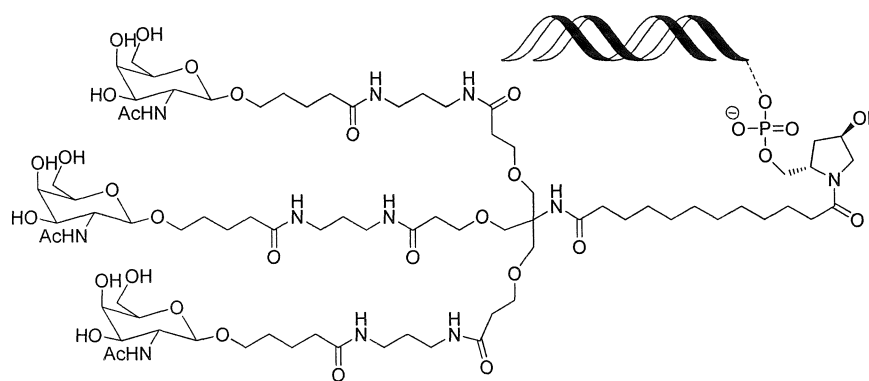


công thức (304)

trong đó cấu trúc xoắn kép thể hiện siARN.

Tương tự như vậy, vị trí tiếp hợp giữa siARN và nhóm tiếp hợp có thể ở đầu tận cùng 3' hoặc đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa của siARN, hoặc ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa, hoặc trong trình tự bên trong của siARN.

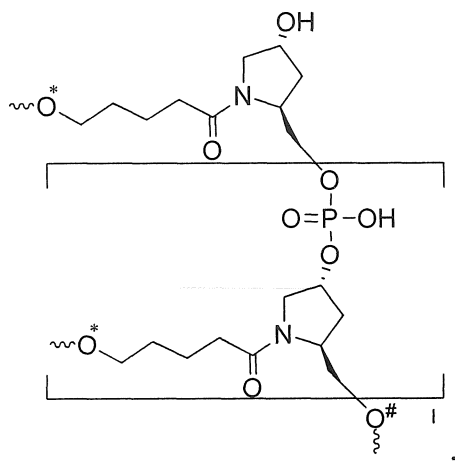
Trong một số phương án, đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN theo sáng chế được tiếp hợp đồng hóa trị với ba phân tử N-axetylgalactosamin (GalNAc) thông qua đoạn nối $-(L^A)_3$ -trihydroxymetyl aminometan- L^B -, thu được thể tiếp hợp siARN trong đó tỷ lệ mol của phân tử siARN với phân tử GalNAc là 1:3 (sau đây cũng được đề cập đến là (GalNAc)₃-siRNA), và thể tiếp hợp siARN này có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (305):



công thức (305)

trong đó cấu trúc xoắn kép thể hiện siARN; và đoạn nối được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN.

Trong một số phương án, khi nhóm hướng đích là N-axetylgalactosamin, đoạn nối thích hợp có thể có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (306):



công thức (306)

trong đó,

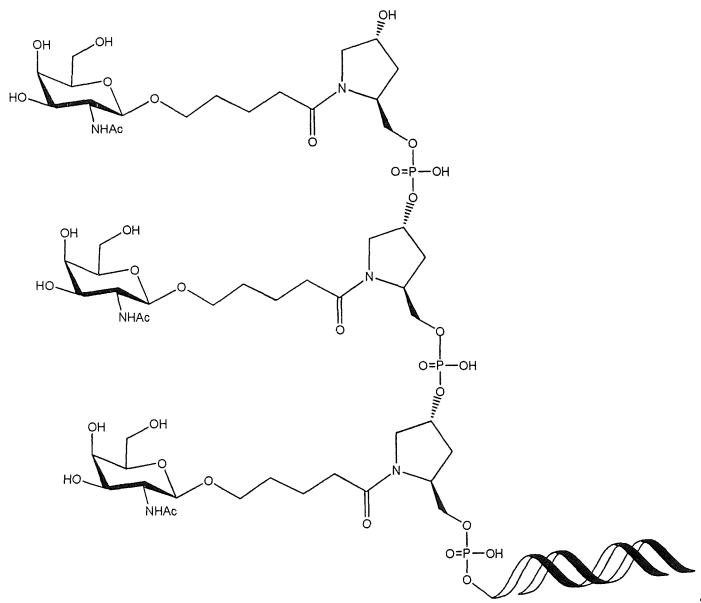
l là số nguyên từ 0 - 3;

* là vị trí trên đoạn nối được liên kết với nhóm hướng đích thông qua liên kết ete;

và

là vị trí trên đoạn nối được liên kết với siARN thông qua liên kết phosphoeste.

Trong một số phương án, khi l=2, thể tiếp hợp siARN có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (307):



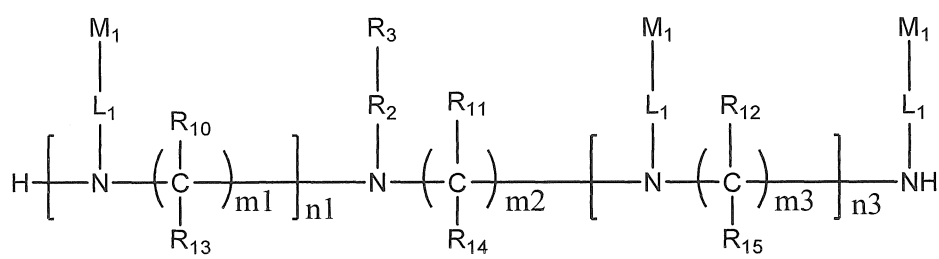
công thức (307)

trong đó, cấu trúc xoắn kép thể hiện siARN; và đoạn nối được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN.

Thể tiếp hợp trên đây có thể được tổng hợp theo phương pháp được mô tả trong

giải pháp kỹ thuật đã biết. Ví dụ, công bố đơn quốc tế số WO2015006740 A2 mô tả chi tiết các phương pháp sản xuất các thể tiếp hợp khác nhau. Thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể thu được bằng các phương pháp đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, WO2014025805A1 mô tả phương pháp điều chế thể tiếp hợp có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (305). Rajeev *et al.*, ChemBioChem 2015, 16, 903-908 mô tả phương pháp sản xuất thể tiếp hợp có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (307).

Theo một số phương án, thể tiếp hợp siARN có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (308):



công thức (308)

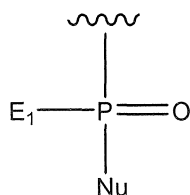
trong đó,

$n1$ là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3, và $n3$ là một số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4;

$m1$, $m2$, và $m3$ độc lập với nhau là số nguyên từ 2-10;

R_{10} , R_{11} , R_{12} , R_{13} , R_{14} , và R_{15} độc lập với nhau là H, hoặc được chọn từ nhóm bao gồm C_1 - C_{10} alkyl, C_1 - C_{10} haloalkyl, và C_1 - C_{10} alkoxy,

R_3 là nhóm có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (A59):



Công thức (A59)

trong đó E_1 là OH, SH hoặc BH_2 ; và Nu là siARN theo sáng chế;

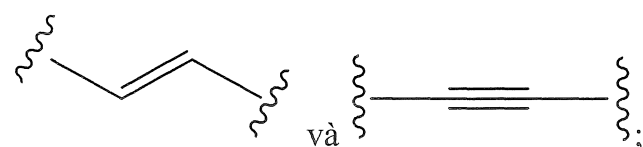
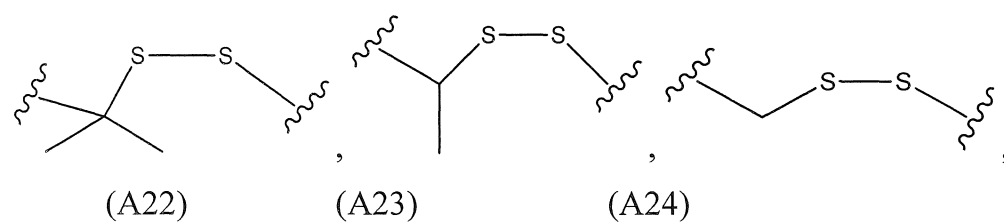
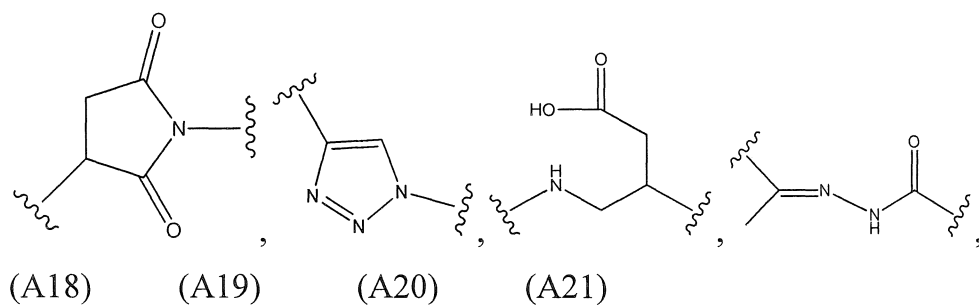
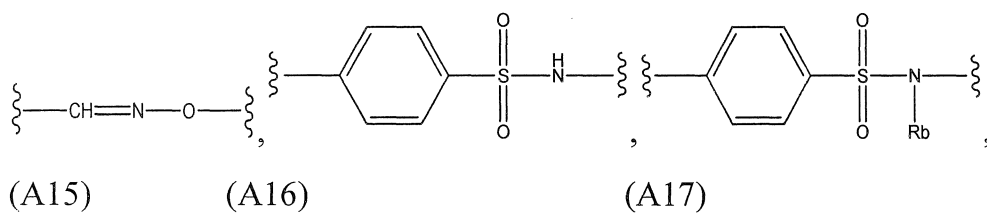
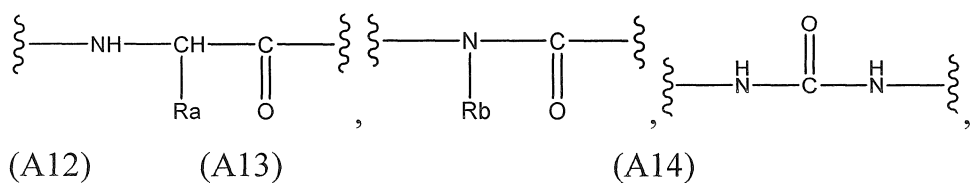
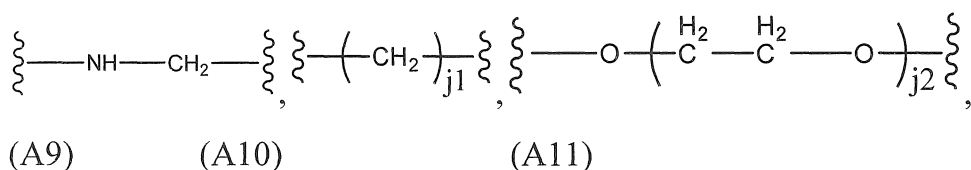
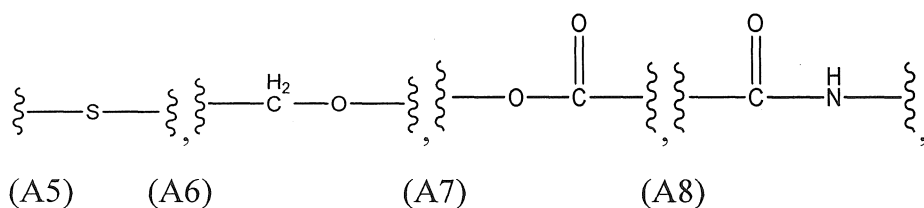
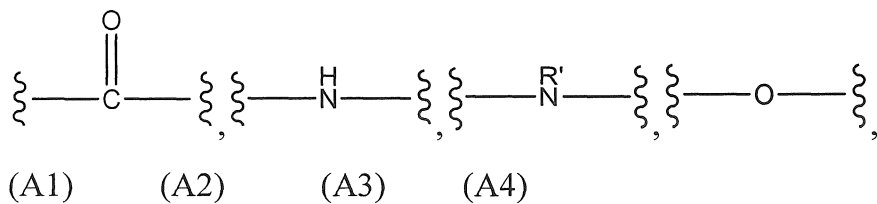
R_2 là alkylen mạch thẳng có chiều dài từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon tùy ý được thay thế bằng một hoặc nhiều nhóm bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C(O), NH, O, S, CH=N, S(O)₂, C_2 - C_{10} alkenylen, C_2 -

C₁₀ alkynylen, C₆-C₁₀ arylen, C₃-C₁₈ heterocyclylen, và C₅-C₁₀ heteroarylen, và trong đó R₂ tùy ý có một hoặc nhiều phần tử thế bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C₁-C₁₀ alkyl, C₆-C₁₀ aryl, C₅-C₁₀ heteroaryl, C₁-C₁₀ haloalkyl, -OC₁-C₁₀ alkyl, -OC₁-C₁₀ alkylphenyl, -C₁-C₁₀ alkyl-OH, -OC₁-C₁₀ haloalkyl, -SC₁-C₁₀ alkyl, -SC₁-C₁₀ alkylphenyl, -C₁-C₁₀ alkyl-SH, -SC₁-C₁₀ haloalkyl, halo, -OH, -SH, -NH₂, -C₁-C₁₀ alkyl-NH₂, -N(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkyl), -NH(C₁-C₁₀ alkyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkylphenyl), -NH(C₁-C₁₀ alkylphenyl), cyano, nitro, -CO₂H, -C(O)O(C₁-C₁₀) alkyl, -CON(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkyl), -CONH(C₁-C₁₀ alkyl), -CONH₂, -NHC(O)(C₁-C₁₀ alkyl), -NHC(O)(phenyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)C(O)(C₁-C₁₀ alkyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)C(O)(phenyl), -C(O)C₁-C₁₀ alkyl, -C(O)C₁-C₁₀ alkylphenyl, -C(O)C₁-C₁₀ haloalkyl, -OC(O)C₁-C₁₀ alkyl, -SO₂(C₁-C₁₀ alkyl), -SO₂(phenyl), -SO₂(C₁-C₁₀ haloalkyl), -SO₂NH₂, -SO₂NH(C₁-C₁₀ alkyl), -SO₂NH(phenyl), -NHSO₂(C₁-C₁₀ alkyl), -NHSO₂(phenyl), và -NHSO₂(C₁-C₁₀ haloalkyl);

mỗi L₁ là alkylen mạch thẳng có chiều dài từ 1 đến 70 nguyên tử cacbon, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon tùy ý được thay thế bằng một hoặc nhiều nhóm bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C(O), NH, O, S, CH=N, S(O)₂, C₂-C₁₀ alkenylen, C₂-C₁₀ alkynylen, C₆-C₁₀ arylen, C₃-C₁₈ heteroxyclylen, và C₅-C₁₀ heteroarylen, và trong đó L₁ tùy ý có một hoặc nhiều nhóm thế bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C₁-C₁₀ alkyl, C₆-C₁₀ aryl, C₅-C₁₀ heteroaryl, C₁-C₁₀ haloalkyl, -OC₁-C₁₀ alkyl, -OC₁-C₁₀ alkylphenyl, -C₁-C₁₀ alkyl-OH, -OC₁-C₁₀ haloalkyl, -SC₁-C₁₀ alkyl, -SC₁-C₁₀ alkylphenyl, -C₁-C₁₀ alkyl-SH, -SC₁-C₁₀ haloalkyl, halo, -OH, -SH, -NH₂, -C₁-C₁₀ alkyl-NH₂, -N(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkyl), -NH(C₁-C₁₀ alkyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkylphenyl), -NH(C₁-C₁₀ alkylphenyl), cyano, nitro, -CO₂H, -C(O)O(C₁-C₁₀ alkyl), -CON(C₁-C₁₀ alkyl)(C₁-C₁₀ alkyl), -CONH(C₁-C₁₀ alkyl), -CONH₂, -NHC(O)(C₁-C₁₀ alkyl), -NHC(O)(phenyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)C(O)(C₁-C₁₀ alkyl), -N(C₁-C₁₀ alkyl)C(O)(phenyl), -C(O)C₁-C₁₀ alkyl, -C(O)C₁-C₁₀ alkylphenyl, -C(O)C₁-C₁₀ haloalkyl, -OC(O)C₁-C₁₀ alkyl, -SO₂(C₁-C₁₀ alkyl), -SO₂(phenyl), -SO₂(C₁-C₁₀ haloalkyl), -SO₂NH₂, -SO₂NH(C₁-C₁₀ alkyl), -SO₂NH(phenyl), -NHSO₂(C₁-C₁₀ alkyl), -NHSO₂(phenyl), và -NHSO₂(C₁-C₁₀ haloalkyl).

Trong một số phương án, L₁ có thể được chọn từ nhóm bao gồm nhóm bao gồm

các công thức từ (A1)-(A26) hoặc sự kết hợp bất kỳ của nó, trong đó các cấu trúc và các định nghĩa của A1-A26 là như sau:



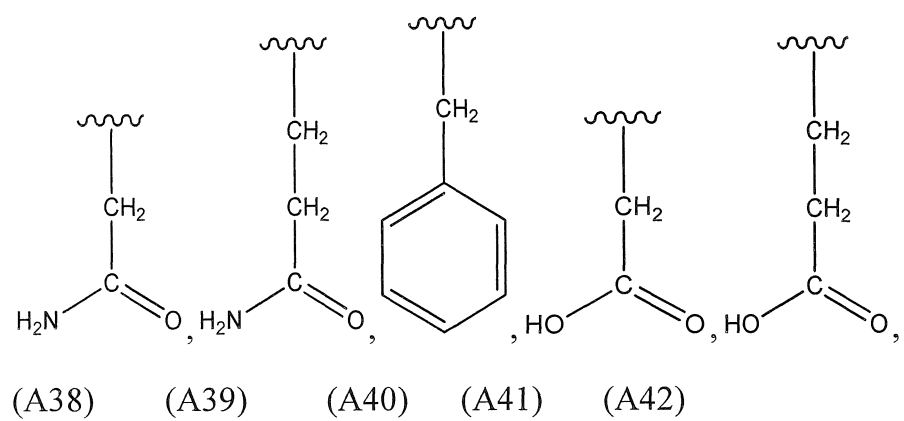
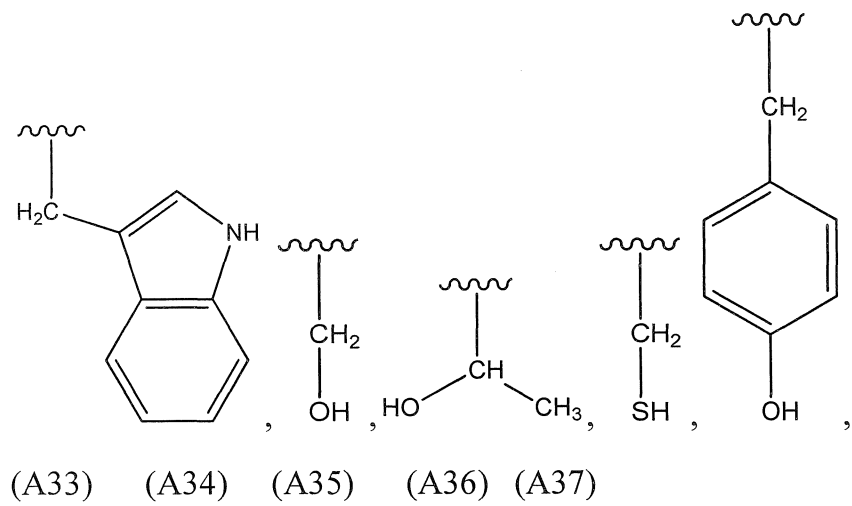
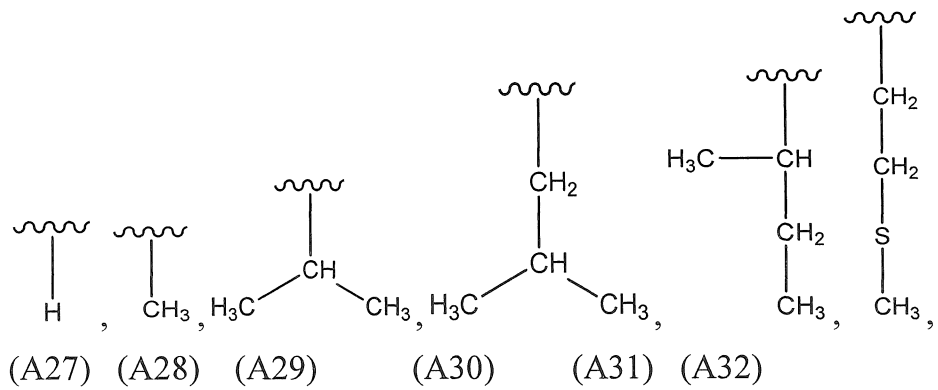
(A25) (A26)

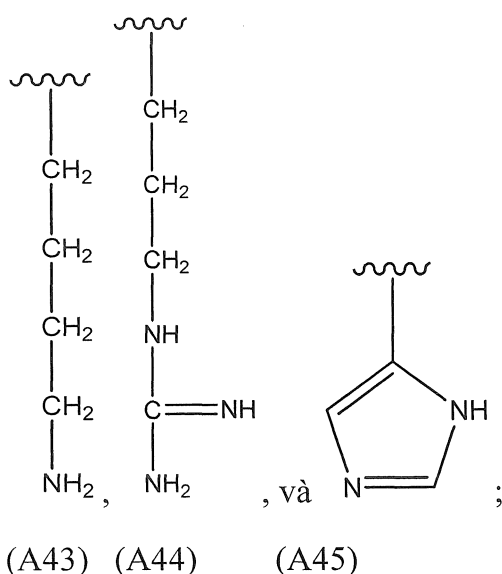
trong đó j1 là số nguyên từ 1-20;

j2 là số nguyên từ 1-20;

R' là C₁-C₁₀ alkyl;

Ra được chọn từ nhóm bao gồm nhóm bao gồm các công thức (A27)-(A45) hoặc sự kết hợp bất kỳ của nó:





Rb là C₁-C₁₀ alkyl; và

~~~~~ thể hiện vị trí tại đó nhóm được liên kết đồng hóa trị.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này hiểu rằng, mặc dù thuận tiện là L<sub>1</sub> được xác định là alkyl mạch thẳng, nhưng nhóm này cũng có thể không phải là nhóm mạch thẳng hoặc được đặt tên khác, như amin hoặc alkenyl được tạo ra bằng cách thay thế nêu trên. Cho mục đích của sáng chế, chiều dài của L<sub>1</sub> là số nguyên tử trong chuỗi liên kết ở hai điểm gắn. Theo mục đích này, vòng thu được bằng cách thay thế nguyên tử cacbon trong alkylen mạch thẳng, như heteroxycylen hoặc heteroarylen, được tính là một nguyên tử.

M<sub>1</sub> là nhóm hướng đích, trong đó các định nghĩa và lựa chọn là giống như các định nghĩa và lựa chọn của các nhóm hướng đích nêu trên. Theo một số phương án, mỗi M<sub>1</sub> độc lập là nhóm được chọn từ các phối tử mà có ái lực với thụ thể asialoglycoprotein trên bề mặt của các tế bào gan của động vật có vú.

Khi M<sub>1</sub> là phối tử mà có ái lực với thụ thể asialoglycoprotein trên bề mặt tế bào gan của động vật có vú, theo một số phương án, n<sub>1</sub> có thể là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 3, và n<sub>3</sub> có thể là một số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 4 để đảm bảo rằng số nhóm hướng đích M<sub>1</sub> trong thể tiếp hợp ít nhất là 2. Theo một số phương án, n<sub>1</sub>+n<sub>3</sub> ≥ 2, để số nhóm hướng đích M<sub>1</sub> ít nhất là 3, nhờ đó làm cho nhóm hướng đích M<sub>1</sub> dễ gắn kết hơn với thụ thể asialoglycoprotein trên bề mặt của các tế bào gan, nhờ đó dễ thâm nhập vào thể tiếp hợp vào các tế bào. Các thí nghiệm đã cho thấy rằng khi số của nhóm hướng đích M<sub>1</sub> là lớn hơn 3, dễ dàng liên kết giữa nhóm hướng đích M<sub>1</sub> và thụ thể

asialoglycoprotein trên bề mặt của tế bào gan là gia tăng không đáng kể. Do đó, theo các khía cạnh khác như mức độ tiện lợi tổng hợp, chi phí cấu trúc/quy trình và hiệu quả phân phối, theo một số phương án,  $n_1$  là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 2,  $n_3$  là một số nguyên nằm trong khoảng từ 0 đến 1, và  $n_1 + n_3 = 2-3$ .

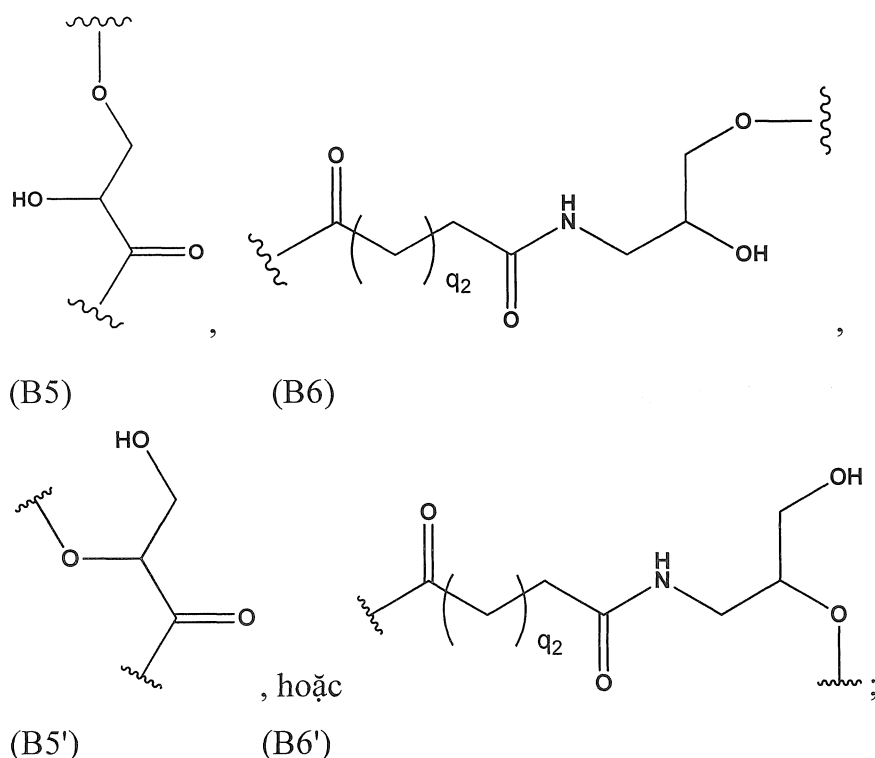
Trong một số phương án, khi  $m_1$ ,  $m_2$ , và  $m_3$  độc lập với nhau là số nguyên được chọn từ 2-10, các vị trí hóa học lập thể trong số nhiều nhóm hướng đích  $M_1$  có thể là thích hợp để liên kết giữa nhóm hướng đích  $M_1$  và thụ thể asialoglycoprotein trên bề mặt của tế bào gan. Để tạo ra thể tiếp hợp theo sáng chế có cấu trúc đơn giản hơn, tổng hợp dễ dàng hơn và/hoặc chi phí thấp, trong một số phương án,  $m_1$ ,  $m_2$  và  $m_3$  độc lập với nhau là số nguyên từ 2-5; trong một số phương án,  $m_1 = m_2 = m_3$ .

Chuyên gia trong ngành sẽ hiểu rằng khi  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , hoặc  $R_{15}$  độc lập với nhau là gốc được chọn từ H,  $C_1$ - $C_{10}$  alkyl,  $C_1$ - $C_{10}$  haloalkyl, và  $C_1$ - $C_{10}$  alkoxy, chúng sẽ không thay đổi các đặc điểm của thể tiếp hợp theo sáng chế và có thể đạt được tất cả các mục đích theo sáng chế. Trong một số phương án,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , hoặc  $R_{15}$  độc lập với nhau được chọn từ H, methyl và ethyl. Theo một số phương án,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , và  $R_{15}$  là H.

$R_3$  là nhóm có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức A59, trong đó  $E_1$  là OH, SH hoặc  $BH_2$ , và được xem là sẵn có dễ dàng về nguyên liệu khởi đầu, trong một số phương án,  $E_1$  là OH hoặc SH.

$R_2$  được chọn để thu được liên kết giữa nhóm như được thể hiện bằng công thức A59 và nguyên tử N trên khung có nitơ. Trong phạm vi sáng chế, thuật ngữ “khung có nitơ” được dùng để chỉ cấu trúc chuỗi trong đó nguyên tử N được liên kết cộng hóa trị với nguyên tử cacbon mà gắn kết với  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , và  $R_{15}$ . Do đó,  $R_2$  có thể là nhóm liên kết bất kỳ có khả năng liên kết nhóm như được thể hiện bởi công thức (A59) với nguyên tử N trên khung có nitơ bằng các biện pháp thích hợp. Theo một số phương án, trong trường hợp thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308) được sản xuất bằng quy trình tổng hợp trên pha rắn, thì nhóm  $R_2$  cần phải có cả vị trí liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ và vị trí liên kết với nguyên tử P trong  $R_3$ . Theo một số phương án, ở  $R_2$ , vị trí liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ tạo thành liên kết amit với nguyên tử N, và vị trí liên kết với nguyên tử P trong  $R_3$  tạo thành liên kết phosphoeste

với nguyên tử P. Trong một số phương án, R<sub>2</sub> có thể là B5, B6, B5', hoặc B6':



trong đó ~~~~~ thể hiện vị trí trong đó nhóm này được liên kết đồng hóa trị;

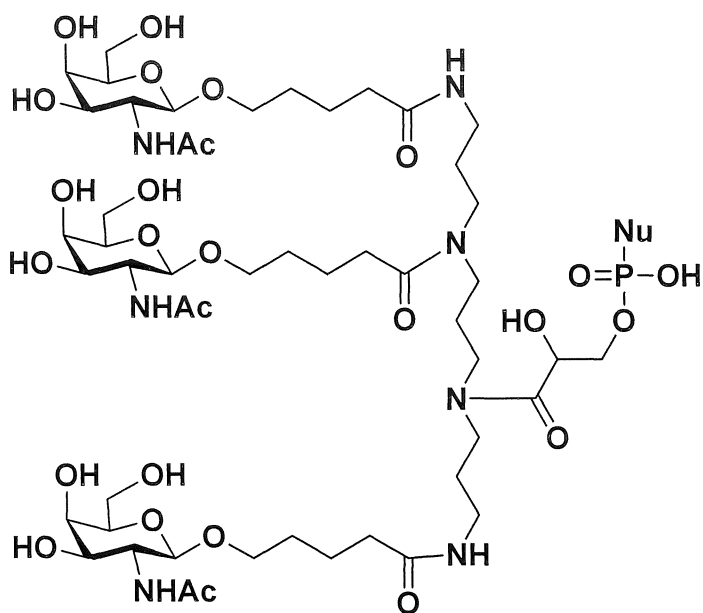
$q_2$  có thể là số nguyên từ 1-10; trong một số phương án,  $q_2$  là số nguyên từ 1-5.

L<sub>1</sub> được sử dụng để liên kết nhóm hướng đích M<sub>1</sub> với nguyên tử N trên khung có nitơ, nhờ đó đem lại chức năng hướng đích vào gan cho thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308). Trong một số phương án, L<sub>1</sub> được chọn từ các sự kết hợp kết nối một hoặc nhiều nhóm bao gồm các công thức (A1)-(A26). Trong một số phương án, L<sub>1</sub> được chọn từ sự kết hợp liên kết của một hoặc nhiều công thức (A1), (A4), (A5), (A6), (A8), (A10), (A11), và (A13). Trong một số phương án, L<sub>1</sub> được chọn từ sự kết hợp liên kết của ít nhất hai công thức (A1), (A4), (A8), (A10), và (A11). Trong một số phương án, L<sub>1</sub> được chọn từ sự kết hợp liên kết của ít nhất hai công thức (A1), (A8) và (A10).

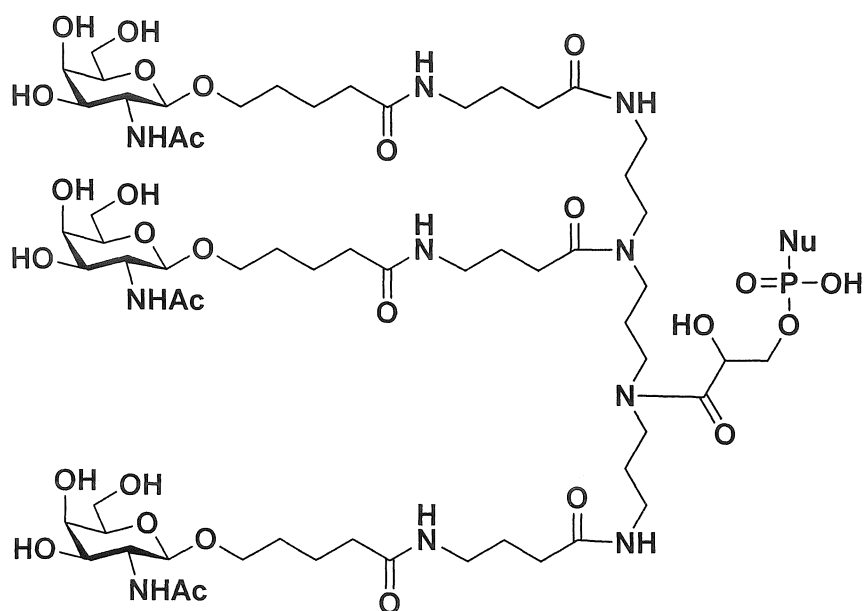
Trong một số phương án, L<sub>1</sub> có thể có chiều dài là từ 3 đến 25, từ 3 đến 20, từ 4 đến 15 hoặc từ 5 đến 12 nguyên tử. Theo một số phương án, L<sub>1</sub> có chiều dài gồm 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, hoặc 60 nguyên tử.

Theo một số phương án, j<sub>1</sub> là một số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 10, và theo một số phương án, j<sub>1</sub> là một số nguyên nằm trong khoảng từ 3 đến 5. Theo một số phương án, j<sub>2</sub> là một số nguyên nằm trong khoảng từ 2 đến 10, và theo một số phương

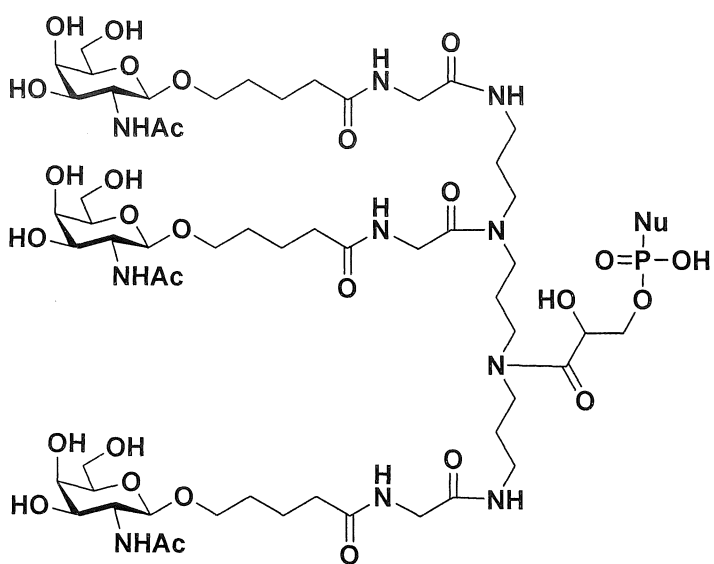
Theo một số phương án, thể tiếp hợp siARN có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (403), (404), (405), (406), (407), (408), (409), (410), (411), (412), (413), (414), (415), (416), (417), (418), (419), (420), (421) hoặc (422):



công thức (403)

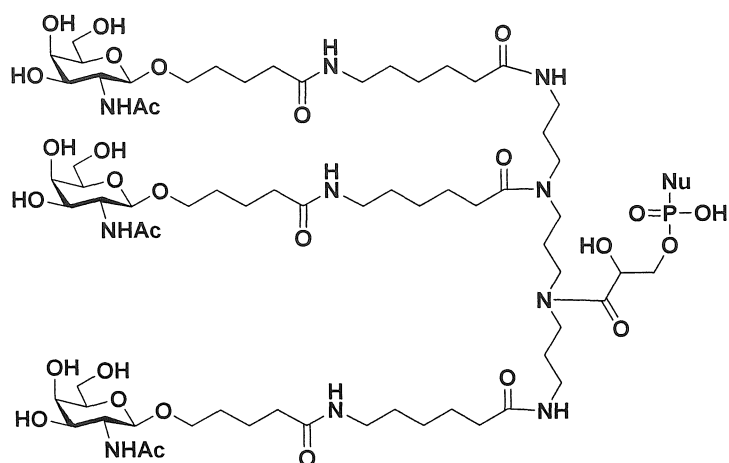


công thức (404)

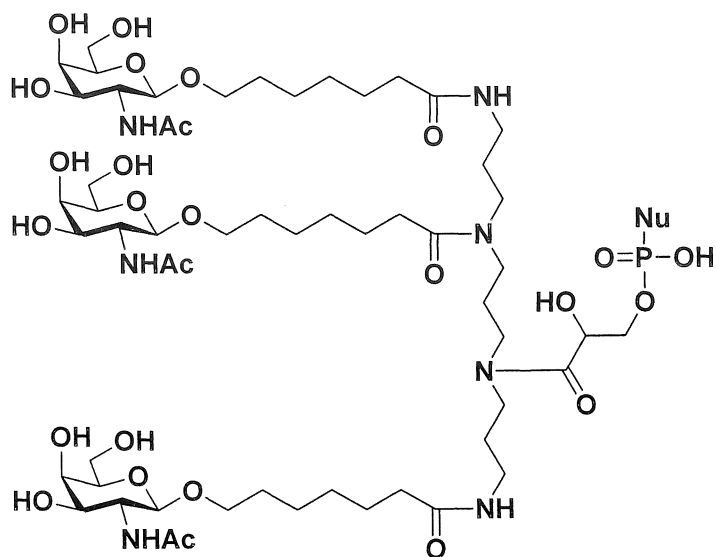


công thức (405)

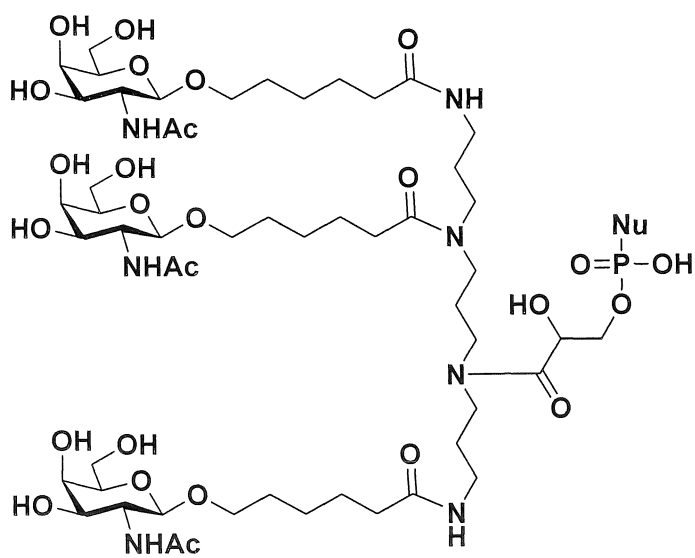




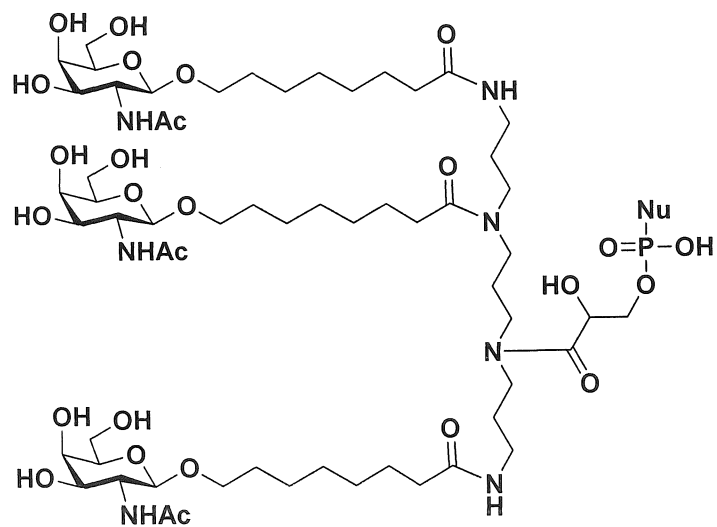
công thức (406)



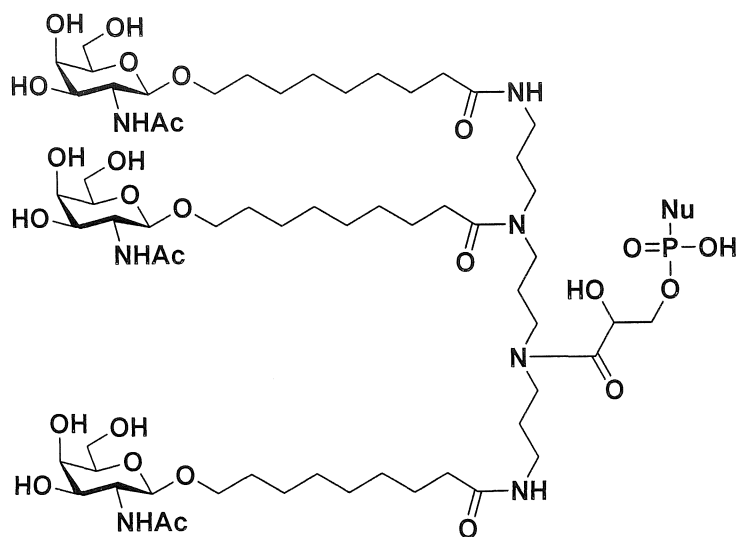
công thức (407)



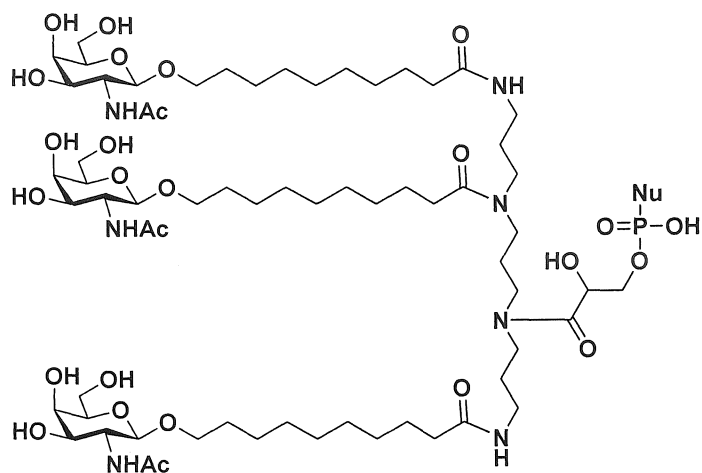
công thức (408)



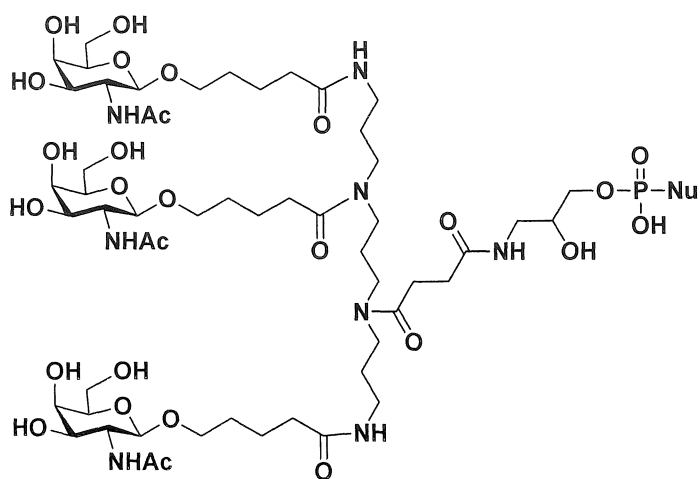
công thức (409)



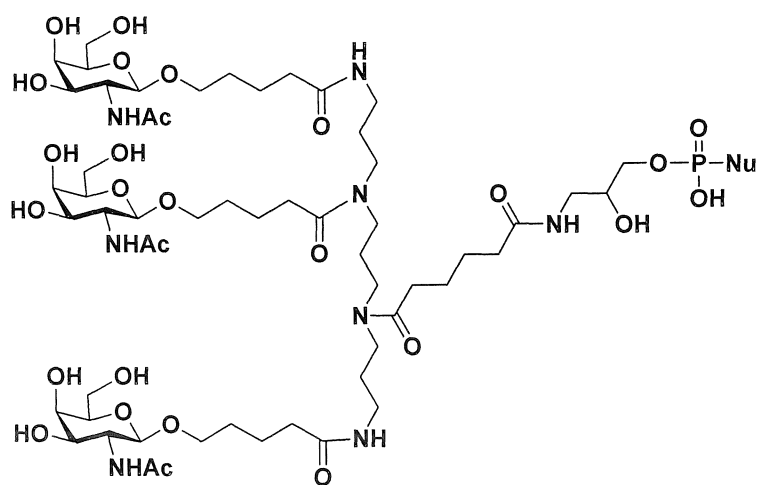
công thức (410)



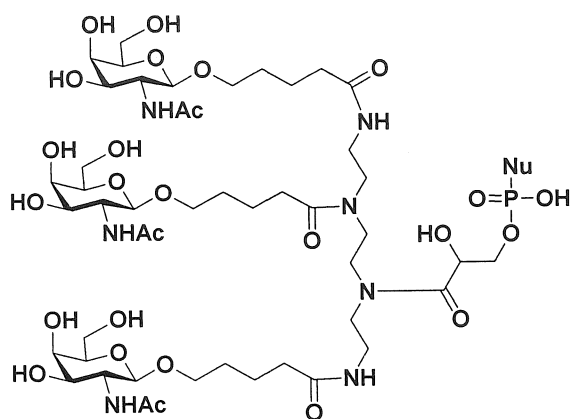
công thức (411)



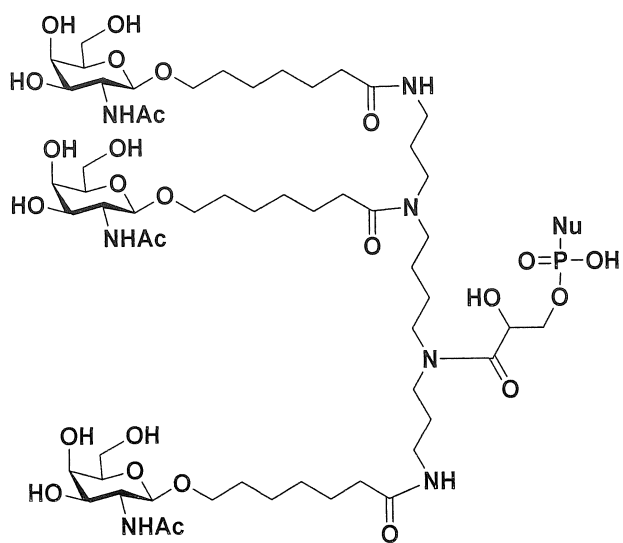
công thức (412)



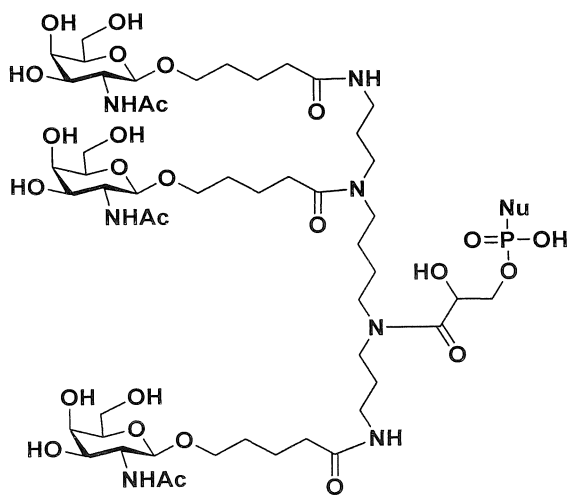
công thức (413)



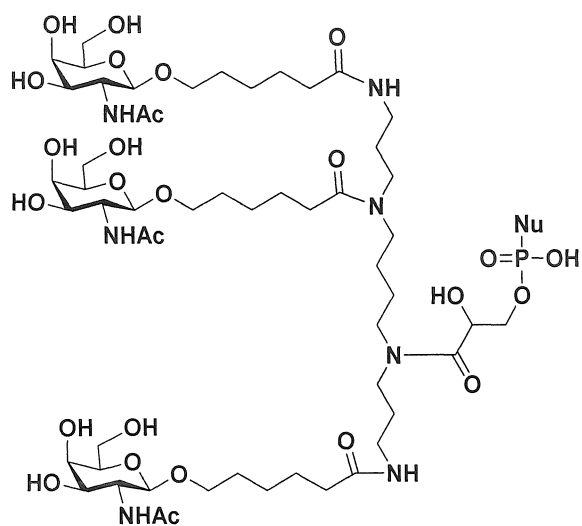
công thức (414)



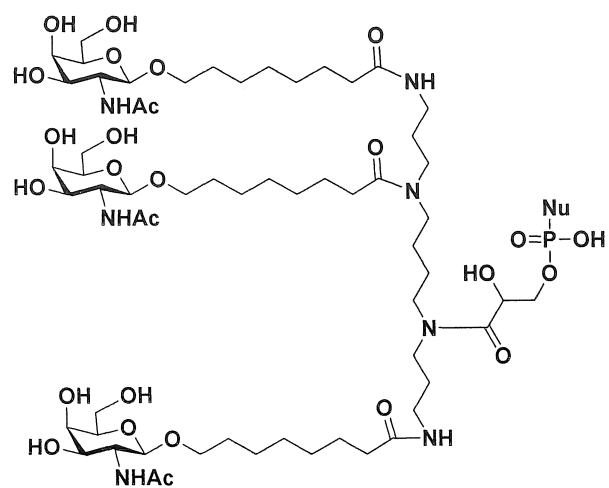
công thức (415)



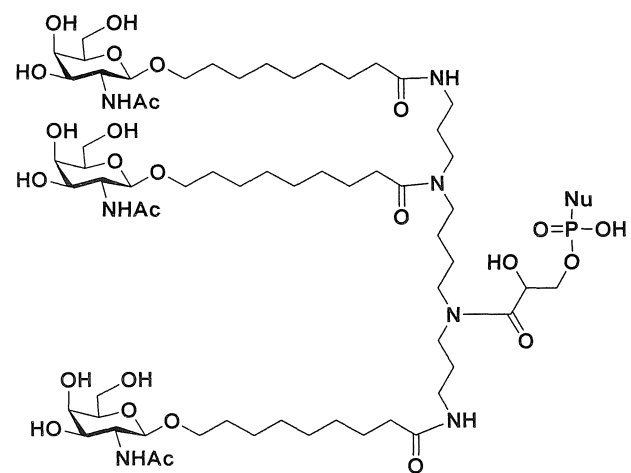
công thức (416)



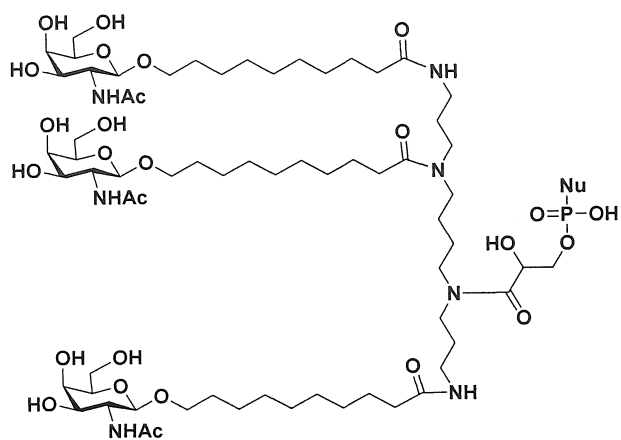
công thức (417)



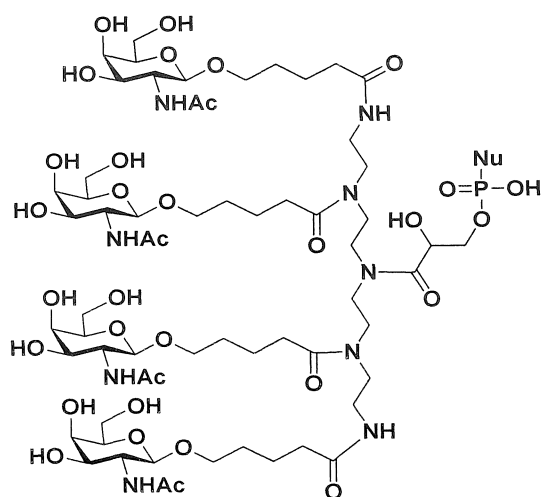
công thức (418)



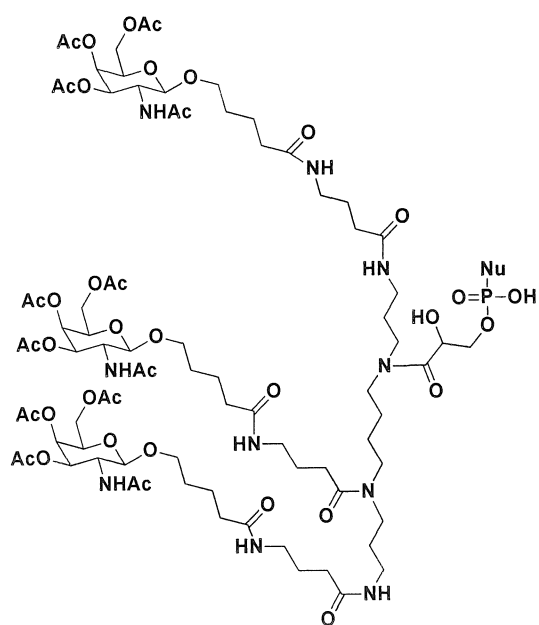
công thức (419)



công thức (420)



công thức (421)



công thức (422)

Theo một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể được liên kết với vị trí thích hợp bất kỳ trong trình tự siARN. Ví dụ, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể được liên kết với nucleotit bất kỳ trong sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN. Theo một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với nucleotit bất kỳ trong sợi có nghĩa của siARN. Theo một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể được liên kết với vùng tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN. Theo một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với vùng tận cùng của sợi có nghĩa của siARN. Vùng tận cùng này được dùng để chỉ 4 nucleotit đầu tiên được tính từ một đầu của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa. Theo một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với một trong hai đầu của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN. Trong một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN. Trong trường hợp trong đó nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với vị trí trên của sợi có nghĩa của siARN, sau khi đã xâm nhập vào trong tế bào, thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) có thể giải phóng sợi đối nghĩa tách biệt của siARN trong khi tháo xoắn, nhờ đó phong bế sự dịch mã của mARN FXI thành protein và ức chế sự biểu hiện của gen FXI.

Trong một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể được liên kết với vị trí có thể bất kỳ của nucleotit trong siARN, ví dụ, vị trí 5', vị trí 2', vị trí 3', hoặc bazơ của nucleotit. Trong một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể được liên kết với vị trí 2', 3', hoặc 5' của nucleotit trong siARN bằng cách tạo thành liên kết phosphodiester. Trong một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với nguyên tử oxy được tạo thành bằng sự khử hydro của 3'-hydroxy của nucleotit ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN (trong trường hợp này, nguyên tử P trong công thức (A59) có thể cũng được xem là nguyên tử P trong nhóm phosphat chứa trong siARN), hoặc nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với nucleotit bằng cách thay thế nguyên tử hydro trong 2'-hydroxy của nucleotit của sợi có nghĩa của siARN, hoặc nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với nucleotit bằng cách thay thế nguyên tử hydro trong 5'-hydroxy của nucleotit ở đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa của siARN.

Các tác giả sáng chế đã ngạc nhiên phát hiện ra rằng thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện độ ổn định cải thiện đáng kể trong huyết tương và hiệu quả ngoài đích thấp, và thể hiện tiếp hoạt tính cầm cao hơn kháng lại mARN FXI. Trong một số phương án, siARN theo sáng chế có thể là một trong số các siARN như được thể hiện trong Bảng 1a đến 1i. Thể tiếp hợp siARN chứa các siARN này thể hiện hoạt tính cầm cao hơn nhiều kháng lại mARN FXI.

Bảng 1a: Các trình tự của siARN thứ nhất theo sáng chế

| siARN NO.   | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                            |
|-------------|------------|-------------------------------------------------|
| siFXIa1     | 9          | GGGUAUUCUUUCAAGCAAU                             |
|             | 10         | AUUGCUUGAAAGAAUACCCAG                           |
| siFXIa2     | 11         | CUGGGUAUUCUUUCAAGCAAU                           |
|             | 12         | AUUGCUUGAAAGAAUACCCAGAA                         |
| siFXIa1-M1  | 13         | GmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm          |
|             | 14         | AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm      |
| siFXIa1-M2  | 15         | GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm          |
|             | 16         | AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmA mGm     |
| siFXIa1-M3  | 17         | GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm          |
|             | 18         | AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm      |
| siFXIa2-M1  | 19         | CmUmGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm     |
|             | 20         | AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm  |
| siFXIa2-M2  | 21         | CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm     |
|             | 22         | AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmA mGmAmAm |
| siFXIa2-M3  | 23         | CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm     |
|             | 24         | AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm  |
| siFXIa1-M1S | 25         | GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm        |
|             | 26         | AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCm          |



|              |    |                                                    |
|--------------|----|----------------------------------------------------|
|              |    | CmsAmsGm                                           |
| siFXIa1-M2S  | 27 | GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm           |
|              | 28 | AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm     |
| siFXIa1-M3S  | 29 | GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm           |
|              | 30 | AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm     |
| siFXIa2-M1S  | 31 | CmsUmsGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm       |
|              | 32 | AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |
| siFXIa2-M2S  | 33 | CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm       |
|              | 34 | AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |
| siFXIa2-M3S  | 35 | CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm       |
|              | 36 | AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |
| siFXIa1-M1P1 | 37 | GmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|              | 38 | P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm       |
| siFXIa1-M2P1 | 39 | GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|              | 40 | P1AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm       |
| siFXIa1-M3P1 | 41 | GmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|              | 42 | P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGm       |
| siFXIa2-M1P1 | 43 | CmUmGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm        |
|              | 44 | P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm   |
| siFXIa2-M2P1 | 45 | CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm        |
|              | 46 | P1AmUfUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm   |
| siFXIa2-M3P1 | 47 | CmUmGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmA mAmUm        |
|              | 48 | P1AmUfUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmAmAm   |

|               |    |                                                      |
|---------------|----|------------------------------------------------------|
| siFXIa1-M1SP1 | 49 | GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|               | 50 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm     |
| siFXIa1-M2SP1 | 51 | GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|               | 52 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm     |
| siFXIa1-M3SP1 | 53 | GmsGmsGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm             |
|               | 54 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm     |
| siFXIa2-M1SP1 | 55 | CmsUmsGmGmGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm         |
|               | 56 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |
| siFXIa2-M2SP1 | 57 | CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm         |
|               | 58 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGfAfAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |
| siFXIa2-M3SP1 | 59 | CmsUmsGmGmGmUmAfUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm         |
|               | 60 | P1AmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmAmGmsAmsAm |

Bảng 1b: Các trình tự của siARN thứ hai theo sáng chế

| siARN NO.  | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                       |
|------------|------------|--------------------------------------------|
| siFXIb1    | 69         | GGCAUAAACUAUAACAGCU                        |
|            | 70         | AGCUGUUAUAGUUUAUGCCCU                      |
| siFXIb2    | 71         | AGGGCAUAAACUAUAACAGCU                      |
|            | 72         | AGCUGUUAUAGUUUAUGCCCUUC                    |
| siFXIb1-M1 | 73         | GmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm     |
|            | 74         | AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm |
| siFXIb1-M2 | 75         | GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm     |
|            | 76         | AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm |
| siFXIb1-M3 | 77         | GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm     |
|            | 78         | AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm |

|              |     |                                                    |
|--------------|-----|----------------------------------------------------|
|              |     | mCmUm                                              |
| siFXIb2-M1   | 79  | AmGmGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|              | 80  | AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb2-M2   | 81  | AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|              | 82  | AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb2-M3   | 83  | AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|              | 84  | AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb1-M1S  | 85  | GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|              | 86  | AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb1-M2S  | 87  | GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|              | 88  | AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb1-M3S  | 89  | GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|              | 90  | AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb2-M1S  | 91  | AmsGmsGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm       |
|              | 92  | AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |
| siFXIb2-M2S  | 93  | GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|              | 94  | AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |
| siFXIb2-M3S  | 95  | AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm       |
|              | 96  | AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |
| siFXIb1-M1P1 | 97  | GmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm             |
|              | 98  | P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm       |
| siFXIb1-M2P1 | 99  | GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm             |
|              | 100 | P1AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm       |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| siFXIb1-M3P1  | 101 | GmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm               |
|               | 102 | P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUm         |
| siFXIb2-M1P1  | 103 | AmGmGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|               | 104 | P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb2-M2P1  | 105 | AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|               | 106 | P1AmGfCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb2-M3P1  | 107 | AmGmGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm           |
|               | 108 | P1AmGfCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmUmCm     |
| siFXIb1-M1SP1 | 109 | GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm             |
|               | 110 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb1-M2SP1 | 111 | GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm             |
|               | 112 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb1-M3SP1 | 113 | GmsGmsCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm             |
|               | 114 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm     |
| siFXIb2-M1SP1 | 115 | AmsGmsGmGmCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|               | 116 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |
| siFXIb2-M2SP1 | 117 | AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|               | 118 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAfUfAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |
| siFXIb2-M3SP1 | 119 | AmsGmsGmGmCmAmUfAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm         |
|               | 120 | P1AmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmCmUmsUmsCm |

Bảng 1c: Các trình tự của siARN thứ ba theo sáng chế

| siARN NO. | SEQ ID | Hướng trình tự 5'-3'' |
|-----------|--------|-----------------------|
|-----------|--------|-----------------------|

|             |     |                                                        |
|-------------|-----|--------------------------------------------------------|
|             | NO: |                                                        |
| siFXIc1     | 129 | GCUCAAGAAUGCCAAGAAA                                    |
|             | 130 | UUUCUUGGCAUUCUUGAGCAC                                  |
| siFXIc2     | 131 | GUGCUCAAGAAUGCCAAGAAA                                  |
|             | 132 | UUUCUUGGCAUUCUUGAGCACUC                                |
| siFXIc1-M1  | 133 | GmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmA<br>m             |
|             | 134 | UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmC<br>mAmCm         |
| siFXIc1-M2  | 135 | GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmA<br>m             |
|             | 136 | UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmA<br>mCm         |
| siFXIc1-M3  | 137 | GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmA<br>m             |
|             | 138 | UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmC<br>mAmCm         |
| siFXIc2-M1  | 139 | GmUmGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmA<br>mAmAm         |
|             | 140 | UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmC<br>mAmCmUmCm     |
| siFXIc2-M2  | 141 | GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmA<br>mAmAm         |
|             | 142 | UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmA<br>mCmUmCm     |
| siFXIc2-M3  | 143 | GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmA<br>mAmAm         |
|             | 144 | UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmC<br>mAmCmUmCm     |
| siFXIc1-M1S | 145 | GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAm<br>Am           |
|             | 146 | UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGm<br>CmsAmsCm     |
| siFXIc1-M2S | 147 | GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAm<br>Am           |
|             | 148 | UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCm<br>sAmsCm     |
| siFXIc1-M3S | 149 | GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAm<br>Am           |
|             | 150 | UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGm<br>CmsAmsCm     |
| siFXIc2-M1S | 151 | GmsUmsGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGm<br>AmAmAm       |
|             | 152 | UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGm<br>CmAmCmsUmsCm |

|               |     |                                                    |
|---------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXIc2-M2S   | 153 | GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm       |
|               | 154 | UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm |
| siFXIc2-M3S   | 155 | GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm       |
|               | 156 | UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm |
| siFXIc1-M1P1  | 157 | GmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm             |
|               | 158 | P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm       |
| siFXIc1-M2P1  | 159 | GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm             |
|               | 160 | P1UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm       |
| siFXIc1-M3P1  | 161 | GmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm             |
|               | 162 | P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCm       |
| siFXIc2-M1P1  | 163 | GmUmGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm         |
|               | 164 | P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm   |
| siFXIc2-M2P1  | 165 | GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm         |
|               | 166 | P1UmUfUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm   |
| siFXIc2-M3P1  | 167 | GmUmGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm         |
|               | 168 | P1UmUfUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmUmCm   |
| siFXIc1-M1SP1 | 169 | GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm           |
|               | 170 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm   |
| siFXIc1-M2SP1 | 171 | GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm           |
|               | 172 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm   |
| siFXIc1-M3SP1 | 173 | GmsCmsUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm           |
|               | 174 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm   |
| siFXIc2-      | 175 | GmsUmsGmCmUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm       |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M1SP1         |     | AmAmAm                                               |
|               | 176 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm |
| siFXIc2-M2SP1 | 177 | GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm         |
|               | 178 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGfCfAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm |
| siFXIc2-M3SP1 | 179 | GmsUmsGmCmUmCmAfAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm         |
|               | 180 | P1UmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmAmCmsUmsCm |

Bảng 1d: Các trình tự của siARN thứ tư theo sáng chế

| siARN NO.  | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                            |
|------------|------------|-------------------------------------------------|
| siFXId1    | 189        | GCAACAAAGACAUUUAUGU                             |
|            | 190        | ACAUAAAUGUCUUUGUUGCAA                           |
| siFXId2    | 191        | UUGCAACAAAGACAUUUAUGU                           |
|            | 192        | ACAUAAAUGUCUUUGUUGCAAGC                         |
| siFXId1-M1 | 193        | GmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm          |
|            | 194        | AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm      |
| siFXId1-M2 | 195        | GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm          |
|            | 196        | AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmmAm     |
| siFXId1-M3 | 197        | GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm          |
|            | 198        | AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm      |
| siFXId2-M1 | 199        | UmUmGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm      |
|            | 200        | AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm  |
| siFXId2-M2 | 201        | UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm      |
|            | 202        | AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmmAmGmCm |
| siFXId2-M3 | 203        | UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm      |
|            | 204        | AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm  |

|              |     |                                                    |
|--------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXId1-M1S  | 205 | GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm           |
|              | 206 | AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId1-M2S  | 207 | GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm           |
|              | 208 | AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId1-M3S  | 209 | GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm           |
|              | 210 | AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId2-M1S  | 211 | UmsUmsGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm       |
|              | 212 | AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |
| siFXId2-M2S  | 213 | UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm       |
|              | 214 | AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |
| siFXId2-M3S  | 215 | UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm       |
|              | 216 | AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |
| siFXId1-M1P1 | 217 | GmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|              | 218 | P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm       |
| siFXId1-M2P1 | 219 | GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|              | 220 | P1AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm       |
| siFXId1-M3P1 | 221 | GmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|              | 222 | P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAm       |
| siFXId2-M1P1 | 223 | UmUmGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |
|              | 224 | P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm   |
| siFXId2-M2P1 | 225 | UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |
|              | 226 | P1AmCfAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm   |
| siFXId2-     | 227 | UmUmGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |



|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M3P1          |     | mGmUm                                                |
|               | 228 | P1AmCfAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmGmCm     |
| siFXId1-M1SP1 | 229 | GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|               | 230 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId1-M2SP1 | 231 | GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|               | 232 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId1-M3SP1 | 233 | GmsCmsAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm             |
|               | 234 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm     |
| siFXId2-M1SP1 | 235 | UmsUmsGmCmAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |
|               | 236 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |
| siFXId2-M2SP1 | 237 | UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |
|               | 238 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUfGfUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |
| siFXId2-M3SP1 | 239 | UmsUmsGmCmAmAmCfAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm         |
|               | 240 | P1AmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmAmAmsGmsCm |

Bảng 1e: Các trình tự của siARN thứ năm theo sáng chế

| siARN NO.  | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                       |
|------------|------------|--------------------------------------------|
| siFXIe1    | 249        | GAAUCUCAAAAGAAAUCUUU                       |
|            | 250        | AAAGAUUUCUUUGAGAUUCUU                      |
| siFXIe2    | 251        | AAGAAUCUCAAAAGAAAUCUUU                     |
|            | 252        | AAAGAUUUCUUUGAGAUUCUUUG                    |
| siFXIe1-M1 | 253        | GmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm     |
|            | 254        | AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm |
| siFXIe1-M2 | 255        | GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm     |
|            | 256        | AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm |

|              |     |                                                    |
|--------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXIe1-M3   | 257 | GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |
|              | 258 | AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm         |
| siFXIe2-M1   | 259 | AmAmGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|              | 260 | AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe2-M2   | 261 | AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|              | 262 | AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe2-M3   | 263 | AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|              | 264 | AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe1-M1S  | 265 | GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|              | 266 | AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe1-M2S  | 267 | GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|              | 268 | AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe1-M3S  | 269 | GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|              | 270 | AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe2-M1S  | 271 | AmsAmsGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm       |
|              | 272 | AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |
| siFXIe2-M2S  | 273 | AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm       |
|              | 274 | AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |
| siFXIe2-M3S  | 275 | AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm       |
|              | 276 | AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |
| siFXIe1-M1P1 | 277 | GmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |
|              | 278 | P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm       |
| siFXIe1-     | 279 | GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M2P1          |     | m                                                    |
|               | 280 | P1AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm         |
| siFXIe1-M3P1  | 281 | GmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm               |
|               | 282 | P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUm         |
| siFXIe2-M1P1  | 283 | AmAmGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|               | 284 | P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe2-M2P1  | 285 | AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|               | 286 | P1AmAfAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe2-M3P1  | 287 | AmAmGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm           |
|               | 288 | P1AmAfAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmUmGm     |
| siFXIe1-M1SP1 | 289 | GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |
|               | 290 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe1-M2SP1 | 291 | GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |
|               | 292 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe1-M3SP1 | 293 | GmsAmsAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm             |
|               | 294 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm     |
| siFXIe2-M1SP1 | 295 | AmsAmsGmAmAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|               | 296 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |
| siFXIe2-M2SP1 | 297 | AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|               | 298 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUfCfUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |
| siFXIe2-M3SP1 | 299 | AmsAmsGmAmAmUmCfUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm         |
|               | 300 | P1AmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmUmUmsUmsGm |

Bảng 1f: Các trình tự của siARN thứ sáu theo sáng chế

| siARN NO.   | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                           |
|-------------|------------|------------------------------------------------|
| siFXIf1     | 309        | GUACGUGGACUGGAUUCUG                            |
|             | 310        | CAGAAUCCAGUCCACGUACUC                          |
| siFXIf2     | 311        | GAGUACGUGGACUGGAUUCUG                          |
|             | 312        | CAGAAUCCAGUCCACGUACUCGA                        |
| siFXIf1-M1  | 313        | GmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|             | 314        | CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm     |
| siFXIf1-M2  | 315        | GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|             | 316        | CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm     |
| siFXIf1-M3  | 317        | GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|             | 318        | CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm     |
| siFXIf2-M1  | 319        | GmAmGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm     |
|             | 320        | CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm |
| siFXIf2-M2  | 321        | GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm     |
|             | 322        | CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm |
| siFXIf2-M3  | 323        | GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm     |
|             | 324        | CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm |
| siFXIf1-M1S | 325        | GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|             | 326        | CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm |
| siFXIf1-M2S | 327        | GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|             | 328        | CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm |
| siFXIf1-M3S | 329        | GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|             | 330        | CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm |

|               |     |                                                    |
|---------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXIf2-M1S   | 331 | GmsAmsGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|               | 332 | CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |
| siFXIf2-M2S   | 333 | GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|               | 334 | CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |
| siFXIf2-M3S   | 335 | GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm       |
|               | 336 | CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |
| siFXIf1-M1P1  | 337 | GmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm             |
|               | 338 | P1CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm       |
| siFXIf1-M2P1  | 339 | GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm             |
|               | 340 | P1CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm       |
| siFXIf1-M3P1  | 341 | GmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm             |
|               | 342 | P1CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCm       |
| siFXIf2-M1P1  | 343 | GmAmGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 344 | P1CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm   |
| siFXIf2-M2P1  | 345 | GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 346 | P1CmAfGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm   |
| siFXIf2-M3P1  | 347 | GmAmGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 348 | P1CmAfGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmGmAm   |
| siFXIf1-M1SP1 | 349 | GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm           |
|               | 350 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm   |
| siFXIf1-M2SP1 | 351 | GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm           |
|               | 352 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm   |
| siFXIf1-      | 353 | GmsUmsAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUm             |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M3SP1         |     | Gm                                                   |
|               | 354 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsCm     |
| siFXIf2-M1SP1 | 355 | GmsAmsGmUmAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 356 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |
| siFXIf2-M2SP1 | 357 | GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 358 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCfAfGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |
| siFXIf2-M3SP1 | 359 | GmsAmsGmUmAmCmGfUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm         |
|               | 360 | P1CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmUmCmsGmsAm |

Bảng 1g: Các trình tự của siARN thứ bảy theo sáng chế

| siARN NO.  | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                               |
|------------|------------|----------------------------------------------------|
| siFXIg1    | 369        | AUUUCUGGGUAUUCUUUCA                                |
|            | 370        | UGAAAGAAUACCCAGAAAUCG                              |
| siFXIg2    | 371        | CGAUUUCUGGGUAUUCUUUCA                              |
|            | 372        | UGAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU                            |
| siFXIg1-M1 | 373        | AmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|            | 374        | UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmU<br>mCmGm     |
| siFXIg1-M2 | 375        | AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|            | 376        | UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmC<br>mGm     |
| siFXIg1-M3 | 377        | AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|            | 378        | UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmU<br>mCmGm     |
| siFXIg2-M1 | 379        | CmGmAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmU<br>mCmAm     |
|            | 380        | UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmU<br>mCmGmCmUm |
| siFXIg2-M2 | 381        | CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmU<br>mCmAm     |
|            | 382        | UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmC<br>mGmCmUm |

|              |     |                                                    |
|--------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXIg2-M3   | 383 | CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmUmCmAm       |
|              | 384 | UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm     |
| siFXIg1-M1S  | 385 | AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm           |
|              | 386 | UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg1-M2S  | 387 | AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm           |
|              | 388 | UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg1-M3S  | 389 | AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm           |
|              | 390 | UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg2-M1S  | 391 | CmsGmsAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm       |
|              | 392 | UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |
| siFXIg2-M2S  | 393 | CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm       |
|              | 394 | UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |
| siFXIg2-M3S  | 395 | CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm       |
|              | 396 | UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |
| siFXIg1-M1P1 | 397 | AmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|              | 398 | P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm       |
| siFXIg1-M2P1 | 399 | AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|              | 400 | P1UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm       |
| siFXIg1-M3P1 | 401 | AmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmA<br>m         |
|              | 402 | P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGm       |
| siFXIg2-M1P1 | 403 | CmGmAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm         |
|              | 404 | P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm   |
| siFXIg2-     | 405 | CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm         |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M2P1          |     | mCmAm                                                |
|               | 406 | P1UmGfAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm     |
| siFXIg2-M3P1  | 407 | CmGmAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm           |
|               | 408 | P1UmGfAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmCmUm     |
| siFXIg1-M1SP1 | 409 | AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm             |
|               | 410 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg1-M2SP1 | 411 | AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm             |
|               | 412 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg1-M3SP1 | 413 | AmsUmsUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm             |
|               | 414 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm     |
| siFXIg2-M1SP1 | 415 | CmsGmsAmUmUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm         |
|               | 416 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |
| siFXIg2-M2SP1 | 417 | CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm         |
|               | 418 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAfUfAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |
| siFXIg2-M3SP1 | 419 | CmsGmsAmUmUmUmCfUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm         |
|               | 420 | P1UmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmCmGmsCmsUm |

Bảng 1h: Các trình tự của siARN thứ tám theo sáng chế

| siARN NO.  | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                       |
|------------|------------|--------------------------------------------|
| siFXIh1    | 429        | CAUGAAGGGCAUAAACUAU                        |
|            | 430        | AUAGUUUAUGCCCUUCAUGUC                      |
| siFXIh2    | 431        | GACAUGAAGGGCAUAAACUAU                      |
|            | 432        | AUAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA                    |
| siFXIh1-M1 | 433        | CmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm     |
|            | 434        | AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm |



|             |     |                                                    |
|-------------|-----|----------------------------------------------------|
| siFXIh1-M2  | 435 | CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |
|             | 436 | AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm         |
| siFXIh1-M3  | 437 | CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |
|             | 438 | AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm         |
| siFXIh2-M1  | 439 | GmAmCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |
|             | 440 | AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh2-M2  | 441 | GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |
|             | 442 | AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh2-M3  | 443 | GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |
|             | 444 | AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh1-M1S | 445 | CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|             | 446 | AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh1-M2S | 447 | CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|             | 448 | AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh1-M3S | 449 | CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|             | 450 | AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh2-M1S | 451 | GmsAmsCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm       |
|             | 452 | AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
| siFXIh2-M2S | 453 | GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm       |
|             | 454 | AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
| siFXIh2-M3S | 455 | GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm       |
|             | 456 | AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
| siFXIh1-    | 457 | CmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| M1P1          |     | m                                                    |
|               | 458 | P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm         |
| siFXIh1-M2P1  | 459 | CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm               |
|               | 460 | P1AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm         |
| siFXIh1-M3P1  | 461 | CmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm               |
|               | 462 | P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCm         |
| siFXIh2-M1P1  | 463 | GmAmCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|               | 464 | P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh2-M2P1  | 465 | GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|               | 466 | P1AmUfAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh2-M3P1  | 467 | GmAmCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm           |
|               | 468 | P1AmUfAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmUmAm     |
| siFXIh1-M1SP1 | 469 | CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |
|               | 470 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh1-M2SP1 | 471 | CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |
|               | 472 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh1-M3SP1 | 473 | CmsAmsUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm             |
|               | 474 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm     |
| siFXIh2-M1SP1 | 475 | GmsAmsCmAmUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |
|               | 476 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
| siFXIh2-M2SP1 | 477 | GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |
|               | 478 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAfUfGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
| siFXIh2-M3SP1 | 479 | GmsAmsCmAmUmGmAfAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm         |

|  |     |                                                      |
|--|-----|------------------------------------------------------|
|  | 480 | P1AmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmUmCmsUmsAm |
|--|-----|------------------------------------------------------|

Bảng 1i: Các trình tự của siARN thứ chín theo sáng chế

| siARN NO.   | SEQ ID NO: | Hướng trình tự 5'-3'                               |
|-------------|------------|----------------------------------------------------|
| siFXIi1     | 489        | GGAUUCUGGAGAAAACUCA                                |
|             | 490        | UGAGUUUUCUCCAGAAUCCAG                              |
| siFXIi2     | 491        | CUGGAUUCUGGAGAAAACUCA                              |
|             | 492        | UGAGUUUUCUCCAGAAUCCAGUC                            |
| siFXIi1-M1  | 493        | GmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA<br>m         |
|             | 494        | UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCm<br>AmGm     |
| siFXIi1-M2  | 495        | GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA<br>m         |
|             | 496        | UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmA<br>mGm     |
| siFXIi1-M3  | 497        | GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA<br>m         |
|             | 498        | UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCm<br>AmGm     |
| siFXIi2-M1  | 499        | CmUmGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmU<br>mCmAm     |
|             | 500        | UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCm<br>AmGmUmCm |
| siFXIi2-M2  | 501        | CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmU<br>mCmAm     |
|             | 502        | UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmA<br>mGmUmCm |
| siFXIi2-M3  | 503        | CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmU<br>mCmAm     |
|             | 504        | UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCm<br>AmGmUmCm |
| siFXIi1-M1S | 505        | GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCm<br>Am       |
|             | 506        | UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmC<br>msAmsGm |
| siFXIi1-M2S | 507        | GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCm<br>Am       |
|             | 508        | UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCm           |

|               |     |                                                    |
|---------------|-----|----------------------------------------------------|
|               |     | sAmsGm                                             |
| siFXIi1-M3S   | 509 | GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm           |
|               | 510 | UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm     |
| siFXIi2-M1S   | 511 | CmsUmsGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm       |
|               | 512 | UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |
| siFXIi2-M2S   | 513 | CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm       |
|               | 514 | UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |
| siFXIi2-M3S   | 515 | CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm       |
|               | 516 | UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |
| siFXIi1-M1P1  | 517 | GmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA m            |
|               | 518 | P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm       |
| siFXIi1-M2P1  | 519 | GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA m            |
|               | 520 | P1UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm       |
| siFXIi1-M3P1  | 521 | GmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmA m            |
|               | 522 | P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGm       |
| siFXIi2-M1P1  | 523 | CmUmGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 524 | P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm   |
| siFXIi2-M2P1  | 525 | CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 526 | P1UmGfAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm   |
| siFXIi2-M3P1  | 527 | CmUmGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 528 | P1UmGfAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmUmCm   |
| siFXIi1-M1SP1 | 529 | GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm           |
|               | 530 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm   |

|               |     |                                                      |
|---------------|-----|------------------------------------------------------|
| siFXIi1-M2SP1 | 531 | GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm             |
|               | 532 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm     |
| siFXIi1-M3SP1 | 533 | GmsGmsAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm             |
|               | 534 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm     |
| siFXIi2-M1SP1 | 535 | CmsUmsGmGmAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 536 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |
| siFXIi2-M2SP1 | 537 | CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 538 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUfCfUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |
| siFXIi2-M3SP1 | 539 | CmsUmsGmGmAmUmUfCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm         |
|               | 540 | P1UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAmGfAmAfUmCmCmAmGmsUmsCm |

trong đó, C, G, U, và A là thành phần bazơ của nucleotit; m thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái m là nucleotit cải biến metoxy; f thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái f là nucleotit cải biến flo; s thể hiện hai nucleotit liền kề với cả hai phía của chữ cái s được liên kết bằng liên kết thiophosphat; P1 thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của P1 là 5'-phosphat nucleotit hoặc nucleotit cải biến chất tương tự 5'-phosphat; trong một số phương án, P1 là nucleotit cải biến cụ thể VP, Ps hoặc P, trong đó VP thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của VP là nucleotit cải biến vinyl phosphat; Ps thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của Ps là nucleotit cải biến thiophosphat; và P thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của chữ cái P là 5'-phosphat nucleotit.

Trong siARN hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế, mỗi cặp nucleotit liền kề được liên kết thông qua liên kết phosphodiester liên kết phosphorothioate diester. Nguyên tử oxy hoặc lưu huỳnh không làm cầu nối trong liên kết phosphodiester hoặc liên kết phosphorothioate diester có điện tích âm, và có thể có mặt ở dạng hydroxy hoặc sulfhydryl. Hơn nữa, nguyên tử hydro trong hydroxy hoặc sulfhydryl có thể được thế một phần hoặc hoàn toàn bằng cation. Cation có thể là cation bất kỳ, như một trong số cation kim loại, cation amoni  $\text{NH}_4^+$  hoặc cation amoni hữu cơ. Để gia tăng khả năng hòa tan,

theo một phương án, cation được chọn từ một hoặc nhiều cation kim loại kiềm, cation amoni được tạo thành bởi amin bậc ba và cation amoni bậc bốn. Ion kim loại kiềm có thể là  $K^+$  và/hoặc  $Na^+$ , và cation được tạo thành bởi amin bậc ba có thể là cation amoni được tạo thành bởi trietylamin và/hoặc cation amoni được tạo thành bởi N,N-diisopropyletylamin. Do đó, siARN và thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể ít nhất có mặt một phần ở dạng muối. Theo một phương án, nguyên tử lưu huỳnh hoặc oxy không làm cầu nối trong liên kết phosphodiester hoặc liên kết phosphorothioate diester ít nhất một phần liên kết với ion natri, và do đó siARN và thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có mặt hoặc có mặt một phần ở dạng muối natri.

Chuyên gia trong ngành hiểu rõ rằng nhóm nucleotit cải biến có thể được đưa vào trong siARN theo sáng chế bởi monome nucleosit với sự cải biến tương ứng. Phương pháp điều chế monome nucleosit có sự cải biến tương ứng và phương pháp đưa vào nhóm nucleotit cải biến vào trong siARN cũng được biết nhiều với chuyên gia trong ngành. Toàn bộ các monome nucleosit đã cải biến có thể sẵn có trên thị trường hoặc được sản xuất bằng các phương pháp đã biết.

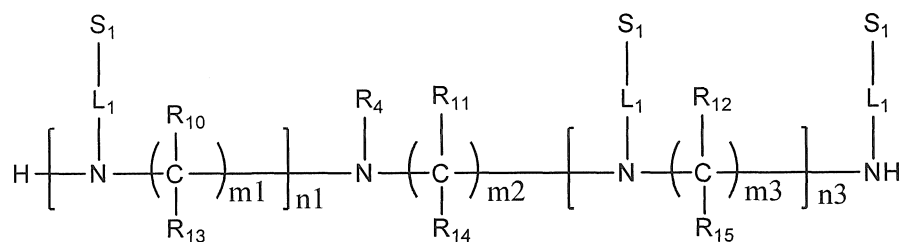
#### **Sản xuất thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308)**

Thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308) có thể được sản xuất bằng các con đường tổng hợp thích hợp bất kỳ.

Trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) có thể được điều chế bằng phương pháp sau, bao gồm: liên kết lần lượt monome nucleosit theo hướng từ 3' đến 5' theo loại và trình tự của các nucleotit trong sợi có nghĩa và các sợi đối nghĩa của siARN tương ứng, dưới điều kiện cho sự tổng hợp pha rắn phosphoramidit, trong đó bước nối mỗi monome nucleosit bao gồm phản ứng bốn bước là loại bỏ bảo vệ, nối, tạo mũ, và oxi hóa hoặc lưu huỳnh hóa; phân tách sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN; và gắn; trong đó siARN là siRNA theo sáng chế trên đây.

Hơn nữa, phương pháp này còn bao gồm: cho hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) tiếp xúc với monome nucleosit hoặc trình tự nucleotit gắn kết với giá thể pha rắn trong điều kiện phản ứng liên kết và khi có mặt chất liên kết, nhờ đó liên kết hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) với trình tự nucleotit thông qua phản ứng liên kết. Sau đây, hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) cũng được dùng để chỉ là phân

tử tiếp hợp.



công thức (321)

trong đó,

$R_4$  là nhóm có khả năng liên kết với siARN được ký hiệu là Nu trong hợp chất như được thể hiện bởi công thức (308). Theo một số phương án,  $R_4$  là nhóm có khả năng liên kết với siARN được ký hiệu là Nu thông qua liên kết cộng hóa trị. Trong một số phương án,  $R_4$  là nhóm có khả năng được tiếp hợp với nhóm chức bất kỳ của siARN được thể hiện là Nu thông qua liên kết phosphodiester bằng phản ứng;

Mỗi  $S_1$  độc lập là nhóm được tạo thành bằng cách thay thế tất cả các hydroxyl hoạt tính trong  $M_1$  bằng nhóm  $YCOO^-$ , trong đó mỗi Y độc lập là một được chọn từ nhóm bao gồm methyl, triflometyl, diflometyl, monoflometyl, triclometyl, diclometyl, monoclometyl, etyl, n-propyl, isopropyl, phenyl, halophenyl, và alkylphenyl; trong một số phương án, Y là methyl.

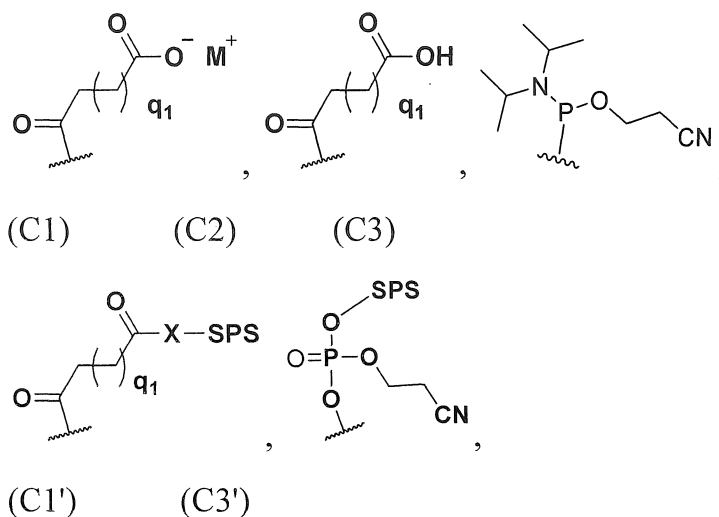
Các định nghĩa và lựa chọn  $n_1$ ,  $n_3$ ,  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$ ,  $L_1$ , và  $M_1$  lần lượt được mô tả trên đây.

$R_4$  được chọn để đạt được sự liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ và tạo ra vị trí phản ứng thích hợp để tổng hợp thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308). Theo một số phương án,  $R_4$  bao gồm nhóm liên kết  $R_2$  hoặc nhóm liên kết  $R_2$  được bảo vệ, và nhóm chức mà có thể phản ứng với siARN để tạo thành cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (A59).

Trong một số phương án,  $R_4$  chứa nhóm chức thứ nhất mà có thể phản ứng với nhóm trên siARN được thể hiện bằng Nu hoặc monome nucleosit để tạo thành phosphit este, và nhóm chức thứ hai mà có thể phản ứng với nhóm hydroxy hoặc nhóm amino để tạo thành liên kết đồng hóa trị, hoặc chứa giá đỡ pha rắn được liên kết bằng liên kết đồng hóa trị. Theo một số phương án, nhóm chức thứ nhất là phosphoramidit, hydroxy hoặc

hydroxy được bảo vệ. Theo một số phương án, nhóm chức thứ hai là phosphoramidit, carboxyl hoặc muối carboxylat. Trong một số phương án, nhóm chức thứ hai là giá đỡ pha rắn được liên kết với phần còn lại của phân tử này thông qua liên kết đồng hóa trị được tạo thành bởi nhóm hydroxy hoặc nhóm amino. Trong một số phương án, giá đỡ pha rắn được liên kết thông qua liên kết phosphoeste, liên kết carboxylat este hoặc liên kết amit. Theo một số phương án, giá thể pha rắn là nhựa.

Trong một số phương án, nhóm chức thứ nhất chứa hydroxy,  $-OR_k$  hoặc nhóm như được thể hiện bằng công thức (C3); nhóm chức thứ hai có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C1), (C2), (C3), (C1'), hoặc (C3'):



trong đó  $q_1$  là số nguyên từ 1-4,  $X$  là O hoặc NH,  $M^+$  là cation,  $R_k$  là nhóm bảo vệ hydroxy, SPS là giá đỡ pha rắn, và  $\sim$  thể hiện vị trí trong đó nhóm được liên kết đồng hóa trị.

Trong một số phương án, nhóm chức thứ nhất chứa nhóm phosphoramidit, như nhóm như được thể hiện bằng công thức (C3). Nhóm phosphoramidit có thể tạo thành phosphit este với hydroxy ở vị trí bất kỳ (như 2'-hydroxy hoặc 3'-hydroxy) trên nucleotit bằng phản ứng nổi, và phosphit este có thể tạo thành liên kết phosphodiester hoặc liên kết phosphorothioate este như được thể hiện bằng công thức (A59) thông qua sự oxi hóa hoặc lưu huỳnh hóa, để tiếp hợp phân tử tiếp hợp này với siARN. Ở đây, ngay cả khi nhóm chức thứ hai không tồn tại, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể vẫn được tiếp hợp với nucleotit, trong khi không ảnh hưởng đến việc thu thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308). Trong các trường hợp này, sau khi tạo ra sợi có



nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN bằng phương pháp như tổng hợp ở pha rắn sử dụng phosphoramidit, hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) được phản ứng với hydroxy trên nucleotit ở đầu tận cùng của trình tự nucleotit, và liên kết phosphodiester hoặc liên kết phosphorothioat được tạo thành trong quá trình oxy hóa hoặc lưu huỳnh hóa sau đó, nhờ đó tiếp hợp hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) với siARN.

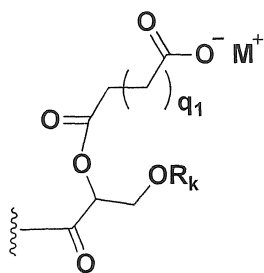
Trong một số phương án, nhóm chức thứ nhất chứa nhóm hydroxy được bảo vệ. Trong một số phương án, nhóm chức thứ hai chứa nhóm mà có thể phản ứng với giá đỡ pha rắn để tạo ra phân tử tiếp hợp chứa giá đỡ pha rắn. Trong một số phương án, nhóm chức thứ hai chứa carboxyl, muối carboxylat hoặc phosphoramidit, như nhóm chức như được thể hiện bằng công thức (C1), (C2) hoặc (C3). Khi nhóm chức thứ hai chứa carboxyl hoặc muối carboxylat, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể phản ứng với hydroxy hoặc nhóm amino trên giá đỡ pha rắn (như nhựa) thông qua este hóa hoặc phản ứng amit hóa, để tạo thành phân tử tiếp hợp chứa giá đỡ pha rắn được liên kết thông qua liên kết carboxylat este. Khi nhóm chức thứ hai chứa nhóm chức phosphoramidit, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể nối với nhóm hydroxy trên giá đỡ pha rắn phổ biến (như nhựa), và tạo thành phân tử tiếp hợp chứa giá đỡ pha rắn được liên qua thông qua liên kết phosphodiester bởi oxy hóa. Tiếp theo, bắt đầu từ sản phẩm trên được liên kết với giá đỡ pha rắn, monome nucleosit được liên kết tuần tự thông qua phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, để thu được sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN được liên kết với nhóm tiếp hợp. Trong quy trình tổng hợp pha rắn phosphoramidit, nhóm chức thứ nhất được loại bỏ bảo vệ, và sau đó được nối với nhóm phosphoramidit trên monome nucleosit dưới điều kiện phản ứng nối.

Trong một số phương án, nhóm chức thứ nhất chứa hydroxy hoặc nhóm hydroxy được bảo vệ; nhóm chức thứ hai chứa giá đỡ pha rắn được liên kết thông qua liên kết carboxylat este, liên kết amit, hoặc liên kết phosphoeste, như được thể hiện bằng công thức (C1') hoặc (C3'). Trong trường hợp này, bắt đầu từ hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) đặt trong giá đỡ pha rắn, monome nucleosit được liên kết tuần tự thông qua phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, để thu được sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN được liên kết với nhóm tiếp hợp.

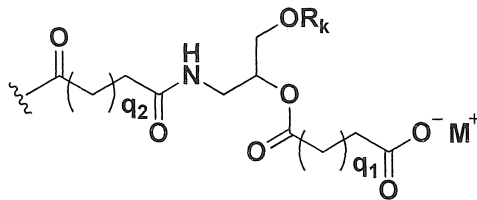
Theo một số phương án, carboxylat có thể được thể hiện dưới dạng  $\text{COO}^-\text{M}^+$ ,

trong đó  $M^+$  là cation như cation được chọn từ cation kim loại, cation amoni  $NH_4^+$  và cation amoni hữu cơ. Theo một phương án, cation kim loại có thể là cation kim loại kiềm, như  $K^+$  hoặc  $Na^+$ . Để làm tăng độ hòa tan và tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng, theo một số phương án, cation amoni hữu cơ là cation amoni được tạo thành bởi amin bậc ba hoặc cation amoni bậc bốn, như cation amoni được tạo thành bởi trietylamin hoặc cation amoni được tạo thành bởi N,N-diisopropyletylamin. Theo một số phương án, carboxylat là trietylamin carboxylat hoặc N,N-diisopropyletylamin carboxylat.

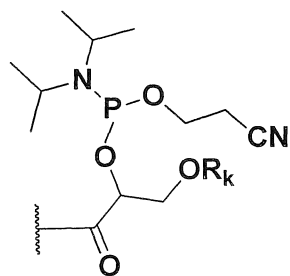
Trong một số phương án,  $R_4$  bao gồm cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (B9), (B10), (B9'), (B10'), (B11), (B12), (B11'), hoặc B(12'):



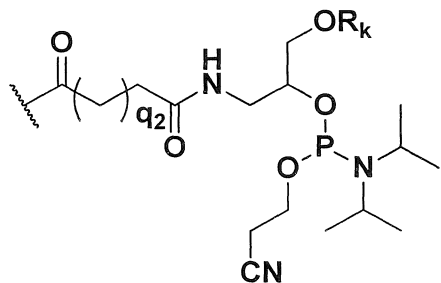
(B9)



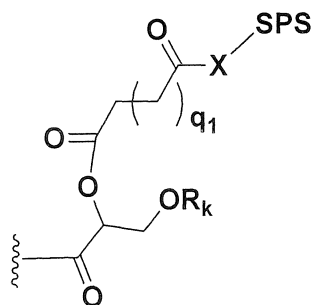
(B10)



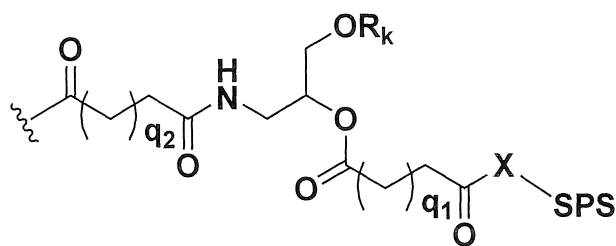
(B9')



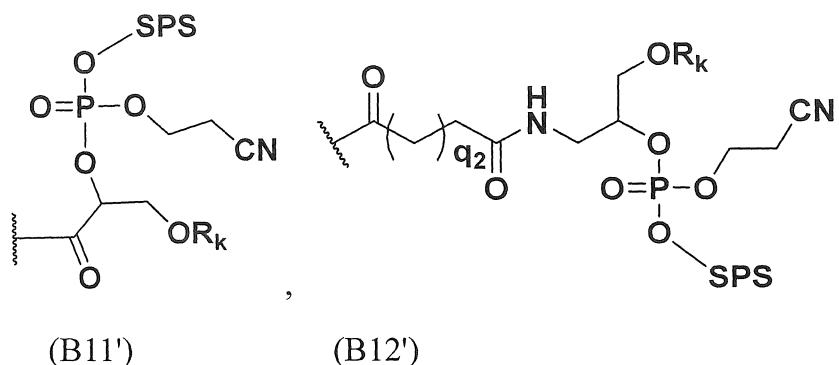
(B10')



(B11)



(B12)



trong đó  $q_1$  là số nguyên từ 1-4,  $q_2$  là số nguyên từ 1-10, X là O hoặc NH,  $M^+$  là cation,  $R_k$  là nhóm bảo vệ hydroxy, SPS là giá đỡ pha rắn, và  $\sim$  thể hiện vị trí trong đó nhóm này được liên kết đồng hóa trị. Theo một số phương án,  $q_1$  là 1 hoặc 2. Theo một số phương án,  $q_2$  là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 5. Theo một số phương án,  $R_k$  bao gồm cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (B9) hoặc (B10). Theo một số phương án,  $R_k$  bao gồm cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (B11) hoặc (B12).

Trong một số phương án,  $R_k$  là một hoặc nhiều trong số Tr (trityl), MMTr (4-metoxyltrityl), DMTr (4,4'-dimetoxyltrityl), và TMTr (4,4',4'-trimetoxyltrityl). Theo một số phương án,  $R_k$  có thể là DMTr, tức là, 4,4'-dimetoxyltrityl.

Định nghĩa  $L_1$  là như được mô tả trên đây.

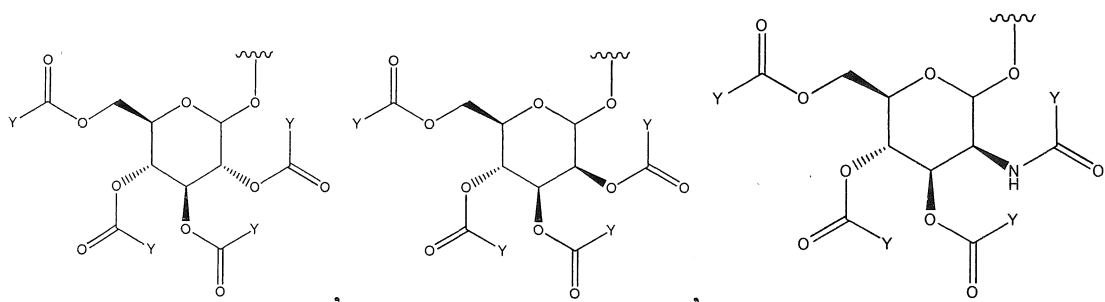
Theo một số phương án,  $L_1$  được sử dụng để liên kết nhóm hướng đích  $M_1$  với nguyên tử N trên khung có nitơ, nhờ đó đem lại chức năng hướng vào gan cho thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308). Trong một số phương án,  $L_1$  chứa một bất kỳ trong số các công thức (A1)-(A26), hoặc sự kết hợp của nó.

Theo mô tả trên đây, chuyên gia trong ngành sẽ dễ dàng hiểu rằng khi so sánh với phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit được biết nhiều trong ngành, thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) trong đó phân tử tiếp hợp này được liên kết với vị trí có thể bất kỳ của trình tự nucleotit có thể thu được bằng cách sử dụng nhóm chức thứ nhất nêu trên và nhóm chức thứ hai tùy ý. Ví dụ, phân tử tiếp hợp được liên kết với vùng tận cùng của trình tự nucleotit, hoặc với đầu tận cùng của trình tự nucleotit. Tương ứng là, trừ khi được chỉ định khác, trong mô tả sau đây về điều chế thể tiếp hợp và/hoặc phân tử tiếp hợp này, khi đề cập đến các phản ứng như “loại bỏ bảo vệ”, “nối”, “tạo mũ”, “oxi hóa”, “lưu huỳnh hóa”, nên được hiểu rằng các điều kiện và tác nhân phản

ứng bao gồm trong phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit đã biết trong ngành sẽ cũng áp dụng cho các phản ứng này. Các điều kiện và các chất phản ứng được lấy làm ví dụ sẽ được mô tả chi tiết dưới đây.

Theo một số phương án, mỗi  $S_1$  độc lập là  $M_1$ . Trong một số phương án, mỗi  $S_1$  độc lập là nhóm được tạo thành bởi sự bảo vệ ít nhất một nhóm hydroxyl hoạt tính trong  $M_1$  bằng nhóm bảo vệ hydroxyl. Trong một số phương án, mỗi  $S_1$  độc lập là nhóm được tạo thành bởi sự bảo vệ tất cả các nhóm hydroxyl hoạt tính hiện có trong  $M_1$  bằng các nhóm bảo vệ hydroxyl. Trong một số phương án, nhóm bảo vệ hydroxyl bất kỳ được biết nhiều đối với chuyên gia trong ngành có thể được sử dụng để bảo vệ nhóm hydroxyl hoạt tính trong  $M_1$ . Trong một số phương án, hydroxy được bảo vệ có thể được thể hiện là công thức  $YCOO-$ , trong đó mỗi  $Y$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm  $C_1$ - $C_{10}$  alkyl và  $C_6$ - $C_{10}$  aryl, mà tùy ý được thể bằng một hoặc nhiều phần tử thể được chọn từ nhóm bao gồm halo và  $C_1$ - $C_6$  alkyl. Theo một số phương án, mỗi  $Y$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm methyl, triflometyl, diflometyl, monoflometyl, triclometyl, diclometyl, monoclometyl, etyl, n-propyl, isopropyl, phenyl, halophenyl, và  $C_1$ - $C_6$  alkylphenyl.

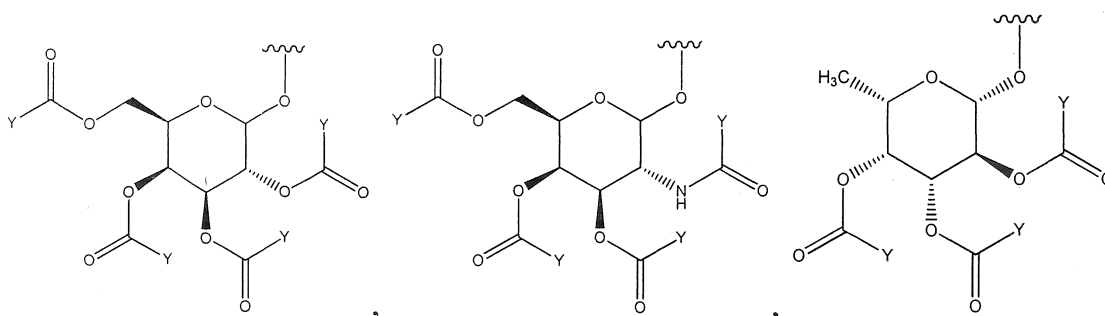
Trong một số phương án, mỗi  $S_1$  độc lập được chọn từ nhóm bao gồm công thức (A46)-(A54):



(A46)

(A47)

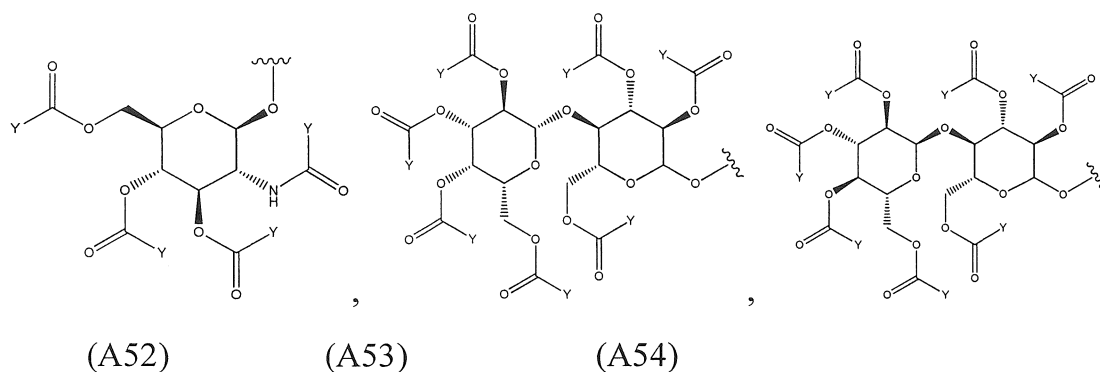
(A48)



(A49)

(A50)

(A51)



Theo một số phương án,  $S_1$  là A49 hoặc A50.

Trong một số phương án, mỗi Y độc lập được chọn từ một trong số methyl, triflometyl, diflometyl, monoflometyl, triclometyl, diclometyl, monoclometyl, etyl, n-propyl, isopropyl, phenyl, halophenyl, và alkylphenyl. Theo một số phương án, Y là methyl.

Như được đề cập ở trên, phương pháp điều chế thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) bao gồm thêm các bước sau: tổng hợp sợi khác của siARN (ví dụ, khi sợi có nghĩa của siARN được liên kết với phân tử tiếp hợp được tổng hợp trong bước trên, phương pháp này còn bao gồm thêm bước tổng hợp sợi đối nghĩa của siARN theo phương pháp tổng hợp pha rắn, *vice versa*), phân tách sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, và gắn. Cụ thể là, trong bước phân tách, giá đỡ pha rắn được liên kết với trình tự nucleotit và/hoặc phân tử tiếp hợp được tách ra, và nhóm bảo vệ cần thiết được loại bỏ (trong trường hợp này, mỗi nhóm  $S_1$  trong hợp chất có công thức (321) được chuyển hóa thành nhóm hướng đích  $M_1$  tương ứng), để thu được sợi có nghĩa (hoặc sợi đối nghĩa) của siARN được liên kết với phân tử tiếp hợp và sợi đối nghĩa tương ứng (hoặc sợi có nghĩa). Sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa được gắn để tạo thành cấu trúc ARN mạch kép, nhờ đó tạo ra thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308).

Trong một số phương án, phương pháp điều chế thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) bao gồm các bước sau: cho tiếp xúc hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với monome nucleosit thứ nhất ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa dưới điều kiện phản ứng nối trong sự có mặt của chất nối, nhờ đó nối hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321) với nucleotit thứ nhất trong trình tự; liên kết lần lượt monome nucleosit theo hướng từ 3' đến 5' để tổng hợp sợi đối

nghĩa hoặc có nghĩa của siARN theo loại và trình tự của nucleotit trong sợi đối nghĩa hoặc có nghĩa mong muốn dưới điều kiện cho sự tổng hợp pha rắn phosphoramidit, trong đó hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321) là hợp chất trong đó R<sub>4</sub> chứa nhóm chức thứ nhất và nhóm chức thứ hai, trong đó nhóm chức thứ nhất chứa hydroxyl được bảo vệ và nhóm chức thứ hai có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C1') hoặc (C3'), và hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) được loại bỏ bảo vệ trước khi được liên kết với monome nucleosit thứ nhất; và liên kết của mỗi monome nucleosit bao gồm phản ứng bốn bước là loại bỏ bảo vệ, nối, tạo mũ, và oxi hóa hoặc lưu huỳnh hóa; do vậy thu được sợi đối nghĩa hoặc có nghĩa của axit nucleic này được liên kết nhóm tiếp hợp; liên kết lần lượt monome nucleosit theo hướng từ 3' đến 5' để tổng hợp sợi đối nghĩa hoặc có nghĩa của axit nucleic này theo loại và trình tự của nucleotit thành sợi đối nghĩa hoặc có nghĩa dưới điều kiện cho sự tổng hợp pha rắn phosphoramidit; trong đó liên kết của mỗi monome nucleosit bao gồm phản ứng bốn bước là loại bỏ bảo vệ, nối, tạo mũ, và oxi hóa hoặc lưu huỳnh hóa; loại bỏ nhóm bảo vệ và cắt giá đỡ pha rắn; phân tách và tinh chế sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của axit nucleic này; và gắn.

Trong một số phương án, phương pháp điều chế thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) bao gồm các bước sau: theo loại và trình tự của nucleotit trong sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN sợi đôi, liên kết lần lượt monome nucleosit theo hướng từ 3' đến 5' để tổng hợp sợi đối nghĩa và có nghĩa; trong đó liên kết của mỗi monome nucleosit bao gồm phản ứng bốn bước là loại bỏ bảo vệ, nối, tạo mũ, và oxi hóa hoặc lưu huỳnh hóa, để thu được sợi có nghĩa được liên kết với giá đỡ pha rắn và sợi đối nghĩa được liên kết với giá đỡ pha rắn; cho tiếp xúc hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với sợi có nghĩa được liên kết với giá đỡ pha rắn hoặc sợi đối nghĩa được liên kết với giá đỡ pha rắn dưới điều kiện phản ứng nối trong sự có mặt của chất nối, nhờ đó nối hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321) với sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa; trong đó hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) là hợp chất trong đó R<sub>4</sub> chứa nhóm chức thứ nhất là nhóm phosphoramidit; loại bỏ nhóm bảo vệ và cắt giá đỡ pha rắn; tương ứng phân tách và tinh chế sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN; và gắn, trong đó sợi đối nghĩa hoặc sợi có nghĩa của siARN được liên kết với nhóm tiếp hợp.

Trong một số phương án, nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN, và phương pháp điều chế thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) bao gồm:

(1) loại bỏ nhóm bảo vệ hydroxyl  $P_k$  trong hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321), trong đó hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321) là hợp chất trong đó  $R_4$  chứa nhóm chức thứ nhất chứa hydroxyl được bảo vệ  $OR_k$ , và nhóm chức thứ hai có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C1') hoặc (C3'); cho tiếp xúc sản phẩm được loại bỏ bảo vệ với monome nucleosit thu được monome nucleosit được liên kết với giá đỡ pha rắn thông qua phân tử tiếp hợp dưới điều kiện phản ứng nối trong sự có mặt của chất nối;

(2) bắt đầu từ monome nucleosit được liên kết với giá đỡ pha rắn thông qua phân tử tiếp hợp này, tổng hợp sợi có nghĩa của siARN theo hướng từ 3' đến 5' bằng phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit;

(3) tổng hợp sợi đối nghĩa của siARN bằng phương pháp tổng hợp pha rắn sử dụng phosphoramidit; và

(4) phân tách sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN và gắn hai sợi này để thu được thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308).

Ở đây, trong bước (1), phương pháp loại bỏ nhóm bảo vệ  $R_k$  trong hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321) bao gồm cho tiếp xúc hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với tác nhân loại bỏ bảo vệ dưới điều kiện loại bỏ bảo vệ. Điều kiện khử bảo vệ bao gồm nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ này nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 30 đến 300 giây, và theo một số phương án, thời gian này nằm trong khoảng từ 50 đến 150 giây. Tác nhân loại bỏ bảo vệ có thể được chọn từ một hoặc nhiều trong số axit trifloaxetic, axit tricloaxetic, axit dicloaxetic, và monocloaxetic, và trong một số phương án, axit dicloaxetic. Tỷ lệ mol của chất khử bảo vệ so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) là nằm trong khoảng từ 10:1 đến 1000:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 50:1 đến 500:1.

Điều kiện phản ứng nối và chất nối có thể là điều kiện phản ứng và chất bất kỳ thích hợp để thực hiện phản ứng nối nêu trên. Theo một số phương án, điều kiện và chất

phản ứng giống như điều kiện và chất phản ứng dùng trong phản ứng nối trong phương pháp tổng hợp ở pha rắn có thể được sử dụng.

Trong một số phương án, điều kiện phản ứng nối bao gồm nhiệt độ phản ứng là từ 0-50°C, và trong một số phương án, là từ 15-35°C. Tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với monome nucleosit là từ 1:1 đến 1:50, và trong một số phương án, từ 1:2 đến 1:5. Tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với chất nối có thể là từ 1:1 đến 1:50, và trong một số phương án, từ 1:3 đến 1:10. Thời gian phản ứng là từ 200 đến 3.000 giây, và theo một số phương án, thời gian này nằm trong khoảng từ 500 đến 1.500 giây. Chất nối được chọn từ một hoặc nhiều trong số 1H-tetrazol, 5-ethylthio-1H-tetrazol và 5-benzylthio-1H-tetrazol, và trong một số phương án, là 5-ethylthio-1H-tetrazol. Phản ứng nối có thể được thực hiện trong dung môi hữu cơ. Dung môi hữu cơ được chọn từ một hoặc nhiều trong số axetonitril khan, DMF khan và diclometan khan, và trong một số phương án, là axetonitril khan. Đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321), lượng dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 3 đến 50 L/mol, và theo một số phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 5 đến 20 L/mol.

Trong bước (2), bắt đầu từ monome nucleosit được liên kết với giá đỡ pha rắn thông qua phân tử tiếp hợp được điều chế trong các bước trên, sợi có nghĩa SS của thể tiếp hợp siARN thứ hai được tổng hợp theo hướng từ 3' đến 5' bằng phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit. Trong trường hợp này, nhóm tiếp hợp được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa thu được.

Các điều kiện khác cho tổng hợp pha rắn trong các bước (2) và (3), bao gồm điều kiện loại bỏ bảo vệ cho monome nucleosit, loại và khối lượng tác nhân loại bỏ bảo vệ, điều kiện phản ứng nối, loại và khối lượng chất nối, điều kiện phản ứng tạo mũ, loại và khối lượng tác nhân tạo mũ, điều kiện phản ứng oxi hóa, loại và khối lượng tác nhân phản ứng oxi hóa, điều kiện phản ứng lưu huỳnh hóa, và loại và khối lượng tác nhân lưu huỳnh hóa, đưa ra các tác nhân khác nhau, khối lượng, và điều kiện được sử dụng thông thường trong ngành.

Trong một số phương án, ví dụ, tổng hợp pha rắn trong bước (2) và (3) có thể được thực hiện bằng cách sử dụng các điều kiện sau:

Điều kiện khử bảo vệ monome nucleosit bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong



khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 30 đến 300 giây, và theo một số phương án, thời gian này nằm trong khoảng từ 50 đến 150 giây. Tác nhân loại bỏ bảo vệ có thể là được chọn từ một hoặc nhiều trong số axit trifloaxetic, axit tricloaxetic, axit dicloaxetic, và axit monocloaxetic, và trong một số phương án, là axit dicloaxetic. Tỷ lệ mol của tác nhân loại bỏ bảo vệ với nhóm bảo vệ 4,4'-dimetoxylrityl trên giá đỡ pha rắn là từ 2:1 đến 100:1, và trong một số phương án, từ 3:1 đến 50:1.

Điều kiện phản ứng nối bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C. Tỷ lệ mol của trình tự axit nucleic được liên kết giá thể pha rắn so với monome nucleosit là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:50, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:5 đến 1:15. Tỷ lệ mol của trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn so với chất liên kết là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:100, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:50 đến 1:80. Việc chọn lựa thời gian phản ứng và chất liên kết là giống như được mô tả trên đây.

Điều kiện phản ứng tạo mũ bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ này nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 5 đến 500 giây, và theo một số phương án, thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 10 đến 100 giây. Việc lựa chọn chất tạo mũ là giống như được mô tả trên đây. Tỷ lệ mol của tổng lượng chất tạo mũ so với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn là nằm trong khoảng từ 1:100 đến 100:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:10 đến 10:1. Trong trường hợp trong đó axetic anhydrit đẳng mol và N-metylimidazol được sử dụng là chất tạo mũ, tỷ lệ mol của axetic anhydrit, N-metylimidazol, và trình tự axit nucleic được liên kết với giá đỡ pha rắn có thể là từ 1:1:10 - 10:10:1, và trong một số phương án, là 1:1:2 - 2:2:1.

Điều kiện phản ứng oxy hóa bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ này nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 1 đến 100 giây, và theo một số phương án, thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 5 đến 50 giây. Theo một số phương án, chất oxy hóa là iodin (theo một số phương án đề xuất ở dạng nước iot). Tỷ lệ mol của chất oxy hóa so

với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn trong bước liên kết có thể nằm trong khoảng từ 1:1 đến 100:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 5:1 đến 50:1. Theo một số phương án, phản ứng oxy hóa được thực hiện trong dung môi hỗn hợp trong đó tỷ lệ của tetrahydrofuran: nước: pyridin là 3:1:1-1:1:3. Điều kiện phản ứng lưu huỳnh hóa bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ này nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 50 đến 2.000 giây, và theo một số phương án, thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 100 đến 1.000 giây. Theo một số phương án, chất lưu huỳnh hóa là xanthan hydrit. Tỷ lệ mol của chất lưu huỳnh hóa so với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn trong bước liên kết là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1.000:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 10:1 đến 500:1. Theo một số phương án, phản ứng lưu huỳnh hóa được thực hiện trong dung môi hỗn hợp trong đó tỷ lệ của axetonitril: pyridin là nằm trong khoảng từ 1:3 đến 3:1.

Phương pháp này còn bao gồm phân tách sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN sau khi liên kết tất cả các monome nucleosit và trước khi bắt cặp môi. Các phương pháp phân tách được biết nhiều đối với chuyên gia trong ngành và thường bao gồm tách trình tự nucleotit tổng hợp khỏi giá đỡ pha rắn, loại bỏ nhóm bảo vệ trên các bazơ, nhóm phosphat và các phối tử, tinh chế, và khử muối.

Trình tự nucleotit tổng hợp có thể được tách từ giá đỡ pha rắn, và nhóm bảo vệ trên bazơ, nhóm phosphat và các phối tử được loại bỏ, theo phương pháp loại bỏ bảo vệ và tách thông thường trong tổng hợp các siARN. Ví dụ, trình tự nucleotit thu được được liên kết với giá đỡ pha rắn được tiếp xúc với dung dịch nước amoniac cô đặc; trong khi loại bỏ bảo vệ, nhóm bảo vệ YCOO- trong các nhóm A46-A54 được chuyển hóa thành nhóm hydroxyl, và do đó các nhóm S<sub>1</sub> được chuyển hóa thành nhóm M<sub>1</sub> tương ứng, cung cấp thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308); trong đó dung dịch nước amoniac cô đặc có thể là dung dịch nước amoniac có nồng độ từ 25-30 % trọng lượng. Đối với trình tự siARN đích, lượng dung dịch nước amoniac đậm đặc có thể nằm trong khoảng từ 0,2 ml/μmol đến 0,8 ml/μmol.

Khi có ít nhất một sự bảo vệ 2'-TBDMS trên trình tự nucleotit tổng hợp, phương pháp này bao gồm thêm tiếp xúc trình tự nucleotit đã loại bỏ giá thể pha rắn bằng

triethylamin trihydroflo để loại bỏ sự bảo vệ 2'-TBDMS. Do đó, nucleosit tương ứng trong trình tự siARN đích thu được không chứa 2'-hydroxy. Đối với trình tự siARN đích, khối lượng triethylamin trihydroflo tinh khiết có thể là từ 0,4 ml/ $\mu$ mol-1.0 ml/ $\mu$ mol. Vì thế, thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308) có thể được tạo ra.

Các phương pháp tinh chế và khử muối là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, phương pháp tinh chế axit nucleic có thể được tiến hành bằng cách sử dụng cột tinh chế sắc ký ion điều chế với dung dịch giải hấp gradien là NaBr hoặc NaCl; sau khi thu gom và kết hợp sản phẩm, có thể tiến hành loại muối bằng cách sử dụng cột tinh chế sắc ký pha đảo.

Trong thể tiếp hợp siARN thu được như được thể hiện bởi công thức (308), nguyên tử oxy hoặc lưu huỳnh không làm cầu nối trong liên kết phosphodiester hoặc liên kết phosphorothioat diester giữa các nucleotit hầu như không liên kết với ion natri, và thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308) hầu như có mặt ở dạng muối natri. Các phương pháp trao đổi ion đã biết rõ có thể được sử dụng, trong đó ion natri có thể được thay thế bằng ion hydro và/hoặc cation khác, nhờ đó tạo ra các dạng khác của các thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308). Các cation là như được mô tả trên đây.

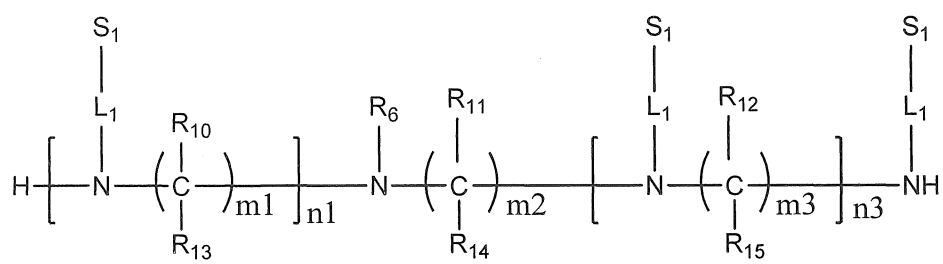
Trong suốt quá trình tổng hợp, độ tinh khiết và khối lượng phân tử của trình tự axit nucleic có thể được xác định ở thời điểm bất kỳ, để kiểm soát tốt hơn chất lượng tổng hợp. Các phương pháp xác định như vậy là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, độ tinh khiết của axit nucleic có thể được xác định bằng sắc ký trao đổi ion, và khối lượng phân tử có thể được xác định bằng phép đo phổ khối-sắc ký lỏng (sắc ký lỏng-khối phổ kế-LC-MS).

Các phương pháp gắn là cũng đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, sợi có nghĩa tổng hợp (sợi S) và sợi đối nghĩa (sợi AS) có thể được trộn đơn giản trong nước để tiêm ở tỷ lệ đẳng mol, được gia nhiệt đến từ 70-95°C, và sau đó làm mát ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành cấu trúc sợi đôi thông qua liên kết hydro. Do đó, thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bởi công thức (308) có thể được tạo ra.

Sau khi thu được thể tiếp hợp, trong một số phương án, thể tiếp hợp siARN tổng

hợp như được thể hiện bằng công thức (308) có thể cũng được đặc trưng bởi phương pháp như phát hiện trọng lượng phân tử sử dụng các phương pháp như sắc ký lỏng-khối phổ kế, để khẳng định rằng thể tiếp hợp siARN tổng hợp này là thể tiếp hợp siARN như được thể hiện bằng công thức (308) là đích thiết kế, và trình tự siARN tổng hợp là trình tự siARN mong muốn, ví dụ, là một trong số các trình tự được liệt kê trong Bảng 1.

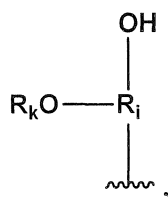
Hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể thu được bằng phương pháp điều chế sau bao gồm: cho tiếp xúc hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) với anhydrit vòng trong dung môi hữu cơ dưới điều kiện phản ứng este hóa trong sự có mặt của bazơ và chất xúc tác este hóa; trao đổi ion và phân tách hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321):



công thức (313)

trong đó các định nghĩa và các lựa chọn đối với  $n1$ ,  $n3$ ,  $m1$ ,  $m2$ ,  $m3$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$ ,  $L_1$ , và  $S_1$  lần lượt được mô tả trên đây;

$R_6$  là nhóm để tạo ra  $R_4$  có công thức (321); theo một số phương án,  $R_6$  có cấu trúc như được thể hiện bởi công thức (A61):



(A61)

trong đó  $R_i$  là nhóm bất kỳ có khả năng liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ, liên kết với  $R_k\text{O}$  và liên kết với nhóm hydroxy tự do;  $R_k$  là nhóm bảo vệ hydroxy. Trong trường hợp này, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) thu được, trong đó  $R_4$  chứa nhóm chức thứ nhất là nhóm bảo vệ hydroxy và nhóm chức thứ hai chứa cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C1) hoặc (C2).

Điều kiện phản ứng este hóa bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 100°C và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 8 đến 48 giờ. Theo một số phương án, điều kiện phản ứng este hóa bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 10 đến 40°C và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 20 đến 30 giờ.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ bao gồm một hoặc nhiều trong số dung môi epoxy, dung môi ete, dung môi haloalkan, dimetyl sulfoxit, N,N-dimetylformamit, và N,N-diisopropyletylamin. Theo một số phương án, dung môi epoxy là dioxan và/hoặc tetrahydrofuran, dung môi ete là dietyl ete và/hoặc metyl tertbutyl ete, và dung môi haloalkan là một hoặc nhiều trong số diclometan, triclometan và 1,2-dicloetan. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là diclometan. Đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313), lượng dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 3 đến 50 L/mol, và theo một số phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 5 đến 20 L/mol.

Theo một số phương án, anhydrit vòng là một trong số succinic anhydrit, glutaric anhydrit, adipic anhydrit hoặc pimelic anhydrit, và theo một số phương án, anhydrit vòng là succinic anhydrit. Tỷ lệ mol của anhydrit vòng so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313) là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 10:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 5:1.

Chất xúc tác este hóa có thể là chất xúc tác bất kỳ có khả năng xúc tác sự este hóa, như 4-dimetylaminopyridin. Tỷ lệ mol của chất xúc tác so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313) là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 10:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 5:1.

Theo một số phương án, bazơ có thể là bazơ vô cơ, bazơ hữu cơ bất kỳ hoặc hỗn hợp của chúng. Xem xét độ hòa tan và độ ổn định sản phẩm, bazơ này có thể là, ví dụ, amin bậc ba. Theo một số phương án, amin bậc ba là trietylamin hoặc N,N-diisopropyletylamin. Tỷ lệ mol của amin bậc ba so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313) là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 20:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 3:1 đến 10:1.

Trao đổi ion đóng vai trò là chức năng chuyển hóa hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) thành dạng axit carboxylic hoặc muối carboxylic mong muốn và phương pháp trao đổi ion là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ

thuật này. Phân tử tiếp hợp trên đây trong đó cation là  $M^+$  có thể thu được bằng cách sử dụng dung dịch trao đổi ion và điều kiện trao đổi ion thích hợp, mà không được đề cập ở đây. Theo một số phương án, phản ứng trao đổi ion được tiến hành bằng cách sử dụng dung dịch triethylamin phosphat, và nồng độ của dung dịch triethylamin phosphat là 0,2-0,8 M. Theo một số phương án, nồng độ của dung dịch triethylamin phosphat là 0,4 đến 0,6 M, và đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313), lượng của dung dịch triethylamin phosphat là 3-6 L/mol, và theo các phương án khác, lượng này nằm trong khoảng từ 4 đến 5 L/mol.

Hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể được phân tách từ hỗn hợp phản ứng sử dụng các phương pháp phân tách bất kỳ. Trong một số phương án, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể được phân tách bằng cách loại bỏ dung môi thông qua sự bay hơi sau khi sắc ký. Ví dụ, hai điều kiện sắc ký sau có thể được sử dụng để phân tách: (1) tinh chế bằng silicagel ở pha thường: thiết bị lọc gel silica cỡ sàng 200-300, với sự rửa giải gradient 1% trọng lượng triethylamin-chứa diclometan: metanol = 100:18 - 100:20; hoặc (2) tinh chế pha ngược: thiết bị lọc pha ngược C18 và C8, với sự rửa giải gradient metanol: axetonitril = 0,1: 1 - 1:0,1. Trong một số phương án, dung môi có thể được loại bỏ trực tiếp để thu được sản phẩm thô của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321), mà có thể được sử dụng trực tiếp trong các phản ứng tiếp theo.

Trong một số phương án, phương pháp điều chế hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) bao gồm thêm: tiếp xúc tiếp sản phẩm thu được bằng phản ứng trao đổi ion trên đây với giá đỡ pha rắn có nhóm amino hoặc hydroxy trong dung môi hữu cơ dưới điều kiện phản ứng ngưng tụ trong sự có mặt của tác nhân ngưng tụ, chất xúc tác ngưng tụ và amin bậc ba. Trong trường hợp này, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) thu được, trong đó  $R_4$  chứa nhóm chức thứ nhất chứa nhóm bảo vệ hydroxy và nhóm chức thứ hai chứa cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C1').

Giá thể pha rắn là một trong số các giá thể được sử dụng trong phương pháp tổng hợp ở pha rắn siARN, một số giá thể này là đã biết rõ trong lĩnh vực kỹ thuật này. Ví dụ, giá thể pha rắn có thể được chọn từ các giá thể pha rắn chứa (các) nhóm chức hydroxy hoặc amino có hoạt tính, và theo một số phương án, giá thể này là nhựa chứa nhóm amino

hoặc hydroxy. Theo một số phương án, nhựa chứa nhóm amino hoặc hydroxy có các thông số sau: cỡ hạt nằm trong khoảng từ cỡ sàng 100-400, và tải lượng amino hoặc hydroxy bề mặt nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,5 mmol/g. Tỷ lệ của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với giá đỡ pha rắn là từ 10 - 400  $\mu\text{mol}$  hợp chất cho mỗi gam giá đỡ pha rắn ( $\mu\text{mol/g}$ ). Trong một số phương án, tỷ lệ của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) với giá đỡ pha rắn là từ 50  $\mu\text{mol/g}$  đến 200  $\mu\text{mol/g}$ .

Dung môi hữu cơ có thể là dung môi hoặc hỗn hợp dung môi thích hợp bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là một hoặc nhiều trong số dung môi epoxy, dung môi ete, dung môi haloalkan, dimetyl sulfoxit, N,N-dimetylformamit, và N,N-diisopropyletylamin. Trong một số phương án, dung môi epoxy là dioxan và/hoặc tetrahydrofuran; dung môi ete là dietyl ete và/hoặc metyl tert-butyl ete; dung môi haloalkan là một hoặc nhiều trong số diclometan, triclometan và 1,2-dicloetan. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là axetonitril. Đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321), lượng dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 20 đến 200 L/mol, và theo một số phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 50 đến 100 L/mol.

Trong một số phương án, tác nhân ngưng tụ có thể là benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino phosphonium hexaflophosphat (PyBop), 3-diethoxyphosphoryl-1,2,3-benzotrizin-4(3H)-on (DEPBT) và/hoặc O-benzotriazol-tetrametyluroni-um hexaflophosphat. Theo một số phương án, chất ngưng tụ này là O-benzotriazol-tetrametyluroni-um hexaflophosphat. Tỷ lệ mol của tác nhân ngưng tụ với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) là từ 1:1 đến 20:1, và trong một số phương án, từ 1:1 đến 5:1.

Theo một số phương án, amin bậc ba là trietylamin và/hoặc N,N-diisopropyletylamin, và theo một số phương án, amin bậc ba này là N,N-diisopropyletylamin. Tỷ lệ mol của amin bậc ba so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321) là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 20:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:1 đến 5:1.

Trong một số phương án, phương pháp điều chế hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) bao gồm thêm: cho tiếp xúc sản phẩm ngưng tụ thu được này với chất

tạo mũ và chất xúc tác acyl hóa trong dung môi hữu cơ dưới điều kiện phản ứng tạo mũ, và phân tách hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (321). Phản ứng tạo mũ được sử dụng để loại bỏ nhóm chức có hoạt tính mà không phản ứng hoàn toàn, để tránh tạo ra các phản ứng phụ không cần thiết trong các phản ứng tiếp theo. Điều kiện phản ứng tạo mũ bao gồm nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, và theo một số phương án, nhiệt độ này nằm trong khoảng từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 1 đến 10 giờ, và theo một số phương án, thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 3 đến 6 giờ. Chất tạo mũ có thể là chất tạo mũ bất kỳ được sử dụng để tổng hợp siARN ở pha rắn, mà đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này.

Theo một số phương án, chất tạo mũ bao gồm chất tạo mũ 1 (cap1) và chất tạo mũ 2 (cap2). Cap1 là N-metylimidazol, và theo một số phương án, cap1 được đề cập đến dưới dạng dung dịch hỗn hợp gồm N-metylimidazol trong pyridin/axetonitril, trong đó tỷ lệ thể tích của pyridin so với axetonitril là nằm trong khoảng từ 1:10 đến 1:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:3 đến 1:1. Theo một số phương án, tỷ lệ của tổng thể tích của pyridin và axetonitril so với thể tích của N-metylimidazol là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 10:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 3:1 đến 7:1. Cap2 là axetic anhydrit, và theo một số phương án, cap2 được đề cập đến dưới dạng dung dịch chứa axetic anhydrit trong axetonitril, trong đó tỷ lệ thể tích của axetic anhydrit so với axetonitril là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 1:10, và theo các phương án khác tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1:2 đến 1:6.

Trong một số phương án, tỷ lệ theo thể tích của dung dịch được trộn chứa N-metylimidazol trong pyridin/axetonitril với khối hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) là từ 5 ml/g-50 ml/g, và trong một số phương án, từ 15 ml/g-30 ml/g. Tỷ lệ theo thể tích của dung dịch axetic anhydrit trong axetonitril với trọng lượng của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) là từ 0,5 ml/g-10 ml/g, và trong một số phương án, từ 1 ml/g-5 ml/g.

Theo một số phương án, chất tạo mũ bao gồm axetic anhydrit và N-metylimidazol với lượng tương đương mol. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là một hoặc nhiều trong số dung môi epoxy, dung môi ete, dung môi haloalkan, dimetyl sulfoxit, N,N-



dimethylformamit, và N,N-diisopropyletylamin. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là axetonitril. Đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321), lượng dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 10 đến 50 L/mol, và theo một số phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 5 đến 30 L/mol.

Theo một số phương án, chất xúc tác axyl hóa có thể được chọn từ chất xúc tác bất kỳ mà có thể được sử dụng cho phản ứng ngưng tụ este hóa hoặc phản ứng ngưng tụ amit hóa, như các hợp chất kiềm dị vòng. Theo một số phương án, chất xúc tác axyl hóa là 4-dimetylaminopyridin. Tỷ lệ theo khối lượng của chất xúc tác với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) là từ 0,001:1 đến 1:1, và trong một số phương án, từ 0,01:1 đến 0,1:1.

Trong một số phương án, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể được phân tách từ hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp tách thích hợp bất kỳ. Trong một số phương án, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) có thể thu được bằng cách rửa kỹ với dung môi hữu cơ và lọc để loại bỏ chất phản ứng không phản ứng, chất tạo mũ dư và các tạp chất khác, trong đó dung môi hữu cơ được chọn từ axetonitril, diclometan và metanol. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là axetonitril.

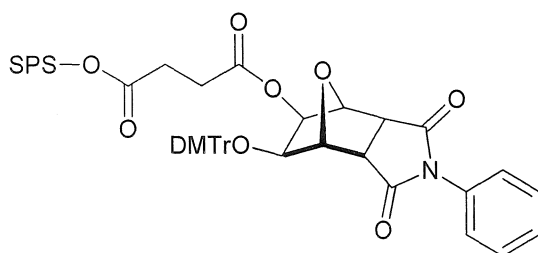
Theo một số phương án, phương pháp sản xuất phân tử tiếp hợp như được thể hiện bởi công thức (321) bao gồm cho hợp chất như được thể hiện bởi công thức (313) tiếp xúc với phosphorodiamidit trong dung môi hữu cơ trong điều kiện phản ứng nổi khi có mặt chất nổi, và phân tách hợp chất như được thể hiện bởi công thức (321). Trong trường hợp này, thu được hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321), trong đó R<sub>4</sub> chứa nhóm chức thứ nhất chứa nhóm bảo vệ hydroxy và nhóm chức thứ hai chứa cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C3).

Trong một số phương án, điều kiện phản ứng nổi bao gồm: nhiệt độ phản ứng là từ 0-50°C, như từ 15-35°C; tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) với phosphorodiamidit là từ 1:1 đến 1:50, như từ 1:5 đến 1:15; tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) với chất nổi là từ 1:1 đến 1:100, như từ 1:50 đến 1:80; và thời gian phản ứng là từ 200-3.000 giây, như từ 500-1.500 giây. Phosphorodiamidit có thể là, ví dụ, bis(diisopropylamino)(2-xyanoetoxy)phosphin, mà có thể là sẵn có trên thị trường hoặc được tổng hợp theo các phương pháp đã biết rõ trong

lĩnh vực kỹ thuật này. Chất nối được chọn từ một hoặc nhiều trong số 1H-tetrazol, 5-ethylthio-1H-tetrazol và 5-benzylthio-1H-tetrazol, như 5-ethylthio-1H-tetrazol. Phản ứng nối có thể được thực hiện trong dung môi hữu cơ. Dung môi hữu cơ được chọn từ một hoặc nhiều trong số axetonitril khan, DMF khan và diclometan khan, như axetonitril khan. Trong một số phương án, đối với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313), khối lượng dung môi hữu cơ là từ 3-50 L/mol, như 5-20 L/mol. Bằng phản ứng nối, nhóm hydroxy trong hợp chất này như được thể hiện bằng công thức (313) phản ứng với phosphorodiamidit để tạo thành nhóm phosphoramidit. Trong một số phương án, dung môi có thể được loại bỏ trực tiếp để thu được sản phẩm thô của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321), mà có thể được sử dụng trực tiếp trong các phản ứng sau đó.

Trong một số phương án, phương pháp điều chế hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321) bao gồm thêm các bước sau: cho tiếp xúc tiếp sản phẩm được phân tách với giá đỡ pha rắn có các nhóm hydroxy trong dung môi hữu cơ dưới điều kiện phản ứng nối trong sự có mặt của chất nối, sau đó tạo mũ, oxi hóa và phân tách, để thu được hợp chất như được thể hiện bằng công thức (321), trong đó R<sub>4</sub> chứa nhóm chức thứ nhất chứa nhóm bảo vệ hydroxy và nhóm chức thứ hai chứa cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (C3').

Trong một số phương án, giá đỡ pha rắn là giá đỡ rắn được biết nhiều trong ngành được sử dụng trong tổng hợp pha rắn axit nucleic, như, giá đỡ pha rắn phổ biến sẵn có trên thị trường đã loại bỏ bảo vệ (NittoPhase<sup>®</sup>HL UnyLinker<sup>™</sup> 300 Oligonucleotide Synthesis Support, Kinovate Life Sciences, như được thể hiện bằng công thức B80):



(B80)

Phản ứng khử bảo vệ là đã biết rõ đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này. Theo một số phương án, điều kiện khử bảo vệ bao gồm nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, như từ 15 đến 35°C, thời gian phản ứng nằm trong khoảng

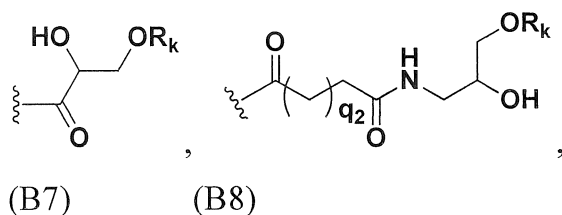
từ 30 đến 300 giây, như từ 50 đến 150 giây. Tác nhân loại bỏ bảo vệ có thể được chọn từ một hoặc nhiều trong số axit trifloaxetic, axit tricloaxetic, axit dicloaxetic, và axit monocloaxetic. Theo một số phương án, chất khử bảo vệ là axit dicloaxetic. Tỷ lệ mol của tác nhân loại bỏ bảo vệ với nhóm bảo vệ -DMTr (4,4'-dimetoxylityl) trên giá đỡ pha rắn là nằm trong khoảng từ 2:1 đến 100:1, như từ 3:1 đến 50:1. Nhờ phản ứng khử bảo vệ này mà thu được các nhóm hydroxy phản ứng tự do trên bề mặt của giá thể pha rắn, để tạo điều kiện thuận lợi cho phản ứng liên kết tiếp theo.

Điều kiện phản ứng nối và chất nối có thể được chọn lọc như trên. Nhờ phản ứng nối, các nhóm hydroxy tự do được tạo thành trong phản ứng khử bảo vệ sẽ phản ứng với các nhóm phosphoramidit, để tạo thành liên kết phosphit este.

Theo một số phương án, điều kiện phản ứng tạo mũ bao gồm nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, như từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 5 đến 500 giây, như từ 10 đến 100 giây. Phản ứng tạo mũ được tiến hành khi có mặt chất tạo mũ. Việc lựa chọn và lượng chất tạo mũ là như được mô tả trên đây.

Điều kiện phản ứng oxy hóa bao gồm nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 50°C, như từ 15 đến 35°C, và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 1 đến 100 giây, như từ 5 đến 50 giây. Chất oxy hóa có thể là, ví dụ, iot (theo một số phương án, chất oxy hóa được đề cập ở dạng nước iot). Trong một số phương án, tỷ lệ mol của tác nhân oxy hóa với trình tự axit nucleic được liên kết với giá đỡ pha rắn là từ 1:1 đến 100:1, như, có thể là từ 5:1 đến 50:1. Theo một số phương án, phản ứng oxy hóa được tiến hành trong dung môi hỗn hợp trong đó tỷ lệ của tetrahydrofuran: nước: pyridin = 3:1:1 - 1:1:3.

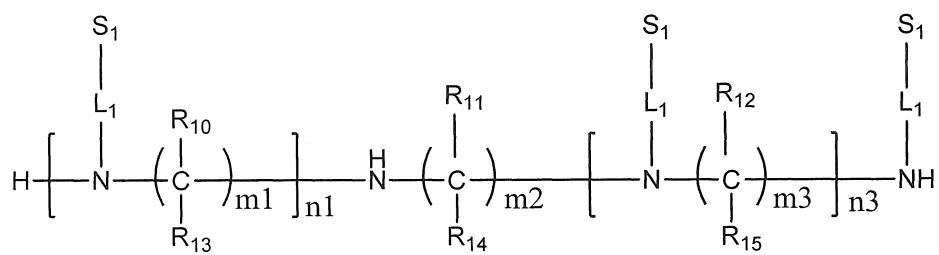
Trong một số phương án, R<sub>6</sub> là một trong số các nhóm có công thức B7 hoặc B8:



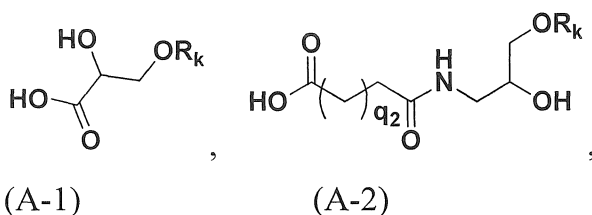
trong đó định nghĩa của q<sub>2</sub> là như được mô tả trên đây.

Trong trường hợp này, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) có thể thu được bằng phương pháp điều chế sau, bao gồm: cho tiếp xúc hợp chất như được thể hiện bằng công thức (314) với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (A-1) hoặc

(A-2) trong dung môi hữu cơ dưới điều kiện phản ứng amit hóa trong sự có mặt của tác nhân ngưng tụ cho phản ứng amit hóa và amin bậc ba, sau đó phân tách:



công thức (314)



trong đó các định nghĩa và các lựa chọn của  $n_1$ ,  $n_3$ ,  $m_1$ ,  $m_2$ ,  $m_3$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ ,  $R_{15}$ ,  $L_1$ ,  $S_1$ ,  $q_2$ , và  $R_k$  lần lượt là như được mô tả trên đây.

Điều kiện phản ứng amit hóa có thể bao gồm nhiệt độ phản ứng là 0-100 °C và thời gian phản ứng là 1-48 giờ. Trong một số phương án, điều kiện phản ứng amit hóa là nhiệt độ phản ứng là từ 10-40 °C và thời gian phản ứng là 2-16 giờ.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là một hoặc nhiều trong số dung môi rượu, dung môi epoxy, dung môi ete, dung môi haloalkan, dimetyl sulfoxit, N,N-dimetylformamit, và N,N-diisopropyletylamin. Theo một số phương án, dung môi rượu là một hoặc nhiều dung môi trong số metanol, etanol và propanol, và theo một số phương án, dung môi rượu này là etanol. Theo một số phương án, dung môi epoxy là dioxan và/hoặc tetrahydrofuran. Theo một số phương án, dung môi ete là dietyl ete và/hoặc methyl tert-butyl ete. Theo một số phương án, dung môi haloalkan là một hoặc nhiều dung môi trong số diclometan, triclometan và 1,2-dicloetan. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là diclometan. Đối với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (314), lượng dung môi hữu cơ nằm trong khoảng từ 3 đến 50 L/mol, và theo một số phương án, lượng này nằm trong khoảng từ 3 đến 20 L/mol.

Theo một số phương án, chất ngưng tụ dùng cho phản ứng amit hóa là benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexaflophosphat, 3-dietoxyphosphoryl-1,2,3-benzotrizin-4(3H)-on, 4-(4,6-dimetoxytriazin-2-yl)-4-metylmorpholin hydroclorua, 2-etoxy-1-etoxy-carbonyl-1,2-dihydroquinolin (EEDQ), hoặc O-benzotriazol-tetrametyluroni-um hexaflophosphat, và theo các phương án khác, chất ngưng tụ này là 3-dietoxyphosphoryl-1,2,3-benzotrizin-4(3H)-on. Tỷ lệ mol của tác nhân ngưng tụ cho phản ứng amit hóa với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (314) có thể là từ 1:1 đến 10:1, và trong một số phương án, từ 2.5:1 đến 5:1.

Theo một số phương án, amin bậc ba là trietylamin hoặc N,N-diisopropyletylamin, và theo một số phương án, amin bậc ba này là N,N-diisopropyletylamin. Tỷ lệ mol của amin bậc ba so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (314) là nằm trong khoảng từ 3:1 đến 20:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 5:1 đến 10:1.

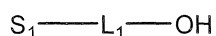
Các hợp chất như được thể hiện bằng công thức (A-1) và (A-2) có thể được điều chế bằng phương pháp thích hợp bất kỳ. Ví dụ, khi  $R_k$  là nhóm DMTr, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (A-1) có thể được điều chế bằng phản ứng của canxi glyxerat với DMTrCl. Tương tự, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (A-2) có thể được điều chế bằng cách trước hết cho 3-amino-1,2-propanediol tiếp xúc với anhydrit vòng và sau đó phản ứng với DMTrCl, trong đó anhydrit vòng có thể có từ 4-13 nguyên tử cacbon, và trong một số phương án, từ 4-8 nguyên tử cacbon. Chuyên gia trong ngành sẽ dễ dàng hiểu rằng việc lựa chọn các anhydrit vòng khác nhau tương ứng với các giá trị khác nhau cho  $q_2$  trong hợp chất như được thể hiện bằng công thức (A-2). Ví dụ, khi anhydrit vòng là succinic anhydrit, thì  $q_2=1$ ; khi anhydrit vòng là glutaric anhydrit, thì  $q_2=2$ , và v.v..

Trong một số biến thể, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) có thể cũng được điều chế bằng phản ứng lần lượt giữa hợp chất như được thể hiện bằng công thức (314) với anhydrit vòng, 3-amino-1,2-propanediol và DMTrCl. Chuyên gia trong ngành sẽ dễ dàng hiểu rằng các biến thể này sẽ không ảnh hưởng đến cấu trúc và chức năng của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313), và các biến thể này được nhận biết dễ dàng bởi chuyên gia trong ngành trên cơ sở các phương pháp này.

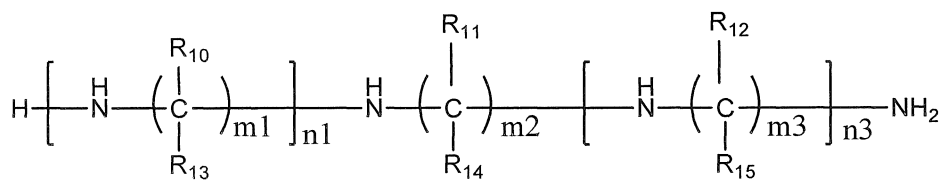
Tương tự, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) có thể được phân tách từ hỗn hợp phản ứng bằng phương pháp phân tách thích hợp bất kỳ. Trong một số phương

án, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313) có thể được phân tách bằng cách loại bỏ dung môi thông qua sự bay hơi sau khi sắc ký. Ví dụ, hai điều kiện sắc ký sau đó có thể được sử dụng để phân tách: (1) tinh chế silicagel pha thông thường: chất độn silicagel có kích thước cỡ sàng 200-300, với dung dịch rửa giải gradient là ete dầu mỏ: etyl axetat: diclometan: N,N-dimetylformamit = 1:1:1:0,5 - 1:1:1:0,6; và (2) tinh chế ở pha đảo: các chất độn pha đảo C18 và C8, với dung dịch rửa giải gradient là metanol: axetonitril = 0,1:1 - 1:0,1. Trong một số phương án, dung môi có thể được loại bỏ trực tiếp để thu được sản phẩm thô của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (313), mà có thể được sử dụng trực tiếp trong các phản ứng tiếp theo.

Theo một số phương án, hợp chất như được thể hiện bởi công thức (314) có thể được tạo ra bằng phương pháp điều chế sau, bao gồm: cho hợp chất như được thể hiện bởi công thức (320) tiếp xúc với hợp chất như được thể hiện bởi công thức hoặc (316) trong dung môi hữu cơ trong điều kiện phản ứng ngưng tụ khi có mặt chất ngưng tụ để thực hiện phản ứng amit hóa và amin bậc ba, sau đó phân tách:



công thức (316)



công thức (320)

trong đó các định nghĩa và các lựa chọn của  $n1$ ,  $n3$ ,  $m1$ ,  $m2$ ,  $m3$ ,  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , và  $R_{15}$  là lần lượt như được mô tả trên đây.

Hợp chất như được thể hiện bằng công thức (316) có thể là, như, hợp chất được bộc lộ trong J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 16958-16961. Theo phương án khác, các hợp chất như được thể hiện bằng công thức (316) có thể được điều chế bởi chuyên gia trong ngành thông qua các phương pháp khác nhau. Ví dụ, một số hợp chất như được thể hiện bằng công thức (316) có thể được điều chế theo phương pháp được bộc lộ trong ví dụ 1 của patent Mỹ US8,106,022 B2, mà được đưa vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ nội dung của nó.

Theo một số phương án, điều kiện phản ứng ngưng tụ bao gồm nhiệt độ phản ứng

nằm trong khoảng từ 0 đến 100°C và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,1 đến 24 giờ, và theo một số phương án, nhiệt độ phản ứng nằm trong khoảng từ 10 đến 40°C và thời gian phản ứng nằm trong khoảng từ 0,5 đến 16 giờ.

Xem xét cấu trúc của hợp chất sản phẩm mong muốn như được thể hiện bằng công thức (314), tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (316) với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (320) nên được xác định dựa trên tổng số của  $n_1$  và  $n_3$  trong công thức (320). Trong một số phương án, ví dụ, khi  $n_1+n_3=3$ , để đảm bảo phản ứng hoàn toàn không có dư bất kỳ, tỷ lệ mol của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (316) với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (320) có thể là 3:1 đến 3,5:1, và trong một số phương án, từ 3,01:1 đến 3,15:1.

Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là một hoặc nhiều trong số dung môi epoxy, dung môi ete, dung môi haloalkan, dimetyl sulfoxit, N,N-dimetylformamit, và N,N-diisopropyletylamin. Theo một số phương án, dung môi epoxy là dioxan và/hoặc tetrahydrofuran. Theo một số phương án, dung môi ete là dietyl ete và/hoặc metyl tert-butyl ete. Theo một số phương án, dung môi haloalkan là một hoặc nhiều dung môi trong số diclometan, triclometan và 1,2-dicloetan. Theo một số phương án, dung môi hữu cơ là diclometan. Đối với hợp chất như được thể hiện bằng công thức (320), khối lượng của dung môi hữu cơ có thể là 3-50 L/mol, và trong một số phương án, từ 5-20 L/mol.

Trong một số phương án, tác nhân ngưng tụ cho phản ứng amit hóa là một hoặc nhiều trong số benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexaflophosphat, 3-dietoxyphosphoryloxy-1,2,3-benzotrizin-4(3H)-on (DEPBT), O-benzotriazol-tetrametyluronium hexaflophosphat, 4-(4,6-dimetoxytriazin-2-yl)-4-metylmorpholin hydroclorua, hoặc 1-hydroxybenzotriazol, và trong các phương án nữa, là hỗn hợp chứa benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexaflophosphat và 1-hydroxybenzotriazol, trong đó benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphonium hexaflophosphat và 1-hydroxybenzotriazol được sử dụng theo các khối lượng đẳng mol. Tỷ lệ mol của tổng lượng chất ngưng tụ dùng cho phản ứng amit hóa so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (316) là nằm trong khoảng từ 1:1 đến 3:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 1,05:1 đến 1,5:1.

Amin bậc ba có thể là N-metylmorpholin, trietylamin hoặc N,N-

diisopropyletylamin, và theo một số phương án, amin bậc ba này là N-metylmorpholin. Tỷ lệ mol của amin bậc ba so với hợp chất như được thể hiện bởi công thức (316) có thể nằm trong khoảng từ 2:1 đến 10:1, và theo một số phương án, tỷ lệ này nằm trong khoảng từ 2:1 đến 5:1.

Tương tự, hợp chất như được thể hiện bởi công thức (314) có thể được phân tách khỏi hỗn hợp phản ứng bằng các phương pháp phân tách thích hợp bất kỳ. Theo một số phương án, hợp chất như được thể hiện bởi công thức (314) có thể được phân tách bằng cách loại dung môi bằng cách làm bay hơi sau đó tiến hành sắc ký, ví dụ, sử dụng hai điều kiện sắc ký sau để phân tách: (1) tinh chế bằng silicagel ở pha thường: chất độn silicagel có kích thước cỡ sàng 200-300, với dung dịch rửa giải gradien là diclometan: metanol = 100:5 - 100:7; và (2) tinh chế ở pha đảo: các chất độn ở pha đảo C<sub>18</sub> và C<sub>8</sub>, với dung dịch rửa giải gradien là metanol: axetonitril = 0,1:1 - 1:0,1. Trong một số phương án, dung môi có thể được loại bỏ trực tiếp để thu được sản phẩm thô của hợp chất như được thể hiện bằng công thức (314), mà có thể được sử dụng trực tiếp trong các phản ứng tiếp theo.

Hợp chất như được thể hiện bằng công thức (320) có thể sẵn có trên thị trường, hoặc được điều chế bởi chuyên gia trong ngành thông qua các phương pháp đã biết. Ví dụ, trong trường hợp trong đó  $m_1=m_2=m_3=3$ ,  $n_1=1$ ,  $n_3=2$ , và R<sub>10</sub>, R<sub>11</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>13</sub>, R<sub>14</sub>, và R<sub>15</sub> tất cả là H, hợp chất như được thể hiện bằng công thức (320) có thể sẵn có trên thị trường từ Alfa Aesar Inc.

Thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể cũng được sử dụng kết hợp với tá dược dược dụng khác, mà có thể là một hoặc nhiều trong số các chế phẩm hoặc hợp chất khác nhau được sử dụng thông thường trong ngành. Để biết thêm chi tiết, xem phần mô tả trên đây về dược phẩm theo sáng chế.

#### **Sử dụng siARN, dược phẩm và thể tiếp hợp chứa siARN theo sáng chế**

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất việc sử dụng siARN và/hoặc dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế để sản xuất thuốc để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ, bao gồm dùng khối lượng



hữu hiệu siARN và/hoặc được phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế cho đối tượng cần dùng nó.

Mục đích của ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh huyết khối và/hoặc đột quy do thiếu máu cục bộ có thể đạt được thông qua cơ chế can thiệp ARN bằng cách dùng thành phần hoạt tính siARN theo sáng chế cho đối tượng cần nó. Do đó, siARN và/hoặc được phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể được sử dụng để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh huyết khối và/hoặc đột quy do thiếu máu cục bộ, hoặc để bào chế được phẩm để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh huyết khối và/hoặc đột quy do thiếu máu cục bộ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ “việc dùng/dùng” đề cập đến siARN đưa vào và/hoặc được phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế vào trong cơ thể của đối tượng bằng phương pháp hoặc đường dùng mà ít nhất một phần siARN và/hoặc được phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế được đặt ở vị trí mong muốn để tạo ra hiệu quả mong muốn. Các đường dùng thích hợp cho phương pháp theo sáng chế bao gồm sử dụng khu trú và sử dụng toàn thân. Nhìn chung, dùng khu trú dẫn đến phân phối nhiều thể tiếp hợp siARN hơn đến vị trí cụ thể so với tuần hoàn toàn thân của đối tượng; trong khi dùng toàn thân dẫn đến phân phối siARN và/hoặc được phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế đến tuần hoàn gần như toàn thân của đối tượng. Xem xét thấy rằng sáng chế nhằm để cung cấp phương tiện để ngăn ngừa và/hoặc điều trị bệnh huyết khối và/hoặc đột quy do thiếu máu cục bộ, trong một số phương án, phương thức dùng có thể phân phối được phẩm đến gan được sử dụng.

Dùng cho đối tượng có thể đạt được bằng đường dùng thích hợp bất kỳ được biết trong ngành, bao gồm, nhưng không bị giới hạn đến, dùng theo đường miệng hoặc ngoài đường tiêu hóa, như dùng trong tĩnh mạch, dùng trong cơ, dùng dưới da, dùng qua da, dùng trong khí quản (sol khí), dùng trong phổi, dùng qua mũi, dùng qua trực tràng, và dùng khu trú (bao gồm dùng qua má và dùng dưới lưỡi). Tần suất dùng có thể là một lần một tuần hoặc nhiều lần một ngày, một tuần, hai tuần, ba tuần, một tháng, hoặc một năm.

Liều dùng siARN hoặc được phẩm hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế được sử dụng có thể là liều dùng thông thường trong ngành, mà có thể được xác định theo các thông số khác nhau, đặc biệt là độ tuổi, trọng lượng và giới tính của đối tượng. Độc tính

và hiệu quả có thể được xác định trong nuôi cấy tế bào hoặc động vật thí nghiệm bằng quy trình sản xuất được phẩm tiêu chuẩn, ví dụ, bằng cách xác định LD<sub>50</sub> (liều dùng gây chết mà gây ra 50% quần thể chết) và ED<sub>50</sub> (liều dùng mà có thể gây ra 50% cường độ đáp ứng tối đa trong đáp ứng định lượng, và gây ra 50% đối tượng thí nghiệm có đáp ứng dương tính trong đáp ứng định lượng). Giới hạn liều dùng để sử dụng cho người có thể được phân phối dựa trên dữ liệu thu được từ phân tích nuôi cấy tế bào và nghiên cứu động vật.

Khi siARN, dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế được dùng, ví dụ, cho con đực hoặc con cái, từ 6 đến 12 tuần tuổi, con cái C57BL/6N trọng lượng cơ thể từ 18 đến 25 g, tính trên khối lượng của siARN: (i) đối với thể tiếp hợp siARN, liều dùng của siARN của nó có thể là từ 0,001 đến 100 mg/kg trọng lượng cơ thể, trong một số phương án 0,01 đến 50 mg/kg trọng lượng cơ thể, trong một số phương án từ 0,05 đến 20 mg/kg trọng lượng cơ thể, trong các phương án khác nữa từ 0,1 đến 15 mg/kg trọng lượng cơ thể, và trong các phương án nữa từ 0,1 đến 10 mg/kg trọng lượng cơ thể; (ii) đối với dược phẩm được tạo thành bởi siARN và chất mang dược dụng, liều dùng của siARN của nó có thể là từ 0,001 đến 50 mg/kg trọng lượng cơ thể, trong một số phương án từ 0,01 đến 10 mg/kg trọng lượng cơ thể, trong một số phương án từ 0,05 đến 5 mg/kg trọng lượng cơ thể, và trong một số phương án từ 0,1 đến 3 mg/kg trọng lượng cơ thể.

Trong một số phương án, sáng chế đề xuất phương pháp ức chế sự biểu hiện của gen FXI trong tế bào gan, bao gồm tiếp xúc khối lượng hữu hiệu siARN và/hoặc dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế với tế bào gan, và đưa siARN và/hoặc dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế vào trong tế bào gan, để thực hiện mục đích ức chế sự biểu hiện của gen FXI trong tế bào gan thông qua cơ chế can thiệp ARN. Tế bào gan có thể được chọn từ các dòng tế bào u gan (như SMMC-7721, HepG2 và Huh7), hoặc các tế bào sơ cấp gan được phân tách. Theo một số phương án, các tế bào gan là các tế bào ung thư gan HepG2.

Trong trường hợp trong đó sự biểu hiện của gen FXI trong tế bào bị ức chế bằng cách sử dụng phương pháp theo sáng chế, khối lượng của siARN trong siARN cải biến và/hoặc dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thường là khối lượng này mà là thích hợp để giảm sự biểu hiện của gen đích và dẫn đến nồng độ ngoại bào là từ 1

pM đến 1  $\mu$ M, hoặc từ 0,01 nM đến 100 nM, hoặc từ 0,05 nM đến 50 nM, hoặc từ 0,05 nM đến khoảng 5 nM trên bề mặt của các tế bào đích. Lượng cần để đạt được nồng độ khu trú này sẽ khác nhau theo nhiều yếu tố, bao gồm phương pháp phân phối, vị trí phân phối, số lớp tế bào giữa vị trí phân phối và tế bào đích hoặc các mô, đường phân phối (khu trú hoặc toàn thân), v.v.. Nồng độ tại vị trí phân phối có thể cao hơn đáng kể so với vị trí trên bề mặt của tế bào hoặc mô đích.

### **Kit**

Sáng chế đề xuất kit chứa một lượng hữu hiệu của ít nhất một trong số siARN cải biến, dược phẩm, và thể tiếp hợp siARN theo sáng chế.

Theo một số phương án, kit theo sáng chế có thể cung cấp siARN cải biến trong đồ chứa. Theo một số phương án, kit theo sáng chế có thể bao gồm đồ chứa chứa tá dược được dụng. Theo một số phương án, kit có thể còn chứa các thành phần khác, như chất làm ổn định hoặc chất bảo quản. Theo một số phương án, kit theo sáng chế có thể chứa ít nhất một chất điều trị khác trong đồ chứa khác đồ chứa cung cấp siARN cải biến theo sáng chế. Theo một số phương án, kit có thể bao gồm hướng dẫn trộn siARN cải biến với chất mang và/hoặc tá dược được dụng hoặc các thành phần khác (nếu có).

Trong kit theo sáng chế, siARN cải biến và chất mang và/hoặc tá dược được dụng, cũng như là siARN cải biến, dược phẩm, và/hoặc thể tiếp hợp siARN và/hoặc thể tiếp hợp, và/hoặc tá dược được dụng có thể được cung cấp ở dạng bất kỳ, như ở dạng lỏng, dạng khô hoặc dạng đông khô. Theo một số phương án, siARN cải biến và chất mang và/hoặc tá dược được dụng, và dược phẩm và/hoặc thể tiếp hợp và tùy ý (các) tá dược được dụng là gần như tinh khiết và/hoặc gần như được vô trùng. Trong một số phương án, nước khử trùng có thể được cung cấp trong kit theo sáng chế.

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả thêm nhờ các ví dụ, nhưng không bị giới hạn ở khía cạnh bất kỳ.

### **Ví dụ thực hiện sáng chế**

Trừ khi được chỉ định khác, các chất phản ứng và môi trường nuôi cấy được sử dụng trong các ví dụ sau là sẵn có trên thị trường, và các quy trình được sử dụng như điện di axit nucleic và PCR thời gian thực tất cả được thực hiện theo phương pháp được mô

tả trong Molecular Cloning (Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)).

Khi siARN hoặc thể tiếp hợp siARN kháng lại gen FXI được tổng hợp trong sáng chế hoặc siARN hoặc thể tiếp hợp siARN là đối chứng âm tính được sử dụng để chuyển nhiễm tế bào, Lipofectamin<sup>TM</sup>2000 (Invitrogen) được sử dụng làm chất phản ứng chuyển nhiễm. Các quy trình cụ thể có thể theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Chuột C57BL/6N: từ 6-8 tuần tuổi, được mua từ Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd., và ở đây được đề cập đến là chuột C57.

Chuột làm giống người dị hợp tử: từ 6-8 tuần tuổi, được mua từ Cyagen Biosciences Inc.

Trừ khi được quy định theo cách khác, các tỷ lệ của các tác nhân phản ứng đề cập dưới đây đều được tính toán theo tỷ lệ thể tích (thể tích/thể tích).

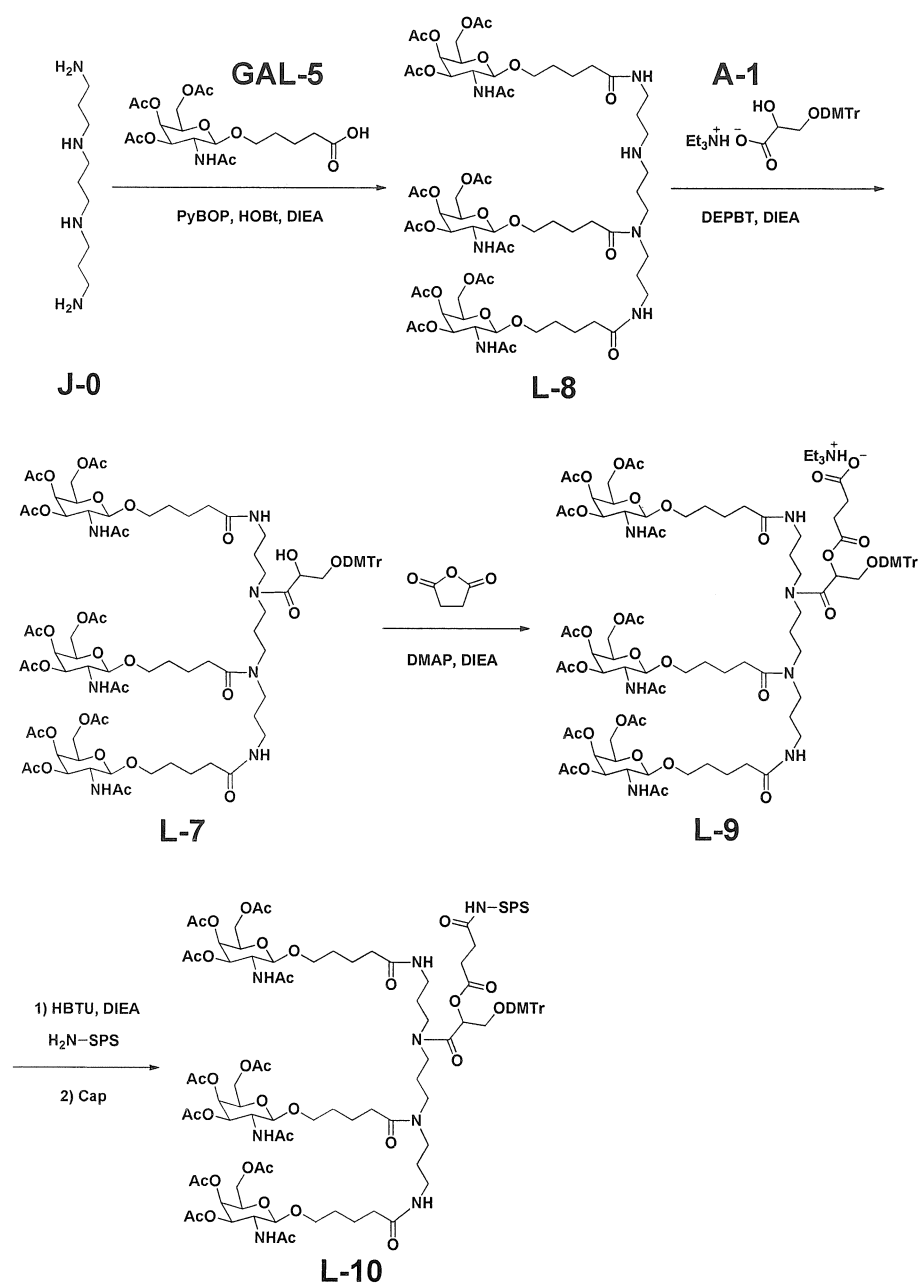
Trừ khi được chỉ định khác, tất cả dữ liệu thí nghiệm về hiệu quả *in vivo/in vitro* được thể hiện là  $\bar{X} \pm \text{SEM}$ , và dữ liệu được phân tích bằng phần mềm phân tích thống kê Graphpad prism 5.0.

#### **Ví dụ điều chế 1: Điều chế thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S**

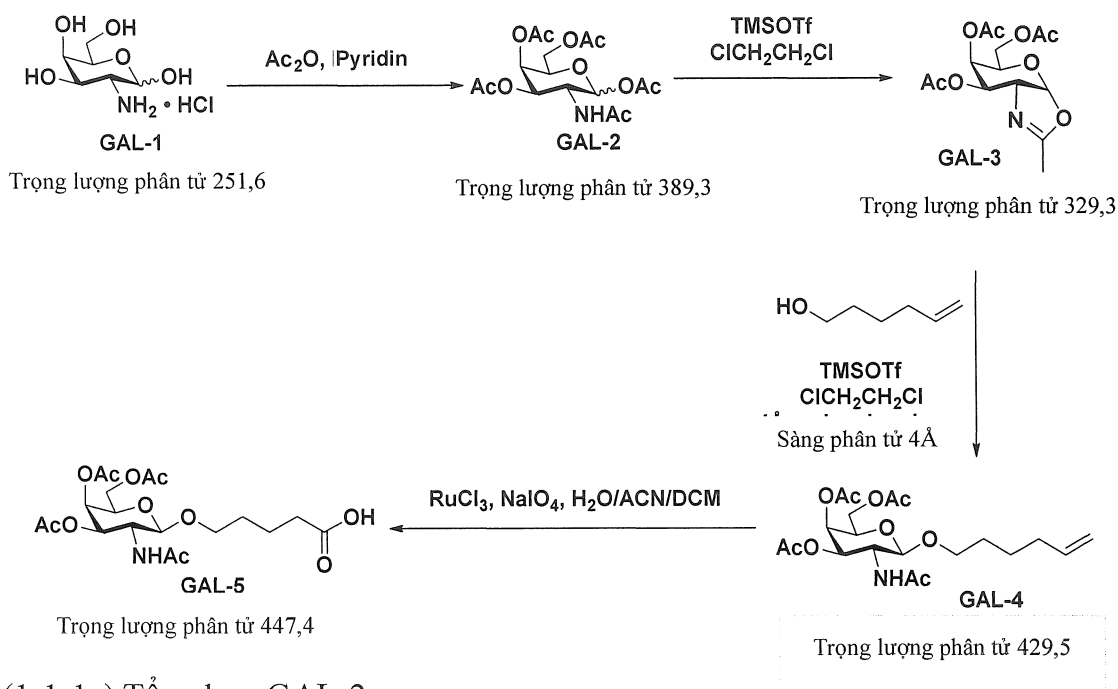
Trong ví dụ điều chế này, thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S được tổng hợp. Thể tiếp hợp này là thể tiếp hợp siARN được tạo thành bằng cách tiếp hợp phân tử tiếp hợp L-9 với siARN No. siFXIf1M1S. Trình tự của thể tiếp hợp siARNd trong thể tiếp hợp này có thể được tìm thấy trong bảng 3.

(1-1) Tổng hợp hợp chất L-10:

Hợp chất L-10 được tổng hợp theo phương pháp sau:



(1-1-1) Tổng hợp đoạn đầu tận cùng tiếp hợp GAL-5



100,0 g GAL-1 (N-axetyl-D-galactosamin hydroclorua, CAS No.: 1772-03-8, được mua từ Ning Bo hongxiang bio-chem Co., Ltd., 463,8 mmol) được hòa tan trong 1000 ml pyridin khan, mà được bổ sung vào 540 ml axetic anhydrit (được mua từ Enox Inc., 5565,6 mmol) trong bể nước đá để phản ứng dưới điều kiện khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 1,5 giờ. Dung dịch phản ứng thu được được rót vào 10 L nước đá và được lọc hút trong điều kiện áp suất giảm. Cặn được rửa bằng 2 L nước đá, và sau đó bổ sung dung môi hỗn hợp gồm axetonitril/toluen (tỷ lệ thể tích/thể tích của axetonitril: toluen = 1:1) cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Làm bay hơi dung môi thu được 130.0 g sản phẩm GAL-2 là chất rắn màu trắng.

#### (1-1-1b) Tổng hợp GAL-3

GAL-2 (35,1 g, 90,0 mmol) thu được trong bước (1-1-1a) được hòa tan trong 213 ml 1,2-dicloetan khan, 24,0g TMSOTf (CAS No.: 27607-77-8, được mua từ Macklin Inc., 108,0 mmol) trong bể nước đá trong điều kiện khí nitơ để phản ứng ở nhiệt độ phòng qua đêm.

Dung dịch phản ứng được bổ sung 400 ml diclometan để pha loãng, lọc bằng diatomit, và sau đó bổ sung 1L dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và khuấy đều. Phân tách pha hữu cơ. Pha nước còn lại được chiết hai lần, mỗi lần 300 ml dicloetan. Các pha hữu cơ được thu gom và lần lượt rửa bằng 300 ml dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và 300 ml dung dịch nước muối bão hòa. Pha hữu cơ được phân tách và làm khô

bằng natri sulfat khan. Dung môi được làm bay hơi đến khô dưới áp suất thấp thu được 26,9 g sản phẩm GAL-3 là sirô nhớt màu vàng sáng.

(1-1-1c) Tổng hợp GAL-4

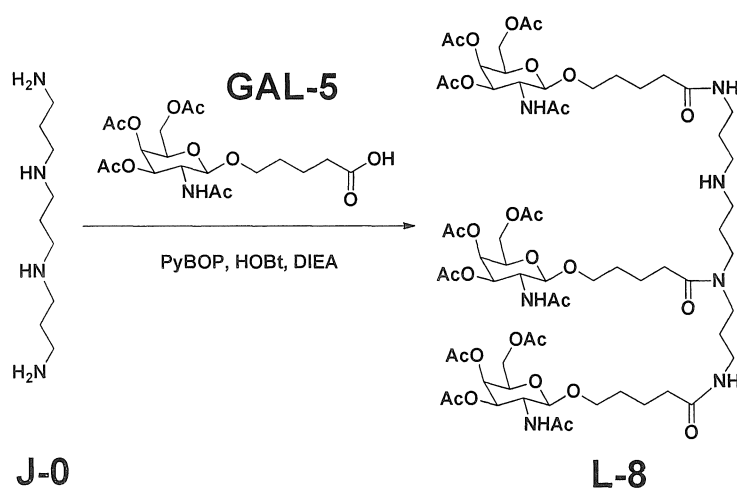
GAL-3 (26,9 g, 81,7 mmol) thu được ở bước (1-1-1b) được hòa tan trong 136 ml 1,2-dicloetan khan, được bổ sung 30 g bột rây phân tử 4Å khô sau đó bổ sung 9,0 g 5-hexen-1-ol (CAS No.: 821-41-0, được mua từ Adamas-beta Inc., 89,9 mmol), và được khuấy ở nhiệt độ phòng trong 30 phút. 9,08 g TMSOTf (40,9 mmol) được bổ sung trong bể đá trong điều kiện khí nitơ để phản ứng trong điều kiện khuấy ở nhiệt độ phòng qua đêm. Bột rây phân tử 4Å được loại bỏ bằng cách lọc. Dịch lọc được bổ sung 300 ml dicloetan để pha loãng, lọc bằng diatomit, và sau đó được bổ sung 500 ml dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và khuấy trong 10 phút để rửa. Phân tách pha hữu cơ. Pha nước được chiết một lần bằng 300 ml dicloetan. Các pha hữu cơ được thu gom và lần lượt rửa bằng 300 ml dung dịch nước natri bicacbonat bão hòa và 300 ml dung dịch nước muối bão hòa. Pha hữu cơ được phân tách và làm khô bằng natri sulfat khan. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm thu được 41,3g sản phẩm GAL-4 là siro màu vàng, mà được sử dụng trực tiếp trong phản ứng oxi hóa tiếp theo không cần tinh chế.

(1-1-1d) Tổng hợp GAL-5

GAL-4 (14,9 g, 34,7 mmol) thu được theo phương pháp được mô tả trong bước (1-1-1c) được hòa tan trong dung môi hỗn hợp chứa 77 ml diclometan và 77 ml axetonitril, lần lượt được bổ sung 103 ml nước khử ion và 29,7 g natri periodat (CAS No.: 7790-28-5, được mua từ Aladdin Inc., 138,8 mmol), và khuấy trong bể đá trong 10 phút. Ruthenium triclorea (CAS No.: 14898-67-0, sẵn có từ Energy Chemical, 238 mg, 1,145 mmol) được bổ sung để phản ứng ở nhiệt độ phòng qua đêm. Dung dịch phản ứng thu được được pha loãng bằng cách bổ sung 300 ml nước trong điều kiện khuấy, và điều chỉnh đến pH bằng khoảng 7,5 bằng cách bổ sung natri bicacbonat bão hòa. Pha hữu cơ được phân tách và loại bỏ. Pha nước được chiết ba lần, mỗi lần bằng 200 ml diclometan, và pha hữu cơ được loại bỏ. Pha nước được điều chỉnh đến độ pH bằng 3 bằng axit xitric dạng rắn và chiết ba lần, mỗi lần bằng 200 ml diclometan, và các pha hữu cơ thu được được thu gom và làm khô bằng natri sulfat khan. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm thu được 6,85 g sản phẩm GAL-5 là chất rắn bột màu trắng. <sup>1</sup>H NMR (400

MHz, DMSO)  $\delta$  12,01 (br, 1H), 7,83 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H), 5,21 (d,  $J = 3,2$  Hz, 1H), 4,96 (dd,  $J = 11,2, 3,2$  Hz, 1H), 4,49 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H), 4,07 – 3,95 (m, 3H), 3,92 – 3,85 (m, 1H), 3,74 – 3,67 (m, 1H), 3,48 – 3,39 (m, 1H), 2,20 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 2,11 (s, 3H), 2,00 (s, 3H), 1,90 (s, 3H), 1,77 (s, 3H), 1,55 – 1,45 (m, 4H).

#### (1-1-2) Tổng hợp L-8



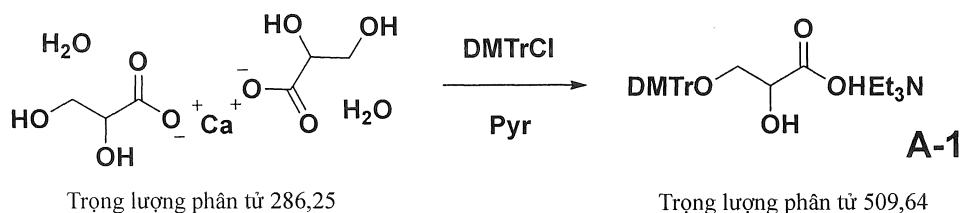
J-0 (9,886 g, 52,5 mmol, được mua từ Alfa Aesar Inc.) và GAL-5 (72,819 g, 162,75 mmol, thu được bằng cách kết hợp một vài mẻ sản phẩm) thu được trong bước (1-1-1) được hòa tan trong 525 ml diclometan, và được bổ sung diisopropyletylamin (DIEA, 44,782 g, 346,50 mmol), benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidino phosphonium hexaflorophosphat (PyBOP, 90,158 g, 173,25 mmol) và hydroxybenzotriazol (HOBT, 23,410 g, 173,25mmol) để phản ứng ở nhiệt độ trong phòng trong 4 giờ. Rửa dung dịch phản ứng thu được bằng cách bổ sung 20 ml dung dịch natri bicarbonat bão hòa và 200 ml nước muối bão hòa. Pha nước được chiết hai lần, mỗi lần bằng 100 ml diclometan. Các pha hữu cơ được thu gom, làm khô bằng natri sulfat khan, và lọc. Sau đó làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng cách sử dụng cột silicagel pha thường (cỡ sàng 200-300). Cột được bổ sung 10% khối lượng triethylamin để trung hòa tính axit của silicagel, làm cân bằng bằng 1% khối lượng triethylamin, và rửa giải bằng dung dịch rửa giải gradien chứa diclometan: metanol = 100:25-100:40. Sản phẩm rửa giải được thu thập lại, và làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm thu được 38,8 g sản phẩm thô L-8.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7,84 (d,  $J = 9,0$  Hz, 3H), 7,27 - 7,23 (m, 1H), 7,13 - 7,18 (m, 1H), 5,22 (d,  $J =$



3,1 Hz, 3H), 4,97 (dd,  $J = 11,3, 3,1$  Hz, 3H), 4,48 (d,  $J = 8,4$  Hz, 3H), 4,09 - 3,98 (m, 9H), 3,88 (dd,  $J = 19,3, 9,3$  Hz, 3H), 3,75 - 3,66 (m, 3H), 3,44 - 3,38 (m, 3H), 3,17 - 3,30 (m, 4H), 3,10 - 2,97 (m, 4H), 2,35 - 2,20 (m, 6H), 2,15 - 2,08 (m, 9H), 2,07 - 1,98 (m, 13H), 1,94 - 1,87 (m, 9H), 1,81 - 1,74 (m, 9H), 1,65 - 1,42 (m, 18H). MS  $m/z$ :  $C_{85}H_{119}N_7O_{30}$ ,  $[M+H]^+$ , được tính toán: 1477.59, được đo: 1477,23.

(1-1-3) Tổng hợp L-7

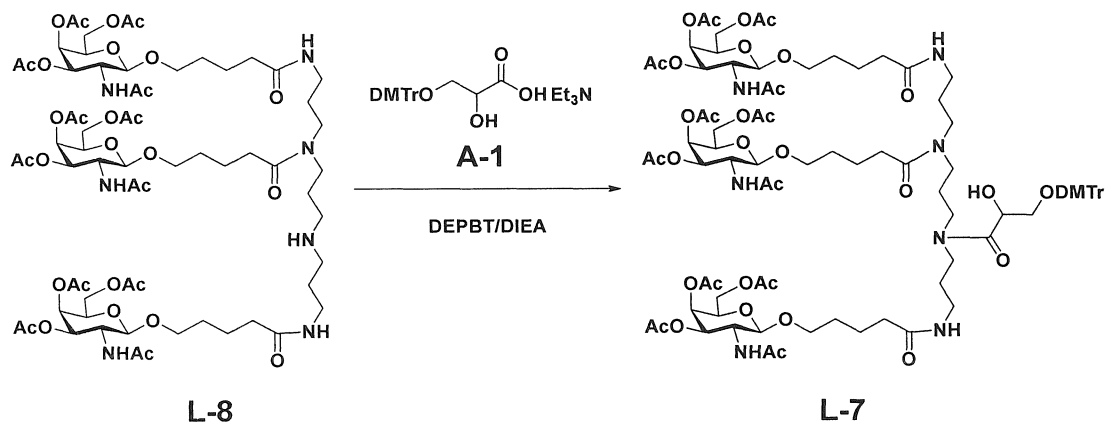
(1-1-3a) Tổng hợp A-1



DMTrCl (4,4'-dimethoxytrityl clorua, 101,65 g, 300 mmol) được hòa tan trong 1000 ml pyridin khan, được bổ sung canxi DL-glyxerat hydrat (28,63 g, 100 mmol) để phản ứng ở nhiệt độ 45°C trong 20 giờ. Dung dịch phản ứng thu được được lọc. Cặn được rửa bằng 200 ml DCM, và dịch lọc được cô đến khô trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan cặn trong 500 ml diclometan và rửa hai lần, mỗi lần rửa bằng 200 ml 0,5 M trietylamin phosphat (pH = 7-8). Pha nước được chiết hai lần, mỗi lần bằng 200 ml diclometan. Các pha hữu cơ được thu gom, làm khô bằng natri sulfat khan, và lọc. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm, và phần dư được tinh chế bằng cách sử dụng cột silicagel pha thông thường (cỡ sàng 200-300). Cột được rửa giải bằng dung dịch rửa giải gradien chứa ete dầu mỏ: etyl axetat: diclometan: metanol = 1:1:1:0,35 - 1:1:1:0,55. Thu lại sản phẩm rửa giải, và làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm. Hòa tan cặn trong 600 ml diclometan, và rửa một lần bằng 200 ml 0,5 M trietylamin phosphat. Pha nước được chiết một lần bằng 200 ml diclometan. Các pha hữu cơ được thu gom, làm khô bằng natri sulfat khan, và lọc. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm, và phần dư được đưa đến áp suất giảm kèm bơm dầu chân không qua đêm thu được 50,7 g sản phẩm A-1 là chất rắn màu trắng.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  7,46 (ddd,  $J = 6,5, 2,3, 1,1$  Hz, 1H), 7,40 - 7,28 (m, 7H), 6,89 - 6,81 (m, 4H), 4,84 (d,  $J = 5,0$  Hz, 1H), 4,36 - 4,24 (m, 1H), 4,29 (s, 6H), 3,92 (dd,  $J = 12,4, 7,0$  Hz, 1H), 3,67 (dd,  $J = 12,3, 7,0$  Hz, 1H), 2,52 (q,  $J = 6,3$  Hz, 6H), 1,03 (t,  $J = 6,3$  Hz, 9H). MS  $m/z$ :  $C_{24}H_{23}O_6$ ,  $[M-H]^-$ , theo tính toán:

407,15, theo thực tế: 406,92.

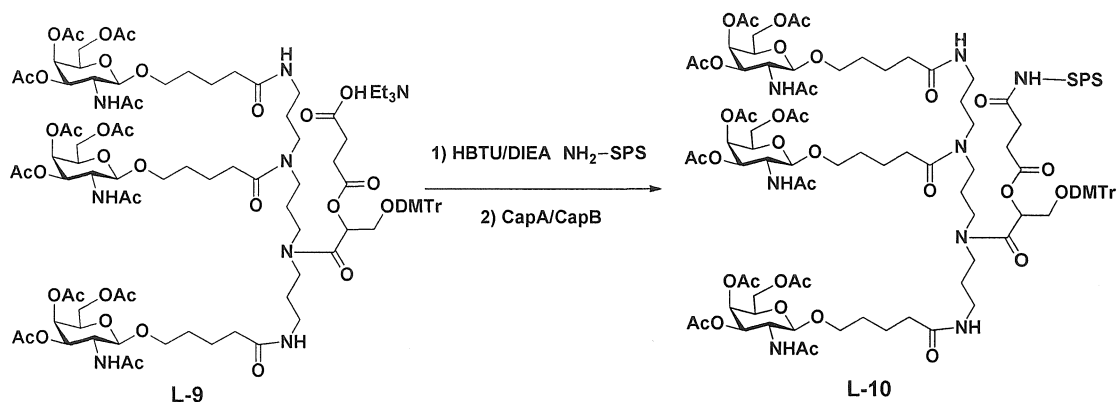
(1-1-3b) Tổng hợp L-7



L-8 (40 g, 27,09 mmol, thu được bằng cách kết hợp một vài mẻ sản phẩm) thu được trong bước (1-1-2) và A-1 (41,418 g, 81,27 mmol) thu được trong bước (1-1-3a) được trộn và hòa tan trong 271 ml diclometan, bổ sung 3-dietoxyphosphoryl-1,2,3-benzotrizin-4(3H)-on (DEPBT) (24,318 g, 81,37 mmol), và bổ sung tiếp diisopropyletylamin (21,007 g, 162,54 mmol) để phản ứng kèm khuấy ở 25 °C trong 1,5 giờ. Pha hữu cơ được rửa bằng 800 ml dung dịch natri bicacbonat bão hòa. Pha nước được chiết ba lần, mỗi lần bằng 50 ml diclometan. Pha hữu cơ được rửa bằng 150 ml dung dịch nước muối bão hòa, và pha nước được chiết một lần bằng 50 ml diclometan, và các pha hữu cơ được thu gom, làm khô bằng natri sulfat khan và lọc. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm, và phần dư là bột được làm khô kèm bơm dầu chân không qua đêm thu được sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế trên cột. Cột được nạp 2 kg silicagel pha thường (cỡ sàng 200-300), được bổ sung 200 ml trietylamin để trung hòa tính axit của silicagel, làm cân bằng bằng ete dầu mỏ chứa 1% khối lượng trietylamin, và rửa giải bằng dung dịch rửa giải gradient chứa ete dầu mỏ: etyl axetat: diclometan: N,N-dimetylformamit = 1:1:1:0,5 - 1:1:1:0,6. Sản phẩm rửa giải được thu thập, và làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm thu được 40,4 g sản phẩm thô L-7.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7,90 – 7,78 (m, 4H), 7,75 – 7,64 (m, 1H), 7,38 – 7,18 (m, 9H), 6,91 – 6,83 (m, 4H), 5,25 – 5,10 (m, 4H), 4,97 (dd,  $J$  = 11,2, 3,2 Hz, 3H), 4,48 – 4,30 (m, 4H), 4,02 (s, 9H), 3,93 – 3,84 (m, 3H), 3,76 – 3,66 (m, 9H), 3,45 – 3,35 (m, 3H), 3,24 – 2,98 (m, 10H), 2,30 – 2,20 (m, 2H), 2,11 – 1,88 (m, 31H), 1,80 – 1,40 (m, 28H). MS  $m/z$ :  $\text{C}_{90}\text{H}_{128}\text{N}_7\text{O}_{35}$ ,  $[\text{M}-\text{DMTr}]^+$ , theo tính toán: 1564,65, theo thực tế: 1564,88.

Chemical reaction scheme showing the conversion of L-7 to L-9. L-7 is a linear molecule with three 2,3,6-tri-O-acetyl-4-O-(6-aminohexanoyl)-D-glucopyranoside units linked by amide bonds to a central chain. The central chain contains a hydroxyl group and an ODMTr-protected amine. L-9 is the cyclized product where the central chain has formed a macrocyclic structure, incorporating the hydroxyl group and the ODMTr-protected amine into a new ring system. The reaction is catalyzed by DMAP/DIEA.

(1-1-5) Tổng hợp hợp chất L-10



Trong bước này, hợp chất L-10 được điều chế bằng cách liên kết phân tử tiếp hợp L-9 với giá thể pha rắn.

Phân tử tiếp hợp L-9 (22.751 g, 11 mmol) thu được trong bước (1-1-4), O-benzotriazol-tetrametyluronium hexaflophosphat (HBTU, 6,257 g, 16,5 mmol) và diisopropyletylamin (DIEA, 2,843 g, 22 mmol) được trộn và hòa tan trong 900 ml axetonitril, và khuấy ở nhiệt độ trong phòng trong 5 phút. Dung dịch phản ứng thu được được bổ sung nhựa Aminometyl (88 g, cỡ sàng 100-200, nạp amino: 400  $\mu\text{mol/g}$ , được mua từ Tianjin Nankai HECHENG S&T Co., Ltd.). Phản ứng được tiến hành trên máy lắc ở nhiệt độ 25°C và ở tốc độ quay là 150 vòng/phút trong 18 giờ, sau đó lọc. Phần dư được rửa hai lần (mỗi lần bằng 300 ml DCM) và ba lần (mỗi lần bằng 300 ml of axetonitril), và làm khô bằng bơm dầu chân không trong 18 giờ. Sau đó các nguyên liệu ban đầu (CapA, CapB, 4-dimetylamino pyridin (DMAP) và axetonitril) được bổ sung theo tỷ lệ nạp như được thể hiện trong bảng 2 để thực hiện phản ứng tạo mũ. Phản ứng được tiến hành trên máy lắc ở nhiệt độ 25°C và ở tốc độ quay bằng 150 rpm/phút trong 5 giờ. Dung dịch phản ứng được lọc. Cặn được rửa ba lần, mỗi lần bằng 300 ml axetonitril. Làm bay hơi dung môi đến khô dưới áp suất giảm, và phần dư này được làm khô dưới áp suất giảm kèm bơm dầu chân không qua đêm thu được 102 g hợp chất L-10 (nghĩa là, phân tử tiếp hợp L-9 được liên kết với giá đỡ pha rắn), kèm nạp 90.8  $\mu\text{mol/g}$ .

Bảng 2 Tỷ lệ nạp của phản ứng tạo mũ

| Các nguyên liệu ban đầu | Lượng   | Loại                      | Số Lô    | Nhà sản xuất |
|-------------------------|---------|---------------------------|----------|--------------|
| CapA                    | 1980 ml | _____                     | _____    | _____        |
| CapB                    | 220 ml  | _____                     | _____    | _____        |
| DMAp                    | 1,100 g | tinh khiết theo phân tích | I1422139 | Aladdin      |

|             |        |                           |           |                          |
|-------------|--------|---------------------------|-----------|--------------------------|
| axetonitril | 220 ml | tinh khiết theo quang phổ | O15161001 | CINC (Shanghai) Co., Ltd |
|-------------|--------|---------------------------|-----------|--------------------------|

Trong bảng trên, Cap A và Cap B là các dung dịch chất tạo mũ. Cap A là dung dịch hỗn hợp chứa 20% thể tích của N-metylimidazol trong pyridin/axetonitril, trong đó tỷ lệ thể tích của pyridin so với axetonitril là 3:5. Cap B là dung dịch chứa 20% thể tích của axetic anhydrit trong axetonitril.

#### (1-2) Tổng hợp sợi có nghĩa của thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S

Monome nucleosit được liên kết với nhau theo hướng từ 3' đến 5' theo trình các tự sắp xếp của các nucleotit trong sợi có nghĩa bằng phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, bắt đầu các chu trình từ hợp chất L-10 được điều chế trong bước trên. Việc liên kết mỗi monome nucleosit bao gồm phản ứng bốn bước gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa hoặc lưu huỳnh hóa. Ở đây, khi hai nucleotit được liên kết thông qua liên kết phosphoeste, phản ứng bốn bước gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa được đưa vào trong khi liên kết monome nucleosit sau đó; và khi hai nucleotit được liên kết được liên kết thông qua phosphorothioat, phản ứng bốn bước gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và lưu huỳnh hóa được đưa vào trong khi liên kết của monome nucleosit sau đó. Các điều kiện tổng hợp được đưa ra như sau.

Các monome nucleosit được cung cấp trong dung dịch 0,1 M axetonitril. Điều kiện cho phản ứng khử bảo vệ trong mỗi bước là giống nhau, nghĩa là, nhiệt độ là 25°C, thời gian phản ứng là 70 giây, dung dịch axit dicloaxetic trong diclometan (3% thể tích) làm tác nhân khử bảo vệ, và tỷ lệ mol của axit dicloaxetic với nhóm bảo vệ 4,4'-dimetoxyltrityl trên giá đỡ pha rắn là 5:1.

Điều kiện của phản ứng liên kết trong mỗi phản ứng là giống nhau, bao gồm nhiệt độ bằng 25°C, tỷ lệ mol của trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn so với các monome nucleosit là 1:10, tỷ lệ mol của trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn so với tác nhân liên kết là 1:65, thời gian phản ứng là 600 giây, và dung dịch 0,5 M axetonitril chứa 5-ethylthio-1H-tetrazol (ETT) làm tác nhân liên kết.

Điều kiện của phản ứng tạo mũ trong mỗi bước là giống nhau, bao gồm nhiệt độ bằng 25°C, thời gian phản ứng là 15 giây, dung dịch hỗn hợp chứa Cap A và Cap B theo tỷ lệ mol là 1:1 làm dung dịch chất tạo mũ, và tỷ lệ mol của chất tạo mũ so với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn là 1:1:1 (axetic anhydrit: N-metylimidazol:

trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn).

Điều kiện của phản ứng oxy hóa trong mỗi bước là giống nhau, bao gồm nhiệt độ bằng 25°C, dung dịch phản ứng là 15 giây, và 0,05 M nước iot làm tác nhân oxy hóa; và tỷ lệ mol của iot so với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn trong bước liên kết là 30:1. Phản ứng được thực hiện trong dung môi hỗn hợp gồm tetrahydrofuran: nước: pyridin = 3:1:1.

Điều kiện của phản ứng lưu huỳnh hóa trong mỗi bước là giống nhau, bao gồm nhiệt độ bằng 25°C, thời gian phản ứng là 300 giây, và xanthan hydrit làm tác nhân lưu huỳnh hóa và tỷ lệ mol của tác nhân lưu huỳnh hóa so với trình tự axit nucleic được liên kết với giá thể pha rắn trong bước liên kết là 120:1. Phản ứng được thực hiện trong dung môi hỗn hợp gồm axetonitril: pyridin = 1:1.

Sau khi liên kết của monome nucleosit cuối cùng được hoàn thành, trình tự axit nucleic được liên kết với giá đỡ pha rắn được lần lượt tách, khử bảo vệ, tinh chế, khử muối, và sau đó đông khô thu được sợi có nghĩa, trong đó:

Điều kiện để phân cắt và khử bảo vệ là như sau: bổ sung trình tự nucleotit được tổng hợp đã liên kết với giá thể vào 25% khối lượng dung dịch nước amoniac để phản ứng ở nhiệt độ 55°C trong 16 giờ, trong đó lượng dung dịch nước amoniac là 0,5 ml/ $\mu$ mol. Dịch lỏng được loại bỏ bằng cách lọc, và phần nổi được cô đặc đến khô trong chân không.

Các điều kiện để tinh chế và khử muối là như sau: tinh chế axit nucleic này thu được bằng cách sử dụng cột tinh chế sắc ký ion điều chế (Source 15Q) bằng rửa giải gradient NaCl. Cụ thể là, nước rửa giải A: 20 mM natri phosphat (pH 8.1), dung môi: nước/axetonitril = 9:1 (v/v); nước rửa giải B: 1,5, 20 mM natri phosphat (pH 8.1), dung môi: nước/axetonitril = 9:1 (v/v); gradient rửa giải: tỷ lệ của nước rửa giải A: nước rửa giải B = 100:0-50:50. Sản phẩm rửa giải được thu thập lại, gom lại và khử muối bằng cách sử dụng cột tinh chế sắc ký pha ngược. Điều kiện cụ thể bao gồm: sử dụng cột Sephadex để khử muối với Sephadex-G25 làm chất độn và rửa giải bằng nước khử ion.

Phương pháp phát hiện được mô tả như sau: tinh chế sợi có nghĩa nêu trên được xác định bằng sắc ký trao đổi ion (IEX-HPLC); và trọng lượng phân tử được phân tích bằng sắc ký lỏng-phép đo phổ khối (Sắc ký lỏng-khối phổ kế-LC-MS), với giá trị tính

toán là 7584,5 và giá trị đo được là 7584.0. Kết quả mà giá trị đo được là phù hợp với giá trị tính toán chỉ ra rằng sợi có nghĩa SS tiếp hợp với phân tử tiếp hợp L-9 ở đầu tận cùng 3' được tổng hợp.

### (1-3) Tổng hợp sợi đôi nghĩa của thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S

Sợi đôi nghĩa của thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S được tổng hợp bởi phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, bắt đầu các chu trình từ giá thể pha rắn phổ biến (UnyLinker™ loaded NittoPhase®HL Solid Supports, Kinovate Life Sciences Inc.). Các điều kiện phản ứng gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, oxy hóa hoặc lưu huỳnh hóa, phân cắt và khử bảo vệ, và tinh chế và khử muối trong phương pháp tổng hợp pha rắn là giống như các điều kiện được sử dụng để tổng hợp sợi có nghĩa. Sợi đôi nghĩa AS thu được bằng cách đông khô.

Tinh chế sợi đôi nghĩa được phát hiện bằng sắc ký trao đổi ion (IEX-HPLC); và trọng lượng phân tử của sợi đôi nghĩa được phân tích bằng sắc ký lỏng - phép đo phổ khối (LC-MS). Kết quả mà giá trị đo được phù hợp với giá trị tính toán chỉ ra rằng sợi đôi nghĩa AS có trình tự đích được tổng hợp.

### (1-4) Tổng hợp thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S

Đối với thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S, sợi có nghĩa và sợi đôi nghĩa tương ứng được hòa tan trong nước để tiêm thu được dung dịch chứa 40 mg/mL. Hai mạch này được trộn theo tỷ lệ tương đương mol, được gia nhiệt ở nhiệt độ 50°C trong 15 phút, làm nguội ở nhiệt độ trong phòng để tạo ra sản phẩm đã bắt cặp môi, và sau đó đông khô để thu được bột đông khô. Sau khi thể tiếp hợp được pha loãng đến nồng độ 0,2 mg/mL bằng nước siêu tinh khiết (thiết bị nước siêu tinh khiết Milli-Q, với suất điện trở là 18.2MΩ\*cm (25°C)), trọng lượng phân tử được xác định bằng sắc ký lỏng - phép đo phổ khối (LC-MS) (được mua từ Waters Corp., model: LCT Premier). Kết quả mà giá trị đo được phù hợp với giá trị tính toán chỉ ra rằng thể tiếp hợp siARN tổng hợp là trình tự axit nucleic sợi đôi đích được thiết kế với phân tử tiếp hợp L-9. Thể tiếp hợp siARN có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (403). SiARN có trình tự tương ứng với thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S như được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3 thể tiếp hợp siARN

| Ví dụ điều chế số | Thể tiếp hợp | Hướng trình tự 5'-3' | SEQ ID |
|-------------------|--------------|----------------------|--------|
|-------------------|--------------|----------------------|--------|

|                   |                 |               |                                                 | NO  |
|-------------------|-----------------|---------------|-------------------------------------------------|-----|
| Ví dụ điều chế 1  | L10-siFXIf1M1S  | sợi có nghĩa  | GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm        | 541 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm  | 542 |
| Ví dụ điều chế 2  | L10-siFXIa1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm        | 543 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PAmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm | 544 |
| Ví dụ điều chế 3  | L10-siFXIb1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm        | 545 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PAmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm | 546 |
| Ví dụ điều chế 4  | L10-siFXIc1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm        | 547 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PUmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm | 548 |
| Ví dụ điều chế 5  | L10-siFXId1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmUmUmUmAmUmGmUm        | 549 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PAmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm | 550 |
| Ví dụ điều chế 6  | L10-siFXIe1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmAmAmUmCmUmUmUm        | 551 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PAmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm | 552 |
| Ví dụ điều chế 7  | L10-siFXIg1M1SP | sợi có nghĩa  | AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmUmUmCmUmUmUmCmAm        | 553 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PUmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmCmCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm | 554 |
| Ví dụ điều chế 8  | L10-siFXIh1M1SP | sợi có nghĩa  | CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmUmAmAmAmCmUmAmUm        | 555 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PAmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmCmCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm | 556 |
| Ví dụ điều chế 9  | L10-siFXIi1M1S  | sợi có nghĩa  | GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm        | 557 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | UmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAfGmAfUmCmCmsAmsGm    | 558 |
| Ví dụ điều chế 10 | L10-siFXIi1M1SP | sợi có nghĩa  | GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmAmAmAmAmCmUmCmAm        | 559 |
|                   |                 | sợi đối nghĩa | PUmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmCmCmAfGmAfUmCmCmsAmsGm   | 560 |

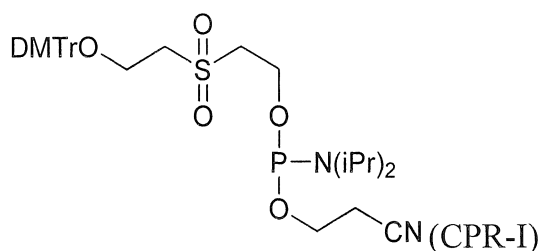
trong đó, C, G, U, và A là thành phần bazơ của nucleotit; m thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái m là nucleotit cải biến metoxy; f thể hiện rằng



nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái f là nucleotit cải biến flo; s thể hiện hai nucleotit liền kề với cả hai phía của chữ cái s được liên kết bằng liên kết thiophosphat; và P thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của chữ cái P là 5'-phosphat nucleotit.

### Ví dụ điều chế từ 2 đến 10: Tổng hợp thể tiếp hợp siARN theo sáng chế

Thể tiếp hợp siARN theo sáng chế: L10-siFXIa1M1SP, L10-siFXIb1M1SP, L10-siFXIc1M1SP, L10-siFXId1M1SP, L10-siFXIe1M1SP, L10-siFXIg1M1SP, L10-siFXIh1M1SP, L10-siFXIi1M1S và L10-siFXIi1M1SP (mà có các trình tự tương ứng với siFXIa1M1SP, siFXIb1M1SP, siFXIc1M1SP, siFXId1M1SP, siFXIe1M1SP, siFXIg1M1SP, siFXIh1M1SP, siFXIi1M1S và siFXIi1M1SP như được thể hiện tương ứng trong Bảng 3) được tổng hợp tiếp tương ứng bằng các phương pháp tương tự được tổng hợp tiếp tương ứng bằng các phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ điều chế 1, ngoại trừ là (1) các trình tự của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S được thay bằng các trình tự của sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của các thể tiếp hợp như được thể hiện tương ứng trong Bảng 3; và (2) đối với các thể tiếp hợp L10-siFXIa1M1SP, L10-siFXIb1M1SP, L10-siFXIc1M1SP, L10-siFXId1M1SP, L10-siFXIe1M1SP, L10-siFXIg1M1SP, L10-siFXIh1M1SP và L10-siFXIi1M1SP, nucleotit đầu tiên ở đầu tận cùng 5' của các sợi đối nghĩa của chúng là 5'-phosphat nucleotit; tương ứng, trong khi điều chế sợi đối nghĩa theo phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, sau khi liên kết của monome nucleosit cuối cùng, monome có công thức (CPR-I) (được mua từ Suzhou GenePharma Inc. as Cat#13-2601-XX) được liên kết với đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa bằng phản ứng bốn bước gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa, để tạo ra 5'-phosphat nucleotit.



Trong quá trình nối, các điều kiện gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa được sử dụng tương tự như các điều kiện được sử dụng trong tổng hợp sợi có nghĩa. Sau khi đã được nối hoàn toàn, trình tự này được tách, khử bảo vệ, tinh chế, khử muối, và cuối

cùng là đồng khô để thu được sợi đối nghĩa AS.

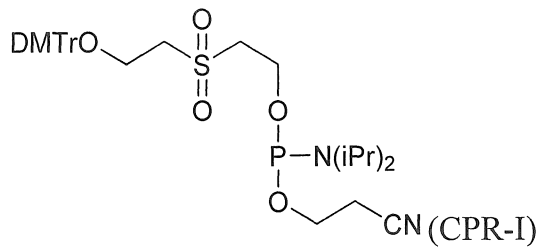
Sau khi thể tiếp hợp đã được điều chế, các trọng lượng phân tử của chúng được xác định bằng phương pháp tương tự tương ứng như trong Ví dụ điều chế 1. Các kết quả này cho thấy rằng các giá trị đo được là phù hợp với các giá trị tính toán, cho thấy rằng thể tiếp hợp siARN được tổng hợp là trình tự axit nucleic sợi đôi đích được thiết kế với phân tử tiếp hợp L-9 và có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (403). SiARNs chứa trong các thể tiếp hợp này có các trình tự tương ứng với các thể tiếp hợp L10-siFXIa1M1SP, L10-siFXIb1M1SP, L10-siFXIc1M1SP, L10-siFXId1M1SP, L10-siFXIe1M1SP, L10-siFXIf1M1SP, L10-siFXIg1M1SP, L10-siFXIh1M1SP, L10-siFXIi1M1S hoặc L10-siFXIi1M1SP như được thể hiện trong Bảng 3.

#### **Ví dụ điều chế từ 11 đến 20: Tổng hợp siARN theo sáng chế**

Các trình tự siARN như được liệt kê trong Bảng 4 được tổng hợp tương ứng bằng phương pháp tổng hợp pha rắn, và các trọng lượng phân tử của chúng được xác định. Các sợi có nghĩa và các sợi đối nghĩa, mà có mặt với tỷ lệ đẳng mol và bổ sung với sợi khác như được thể hiện trong Bảng 4, được hòa tan trong DEPC nước, và sau đó được gắn để thu được siARNs theo sáng chế: siFXIa1M1SP, siFXIb1M1SP, siFXIc1M1SP, siFXId1M1SP, siFXIe1M1SP, siFXIf1M1SP, siFXIg1M1SP, siFXIh1M1SP, siFXIi1M1SP, và siFXIe1, như được thể hiện trong Bảng 4.

Trong quá trình điều chế trình tự siFXIe1, trình tự đích chứa nucleotit không cải biến. Trong trường hợp này, dưới các điều kiện tách và khử bảo vệ, sau khi xử lý bằng dung dịch nước amoniac, sản phẩm này được hòa tan trong 0,4 ml/ $\mu$ mol N-methylpyrrolidon, sau đó bổ sung 0,3 ml/ $\mu$ mol triethylamin và 0,6 ml/ $\mu$ mol triethylamin trihydroflo, dựa trên khối lượng của axit nucleic sợi đơn, nhờ đó loại bỏ sự bảo vệ 2'-TBDMS trên ribosa.

Ngoài ra, trong trường hợp trong đó nucleotit đầu tiên ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa trong trình tự đích là 5'-phosphat nucleotit, trong khi điều chế sợi đối nghĩa theo phương pháp tổng hợp pha rắn phosphoramidit, sau khi liên kết của monome nucleosit cuối cùng trong sợi đối nghĩa, monome có công thức (CPR-I) (được mua từ Suzhou GenePharma Inc. as Cat#13-2601-XX) được liên kết với đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa bằng phản ứng bốn bước gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa, để tạo thành 5'-phosphat nucleotit.



Trong quá trình liên kết, các điều kiện gồm khử bảo vệ, liên kết, tạo mũ, và oxy hóa được sử dụng là điều kiện tương tự như điều kiện được sử dụng trong tổng hợp sợi có nghĩa. Sau khi được liên kết hoàn toàn, trình tự này được tách, khử bảo vệ, tinh chế, khử muối và cuối cùng là đông khô để thu được sợi đối nghĩa AS.

### Ví dụ điều chế so sánh 1: Tổng hợp siARN so sánh

Sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa của siARN được đánh số là NC trong bảng 4 được tổng hợp bằng phương pháp tổng hợp pha rắn, tương ứng, và các trọng lượng phân tử của chúng được xác định. Sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mà có mặt với tỷ lệ đẳng mol, được hòa tan trong DEPC nước và sau đó gắn để thu được siARN so sánh được đánh số là NC.

Bảng 4: Các trình tự siARN

| Ví dụ điều chế NO. | NO.          | Hướng trình tự 5'-3' |                                                 | SEQ ID NO |
|--------------------|--------------|----------------------|-------------------------------------------------|-----------|
| Ví dụ điều chế 11  | siFXIa1 M1SP | sợi có nghĩa         | GmsGmsGmUmAmUmUfCfUfUmUmCmAmAmGmCmAmAmUm        | 543       |
|                    |              | sợi đối nghĩa        | PAmsUfsUmGmCmUfUmGmAmAmAmGmAmAfUmAfCmCmCmsAmsGm | 544       |
| Ví dụ điều chế 12  | siFXIb1 M1SP | Sợi có nghĩa         | GmsGmsCmAmUmAmAfAfCfUmAmUmAmAmCmAmGmCmUm        | 545       |
|                    |              | sợi đối nghĩa        | PAmsGfsCmUmGmUfUmAmUmAmGmUmUmUfAmUfGmCmCmsCmsUm | 546       |
| Ví dụ điều chế 13  | siFXIc1 M1SP | sợi có nghĩa         | GmsCmsUmCmAmAmGfAfAfUmGmCmCmAmAmGmAmAmAm        | 547       |
|                    |              | sợi đối nghĩa        | PUmsUfsUmCmUmUfGmGmCmAmUmUmCmUfUmGfAmGmCmsAmsCm | 548       |
| Ví dụ điều chế 14  | siFXId1 M1SP | sợi có nghĩa         | GmsCmsAmAmCmAmAfAfGfAmCmAmmUmUmUmAmUmGmUm       | 549       |
|                    |              | sợi đối nghĩa        | PAmsCfsAmUmAmAfAmUmGmUmCmUmUmUfGmUfUmGmCmsAmsAm | 550       |
| Ví dụ điều chế 15  | siFXIe1 M1SP | sợi có nghĩa         | GmsAmsAmUmCmUmCfAfAfAmGmAmmAmAmUmCmUmUmUm       | 551       |
|                    |              | sợi đối nghĩa        | PAmsAfsAmGmAmUfUmUmCmUmUmUmGmAfGmAfUmUmCmsUmsUm | 552       |

|                          |                 |                  |                                                     |     |
|--------------------------|-----------------|------------------|-----------------------------------------------------|-----|
| Ví dụ điều chế 16        | siFXIf1<br>M1SP | sợi có<br>nghĩa  | GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmG<br>mGmAmUmUmCmUmGm        | 541 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | PCmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmU<br>mCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm | 542 |
| Ví dụ điều chế 17        | siFXIg1<br>M1SP | sợi có<br>nghĩa  | AmsUmsUmUmCmUmGfGfGfUmAmU<br>mUmCmUmUmUmCmAm        | 553 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | PUmsGfsAmAmAmGfAmAmUmAmC<br>mCmCmAfGmAfAmAmUmsCmsGm | 554 |
| Ví dụ điều chế 18        | siFXIh1<br>M1SP | sợi có<br>nghĩa  | CmsAmsUmGmAmAmGfGfGfCmAmU<br>mAmAmAmCmUmAmUm        | 555 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | PAmsUfsAmGmUmUfUmAmUmGmC<br>mCmCmUfUmCfAmUmGmsUmsCm | 556 |
| Ví dụ điều chế 19        | siFXIi1<br>M1SP | sợi có<br>nghĩa  | GmsGmsAmUmUmCmUfGfGfAmGmA<br>mAmAmAmCmUmCmAm        | 559 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | PUmsGfsAmGmUmUfUmUmCmUmC<br>mCmAmGfAmAfUmCmCmsAmsGm | 560 |
| Ví dụ điều chế 20        | siFXIe1         | sợi có<br>nghĩa  | GAAUCUCAAGAAAUCUUU                                  | 561 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | AAAGAUUUCUUUGAGAUUC                                 | 562 |
| Ví dụ điều chế so sánh 1 | NC              | sợi có<br>nghĩa  | UmsUmsCmUmCmCmGfAfAfCmGmU<br>mGmUmCmAmCmGmUm        | 563 |
|                          |                 | sợi đối<br>nghĩa | AmsCfsGmUmGmAfCmAmCmGmUm<br>UmCmGfGmAfGmAmAmsCmsUm  | 564 |

trong đó, C, G, U, và A represent thành phần bazơ của nucleotit; m thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái m là nucleotit cải biến metoxy; f thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên trái của chữ cái f là nucleotit cải biến flo; s thể hiện hai nucleotit liền kề với cả hai phía của chữ cái s được liên kết bằng liên kết thiophosphat; và P thể hiện rằng nucleotit liền kề với phía bên phải của chữ cái P là 5' -phosphat nucleotit.

Sau khi các siARN hoặc thể tiếp hợp trên đây theo sáng chế được điều chế hoàn chỉnh, chúng được đông khô thành bột chất rắn và được bảo quản đến khi sử dụng. Khi sử dụng, chúng được hoàn nguyên bằng nước để tiêm, nước muối thông thường (NS), đệm phosphat (PB) hoặc đệm muối phosphat (PBS) thành dung dịch ở nồng độ mong muốn.

### Ví dụ thí nghiệm 1: Hoạt tính ức chế *in vitro* siARN theo sáng chế

Các tế bào HEK293A (được mua từ Nanjing Cobioer Biosciences Co., LTD) được nuôi cấy trong môi trường hoàn chỉnh DMEM (Hyclone company) chứa 10% huyết thanh

thai bò (FBS, Hyclone company), và 0,2% thể tích Penicillin-Streptomycin (Gibco, Invitrogen company) ở 37°C trong thiết bị ủ chứa 5% CO<sub>2</sub>/95% không khí.

Theo phương pháp được mô tả bởi by Kumico Ui-Tei et. al., Functional dissection of siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced off-target effect. Nucleic Acids Research, 2008.36(7), 2136-2151, plasmit để phát hiện được xây dựng và đồng chuyển nhiễm với siARN (siFXIe1) được đánh giá vào trong tế bào HEK293A; và hoạt tính ức chế của siARN được phản ánh bằng mức biểu hiện của gen thông báo luxiferaza kép. Các bước cụ thể là như sau:

#### [1] Xây dựng plasmit để phát hiện

Plasmit để phát hiện được xây dựng sử dụng plasmit psiCHECK<sup>TM</sup>-2 (Promega<sup>TM</sup>). Plasmit này chứa trình tự đích, nghĩa là, trình tự đích siARN. SiARN để phát hiện có trình tự đích được thể hiện dưới đây. Cụ thể là, siFXIe1 (được điều chế từ Ví dụ điều chế 20) có trình tự đích sau:

GAATCTCAAAGAAATCTTT (SEQ ID NO: 565).

Trình tự đích được tách dòng vào trong vị trí Xho I/Not I của plasmit psiCHECK<sup>TM</sup>-2.

#### [2] Chuyển nhiễm

Các tế bào HEK293A được cấy vào đĩa có 96 lỗ ở mật độ  $8 \times 10^3$  tế bào/lỗ. Sau 16 giờ, mật độ phát triển tế bào đạt tới mức nằm trong khoảng từ 70 đến 80%. Tại thời điểm đó, môi trường đầy đủ H-DMEM trong các lỗ nuôi cấy được hút ra. Bổ sung 80 µl môi trường Opti-MEM (GIBCO company) vào mỗi lỗ và được nuôi cấy tiếp trong 1,5 h.

Plasmit để phát hiện trên đây được pha loãng bằng nước xử lý DEPC thu được dung dịch hoạt động 200 ng/µl với plasmit để phát hiện; siFXIe1 được điều chế bằng nước xử lý DEPC thành dung dịch hoạt động siARN ở nồng độ tương ứng là 10 nM và 3 nM (dựa trên khối lượng của siARN),.

Dung dịch 1A1 được điều chế. Mỗi phần của dung dịch 1A1 chứa 1 µl dung dịch hoạt động siARN ở nồng độ 10 nM, 0,05 µl dung dịch hoạt động có plasmit để phát hiện (chứa 10 ng plasmit để phát hiện) và 10 µl môi trường Opti-MEM.

Dung dịch 1A2 được điều chế. Mỗi phần của dung dịch 1A2 chứa 1 µl dung dịch

hoạt động siARN ở nồng độ 3 nM, 0,05  $\mu$ l dung dịch hoạt động có plasmid để phát hiện (chứa 10 ng plasmid để phát hiện) và 10  $\mu$ l môi trường Opti-MEM.

Dung dịch 1B được điều chế. Mỗi phần của dung dịch 1B chứa 0,2  $\mu$ l Lipofectamin™ 2000 và 10  $\mu$ l môi trường Opti-MEM.

Dung dịch 1C được điều chế. Mỗi phần của dung dịch 1C chứa 0,05  $\mu$ l dung dịch hoạt động có plasmid để phát hiện (chứa 10 ng plasmid để phát hiện) và 10  $\mu$ l môi trường Opti-MEM

Một phần của dung dịch 1B được trộn tương ứng với một phần của dung dịch 1A1 hoặc một phần của dung dịch 1A2. Dung dịch hỗn hợp được ủ trong 20 min ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành phức hệ chuyển nhiễm 1X1 và 1X2. Một phần của dung dịch 1B được trộn với một phần của dung dịch 1C, và dung dịch hỗn hợp được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành phức hệ chuyển nhiễm 1X3.

Phức hệ chuyển nhiễm 1X1 được bổ sung với khối lượng 20  $\mu$ l/lỗ với ba lỗ nuôi cấy, tương ứng, và sau đó trộn đồng đều thu được hỗn hợp đồng chuyển nhiễm có nồng độ siARN cuối cùng là 0,1 nM (được ghi là nhóm thử nghiệm 1).

Phức hệ chuyển nhiễm 1X2 được bổ sung với khối lượng 20  $\mu$ l/lỗ tương ứng vào ba lỗ nuôi cấy bổ sung, và sau đó trộn đồng đều thu được hỗn hợp đồng chuyển nhiễm có nồng độ siARN cuối cùng là 0,03 nM (được ghi là nhóm thử nghiệm 2).

Phức hệ chuyển nhiễm 1X3 được bổ sung với khối lượng 20  $\mu$ l/lỗ tương ứng vào ba lỗ nuôi cấy bổ sung, thu được hỗn hợp chuyển nhiễm không chứa siARN (được ghi là nhóm đối chứng).

Sau khi các hỗn hợp đồng chuyển nhiễm chứa siARN và hỗn hợp chuyển nhiễm không chứa siARN được đồng chuyển nhiễm trong các lỗ nuôi cấy trong 4 giờ, mỗi lỗ được bổ sung 100  $\mu$ l môi trường hoàn chỉnh H-DMEM chứa 20% FBS. Đặt đĩa 96 lỗ trong thiết bị ủ CO<sub>2</sub> và nuôi cấy tiếp trong 24 giờ.

### [3] Phát hiện

Môi trường trong các lỗ nuôi cấy được hút ra. 150  $\mu$ l dung dịch hỗn hợp chứa chất phản ứng Dual-Glo® Luciferaza và H-DMEM (theo tỷ lệ thể tích là 1:1) được bổ sung vào mỗi lỗ, và trộn kỹ. Sau khi ủ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, 120  $\mu$ l dung dịch hỗn hợp này được chuyển nhiễm vào đĩa ELISA 96 lỗ. Giá trị phát quang hóa học của

Firefly (Fir) trong mỗi lỗ của đĩa ELISA được đọc sử dụng máy đọc vi đĩa đa phương thức Synergy II (BioTek company). Sau đó, 60 µl chất phản ứng Dual-Glo® Stop & Glo® được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa ELISA, và trộn kỹ. Sau khi ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, giá trị phát quang hóa học của Renilla (Ren) trong mỗi lỗ của đĩa ELISA được đọc sử dụng máy đọc vi đĩa theo sự sắp xếp để đọc Fir.

Tỷ lệ phát quang hóa học (Ratio = Ren/Fir) của mỗi lỗ được tính toán, và tỷ lệ phát quang hóa học ((Tỷ lệ (thử nghiệm) hoặc Tỷ lệ (đối chứng)) của mỗi nhóm thử nghiệm hoặc nhóm đối chứng là giá trị trung bình của các tỷ lệ của ba lỗ nuôi cấy. Sử dụng tỷ lệ phát quang hóa học của nhóm đối chứng là giá trị tham chiếu, tỷ lệ phát quang hóa học của mỗi nhóm thử nghiệm được bình thường hóa để thu được tỷ lệ R của Tỷ lệ (thử nghiệm)/Tỷ lệ (đối chứng), thể hiện mức biểu hiện, nghĩa là, hoạt tính còn dư, của gen thông báo *Renilla*. Tỷ lệ ức chế của siARN là  $(1-R) \times 100\%$ .

Các kết quả hoạt tính ức chế của siFXIe1 ở các nồng độ khác nhau kháng lại trình tự đích là như được thể hiện trong Bảng 5.

#### Ví dụ thí nghiệm so sánh 1: Hoạt tính ức chế *in vitro* siARN so sánh NC

Hoạt tính ức chế của siARN so sánh NC trong hệ thống psiCHECK được kiểm tra bằng phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 1 ngoại trừ là siARN được thử nghiệm được thay thế bằng siARN so sánh NC. Các kết quả là như được thể hiện trong Bảng 5.

Bảng 5 Tỷ lệ ức chế kháng lại trình tự đích

| Ví dụ điều chế No.       | NO.     | Tỷ lệ ức chế (%) kháng lại trình tự đích |         |
|--------------------------|---------|------------------------------------------|---------|
|                          |         | 0,1 nM                                   | 0,03 nM |
| Ví dụ điều chế 20        | siFXIe1 | 72,43                                    | 35,75   |
| Ví dụ điều chế so sánh 1 | NC      | -3,64                                    | 8,91    |

Các kết quả này chỉ ra rằng siFXIe1 thể hiện hoạt tính ức chế phụ thuộc nồng độ tốt *in vitro* kháng lại trình tự đích ở nồng độ tương ứng. Cụ thể là, tỷ lệ ức chế của siFXIe1 kháng lại trình tự đích ở nồng độ siARN là 0,1 nM là 72,43%, thể hiện hiệu quả ức chế tốt sự biểu hiện của gen FXI.

#### Ví dụ thí nghiệm 2: Đo IC<sub>50</sub> của các trình tự siARN kháng lại mRNA FXI trong hệ thống psiCHECK

Trong ví dụ thí nghiệm này, các giá trị  $IC_{50}$  của siFXIa1M1SP, siFXIb1M1SP, siFXIc1M1SP, siFXId1M1SP, siFXIe1M1SP và siFXIi1M1SP trong hệ thống psiCHECK *in vitro* được kiểm tra.

Theo phương pháp được mô tả bởi by Kumico Ui-Tei et. al., Functional dissection của siRNA sequence by systematic DNA substitution: modified siRNA with a DNA seed arm is a powerful tool for mammalian gene silencing with significantly reduced off-target effect. Nucleic Acids Research, 2008.36(7), 2136-2151, các plasmid để phát hiện được xây dựng và được đồng chuyển nhiễm với siARNs cần được phát hiện vào trong các tế bào HepG2; và hoạt tính trên đích và hoạt tính ngoài đích của siARN được phản ánh bằng các mức biểu hiện của gen thông báo luxiferaza kép. Các bước cụ thể là như sau:

[1] Xây dựng plasmid để phát hiện

Plasmid để phát hiện được xây dựng sử dụng plasmid psiCHECK<sup>TM</sup>-2 (Promega<sup>TM</sup>). Plasmid này chứa trình tự đích, là trình tự như được thể hiện trong Genbank Accession No. NM\_000128.3.

Trình tự đích được tách dòng vào trong vị trí Xho I/Not I của plasmid psiCHECK<sup>TM</sup>-2.

[2] Chuyển nhiễm và nuôi cấy tế bào

Các tế bào HepG2 (được mua từ GuangZhou Jennio Biotech Co., Ltd) được nuôi cấy trong môi trường hoàn chỉnh DMEM (Hyclone company) chứa 20% huyết thanh thai bò (FBS, Hyclone company), và 0,2% thể tích Penicillin-Streptomycin (Gibco, Invitrogen company) ở 37°C trong thiết bị ủ chứa 5% CO<sub>2</sub>/95% không khí.

Các tế bào HepG2 được cấy vào đĩa có 96 lỗ ở mật độ  $8 \times 10^3$  tế bào/lỗ. Sau 16 giờ, mật độ phát triển tế bào đạt tới mức nằm trong khoảng từ 70 đến 80%. Tại thời điểm đó, môi trường đầy đủ H-DMEM trong các lỗ nuôi cấy được hút ra. 80 µl môi trường Opti-MEM (GIBCO company) được bổ sung vào mỗi lỗ và nuôi cấy tiếp trong 1,5 giờ.

Plasmid để phát hiện trên được pha loãng bằng nước xử lý DEPC thu được dung dịch hoạt động 200 ng/µl với plasmid để phát hiện; mỗi trong số siARN sau được điều chế bằng nước xử lý DEPC thành các dung dịch hoạt động siARN ở 10 nồng độ khác nhau tương ứng là 100 nM, 33,3 nM, 11,1 nM, 3,70 nM, 1,23 nM, 4,12 nM, 0,137 nM, 0,0457 nM, 0,0152 nM và 0,00508 nM. SiARN được sử dụng tương ứng là



siFXIa1M1SP, siFXIb1M1SP, siFXIc1M1SP, siFXId1M1SP, siFXIe1M1SP và siFXIi1M1SP.

Đối với mỗi siARN, các dung dịch từ 2A1 đến 2A10 được điều chế tương ứng. Mỗi phần của các dung dịch từ 2A1 đến 2A10 chứa 1  $\mu$ l của mỗi dung dịch hoạt động siARN ở trên 10 nồng độ, 0,05  $\mu$ l dung dịch hoạt động có plasmid để phát hiện (chứa 10 ng plasmid để phát hiện) và 10  $\mu$ l môi trường Opti-MEM.

Một phần của dung dịch 1B được trộn với một phần của dung dịch từ 2A1 đến 2A10 thu được tương ứng trong mỗi siARN. Dung dịch hỗn hợp được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành các phức hệ chuyển nhiễm từ 2X1 đến 2X10 cho mỗi siARN.

Phức hệ chuyển nhiễm từ 2X1 đến 2X10 cho mỗi siARN được bổ sung với khối lượng 20  $\mu$ l/lỗ vào các lỗ nuôi cấy tương ứng, và sau đó trộn đồng đều thu được các phức hệ chuyển nhiễm ở nồng độ cuối cùng là khoảng 1 nM, 0,333 nM, 0,111 nM, 0,0370 nM, 0,0123 nM, 0,00412 nM, 0,00137 nM, 0,000457 nM, 0,000152 nM, và 0,0000508 nM cho mỗi siARN. Phức hệ chuyển nhiễm từ 2X1 đến 2X10 cho mỗi siARN được chuyển nhiễm tương ứng trong ba dịch nuôi cấy tế bào thu được hỗn hợp đồng chuyển nhiễm chứa siARN (được ghi là các nhóm thử nghiệm).

Phức hệ chuyển nhiễm 1X3 được bổ sung với khối lượng 20  $\mu$ l/lỗ tương ứng vào ba lỗ nuôi cấy bổ sung, thu được hỗn hợp đồng chuyển nhiễm không chứa siARN (được ghi là nhóm đối chứng).

Sau khi hỗn hợp đồng chuyển nhiễm chứa siARN và hỗn hợp đồng chuyển nhiễm không chứa siARN được chuyển nhiễm trong các lỗ nuôi cấy trong 4 giờ, mỗi lỗ được bổ sung 100  $\mu$ l môi trường hoàn chỉnh H-DMEM chứa 20% FBS. Đặt đĩa 96 lỗ trong thiết bị ủ CO<sub>2</sub> và nuôi cấy tiếp trong 24 giờ.

### [3] Phát hiện

Môi trường trong các lỗ nuôi cấy được hút ra. 150  $\mu$ l dung dịch hỗn hợp chứa chất phản ứng Dual-Glo<sup>®</sup> Luxiferaza và H-DMEM (theo tỷ lệ thể tích là 1:1) được bổ sung vào mỗi lỗ, và trộn kỹ. Sau khi ủ trong 10 phút ở nhiệt độ trong phòng, 120  $\mu$ l dung dịch hỗn hợp này được chuyển nhiễm vào đĩa ELISA 96 lỗ. Giá trị phát quang hóa học của Firefly (Fir) trong mỗi lỗ của đĩa ELISA được đọc sử dụng máy đọc vi đĩa đa phương

thức Synergy II (BioTek company). Sau đó, 60 µl chất phản ứng Dual-Glo® Stop & Glo® được bổ sung vào mỗi lỗ của đĩa ELISA, và trộn kỹ. Sau khi ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 10 phút, giá trị phát quang hóa học của Renilla (Ren) trong mỗi lỗ của đĩa ELISA được đọc sử dụng máy đọc vi đĩa theo sự sắp xếp để đọc Fir.

Tỷ lệ phát quang hóa học (Tỷ lệ = Ren/Fir) của mỗi lỗ được tính toán, và tỷ lệ phát quang hóa học ((Tỷ lệ (thử nghiệm) hoặc Tỷ lệ (đối chứng)) của mỗi nhóm thử nghiệm hoặc nhóm đối chứng là giá trị trung bình của các Tỷ lệ của ba lỗ nuôi cấy. Sử dụng tỷ lệ phát quang hóa học của nhóm đối chứng là giá trị tham chiếu, tỷ lệ phát quang hóa học của mỗi nhóm thử nghiệm được bình thường hóa để thu được tỷ lệ R của Tỷ lệ (thử nghiệm)/Tỷ lệ (đối chứng), thể hiện mức biểu hiện, nghĩa là, hoạt tính còn dư, của gen thông báo Renilla. Tỷ lệ ức chế của siARN là  $(1-R) \times 100\%$ .

Đường cong đáp ứng liều dùng được điều chỉnh sử dụng hàm log(chất ức chế) với độ dốc đường cong—Biến số của phần mềm Graphpad 5.0. Các giá trị IC<sub>50</sub> của GSCM đích siARN được tính toán dựa trên đường cong đáp ứng liều. Cụ thể là, đường cong đáp ứng liều được điều chỉnh theo công thức dưới đây:

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

trong đó:

Y là tỷ lệ R, nghĩa là, hoạt tính còn dư,

X là logarit của nồng độ của các siARN đã chuyển nhiễm,

Bot là giá trị Y ở đáy của giai đoạn đều đặn,

Top là giá trị Y ở đỉnh của giai đoạn đều đặn,

X' là giá trị X thu được bằng cách điều chỉnh tại Y là giá trị trung bình giữa đáy và đỉnh, và HillSlope là độ dốc của đường cong bằng cách điều chỉnh ở X'.

Khi Y=50% giá trị X<sub>50</sub> tương ứng được xác định dựa trên đường cong đáp ứng liều và công thức tính toán tương ứng. Giá trị IC<sub>50</sub> của mỗi siARN được tính toán là  $10^{X_{50}}$ .

Các giá trị IC<sub>50</sub> cụ thể được tóm tắt trong Bảng 6.

Bảng 6 Các giá trị IC<sub>50</sub> của siARN

| Ví dụ điều chế No. | siARN NO.   | IC <sub>50</sub> |
|--------------------|-------------|------------------|
| Ví dụ điều chế 11  | siFXIa1M1SP | 0,024 nM         |
| Ví dụ điều chế 12  | siFXIb1M1SP | 0,078 nM         |
| Ví dụ điều chế 13  | siFXIc1M1SP | 0,119 nM         |
| Ví dụ điều chế 14  | siFXId1M1SP | 0,071 nM         |
| Ví dụ điều chế 15  | siFXIe1M1SP | 0,013 nM         |
| Ví dụ điều chế 19  | siFXIi1M1SP | 0,041 nM         |

Như có thể được nhìn thấy từ các kết quả của Bảng 6 trên đây, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế rất cao kháng lại trình tự đích 1 *in vitro* trong tế bào HepG2, với giá trị IC<sub>50</sub> nằm trong khoảng từ 0,013 đến 0,119 nM.

### **Ví dụ thí nghiệm 3: Đo IC<sub>50</sub> của siARN kháng lại mRNA FXI trong tế bào HepG2**

Các tế bào HepG2 được cấy vào đĩa có 24 lỗ ở mật độ  $7 \times 10^4$  tế bào/lỗ. Sau 16 giờ, mật độ phát triển tế bào đạt tới mức nằm trong khoảng từ 70 đến 80%. Tại thời điểm đó, môi trường đầy đủ H-DMEM trong các lỗ nuôi cấy được hút ra. 500 µl môi trường Opti-MEM (GIBCO company) được bổ sung vào mỗi lỗ và nuôi cấy tiếp trong 1,5 giờ.

Mỗi siARN sau được điều chế bằng nước xử lý DEPC thành dung dịch hoạt động siARN ở 7 nồng độ khác nhau tương ứng là 20 µM, 6,67 µM, 2,22 µM, 0,741 µM, 0,247 µM, 0,0823 µM và 0,0274 µM, siARN được sử dụng tương ứng là siFXIa1M1SP, siFXIb1M1SP, siFXIc1M1SP hoặc siFXId1M1SP.

Đối với mỗi siARN, các dung dịch từ 3A1 đến 3A7 tương ứng được điều chế. Mỗi phần của các dung dịch từ 3A1 đến 3A7 chứa, lần lượt, 3 µl mỗi dung dịch hoạt động siARN ở trên 7 nồng độ và 50 µl môi trường Opti-MEM.

Dung dịch 3B được điều chế. Mỗi phần của dung dịch 3B chứa 1 µl Lipofectamin<sup>TM</sup>2000 và 50 µl môi trường Opti-MEM.

Một phần của dung dịch 3B được trộn với một phần của dung dịch từ 3A1 đến 3A7 thu được tương ứng cho mỗi siARN. Dung dịch hỗn hợp được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành phức hệ chuyển nhiễm từ 3X1 đến 3X7 cho mỗi siARN.

Một phần của dung dịch 3B được trộn 50 µl môi trường Opti-MEM. Dung dịch

hỗn hợp được ủ trong 20 phút ở nhiệt độ trong phòng để tạo thành phức hệ chuyển nhiễm 3X8.

Phức hệ chuyển nhiễm từ 3X1 đến 3X7 cho mỗi siARN được bổ sung với khối lượng 100  $\mu$ l/lỗ vào các lỗ nuôi cấy tương ứng, và sau đó trộn đồng đều thu được các hỗn hợp chuyển nhiễm ở nồng độ cuối cùng là khoảng 100 nM, 33,3 nM, 11,1 nM, 3,70 nM, 1,23 nM, 0,412 nM, và 0,137 nM cho mỗi siARN. Phức hệ chuyển nhiễm từ 3X1 đến 3X7 cho mỗi siRNA được chuyển nhiễm tương ứng trong ba dịch nuôi cấy tế bào để thu được siARN-chứa các hỗn hợp chuyển nhiễm (được ghi là các nhóm thử nghiệm).

Phức hệ chuyển nhiễm 3X8 được bổ sung với khối lượng 100  $\mu$ l/lỗ tương ứng vào ba lỗ nuôi cấy bổ sung, thu được hỗn hợp chuyển nhiễm không chứa siARN (được ghi là nhóm đối chứng).

Sau khi các hỗn hợp chuyển nhiễm chứa-siARN và hỗn hợp chuyển nhiễm không chứa siARN được chuyển nhiễm vào các lỗ nuôi cấy trong 4 giờ, mỗi lỗ được bổ sung 1 ml môi trường hoàn chỉnh H-DMEM chứa 20% FBS. Đĩa 24-lỗ được đặt trong thiết bị ủ  $\text{CO}_2$  và nuôi cấy tiếp trong 24 giờ.

Sau đó, ARN tổng số trong các tế bào của mỗi lỗ được chiết bằng cách sử dụng RNAVzol (được mua từ Vigorous Biotechnology Beijing Co., Ltd., Cat. No. N002) theo các bước chi tiết được mô tả trong hướng dẫn sử dụng.

Đối với các tế bào của mỗi lỗ, 1  $\mu$ g ARN tổng số được lấy ra, và chất phản ứng được cung cấp trong kit phiên mã ngược Goldenstar<sup>TM</sup> RT6 cDNA Synthesis Kit (được mua từ Beijing Tsingke Biotechnology Co., Ltd., Cat. No. TSK301M), trong đó Goldenstar<sup>TM</sup> Oligo (dT)<sub>17</sub> được chọn là môi. 20  $\mu$ l hệ thống phản ứng phiên mã ngược được điều chế theo quy trình phiên mã ngược trong hướng dẫn sử dụng kit để phiên mã ngược ARN tổng số của mỗi tế bào trong mỗi lỗ. Các điều kiện cho phiên mã ngược là như sau: mỗi hệ thống phản ứng phiên mã ngược được đặt và ủ ở 50°C trong 50 phút, sau đó ủ ở 85°C trong 5 phút, và cuối cùng ủ ở 4°C trong 30 giây; sau khi phản ứng được hoàn thành, 80  $\mu$ l nước DEPC được bổ sung vào mỗi hệ thống phản ứng phiên mã ngược để thu được dung dịch chứa cADN.

Đối với mỗi hệ thống phản ứng phiên mã ngược, 5  $\mu$ l của dung dịch cADN được đề cập trên được lấy làm khuôn, và chất phản ứng được cung cấp trong kit NovoStart<sup>®</sup>

SYBR qPCR SuperMix Plus (được mua từ Novoprotein Scientific Co., Ltd., Cat. No. E096-01B) được sử dụng để điều chế 20  $\mu$ l hệ thống phản ứng qPCR, trong đó các trình tự của các mồi PCR được sử dụng để khuếch đại gen đích FXI và gen tham chiếu nội bộ GAPDH là như được thể hiện trong Bảng 7, và nồng độ cuối cùng của mỗi mồi là 0,25  $\mu$ M. Mỗi hệ thống phản ứng qPCR được đặt trên thiết bị PCR thời gian thực ABI StepOnePlus, và được khuếch đại sử dụng phương pháp ba bước. Các quy trình khuếch đại là biến tính sơ bộ ở 95°C trong 10 phút, sau đó biến tính ở 95°C trong 30 s, và gắn mồi ở 60°C trong 30 s, và kéo dài ở 72°C trong 30 s. Sau khi lặp lại các quy trình nêu trên bao gồm biến tính, gắn mồi, và kéo dài 40 lần, sản phẩm W chứa gen đích được khuếch đại FXI và gen tham chiếu nội bộ GAPDH thu được. Sản phẩm W sau đó ủ ở 95°C trong 15 s, 60°C trong 1 phút, và 95°C trong 15 s. Các đường cong nóng chảy của gen đích FXI và gen tham chiếu nội bộ GAPDH trong sản phẩm W được thu lại tương ứng sử dụng thiết bị qPCR huỳnh quang thời gian thực, và các giá trị Ct của gen đích FXI và gen tham chiếu nội bộ GAPDH thu được.

Bảng 7: Các trình tự của mồi để phát hiện

| Gen             | Mồi theo hướng 5' (theo hướng 5'-3')    | Mồi theo hướng 3' (theo hướng 5'-3')       |
|-----------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|
| FXI<br>người    | TCACGGCGGAATCACCATC<br>(SEQ ID NO: 566) | TGTCCTATTCACTCTTGGCAGT<br>(SEQ ID NO: 567) |
| GAPD<br>H người | GGTCGGAGTCAACGGATTT<br>(SEQ ID NO: 568) | CCAGCATCGCCCCACTTGA<br>(SEQ ID NO: 569)    |

Mức biểu hiện tương đối của gen đích FXI trong mỗi nhóm thử nghiệm và nhóm đối chứng được tính toán định lượng bằng phương pháp Ct ( $\Delta\Delta$ Ct) so sánh. Phương pháp tính toán được mô tả như sau:

$\Delta$ Ct (nhóm thử nghiệm) = Ct (gen đích trong nhóm thử nghiệm) – Ct (gen tham chiếu nội bộ trong nhóm thử nghiệm)

$\Delta$ Ct (nhóm đối chứng) = Ct (gen đích trong nhóm đối chứng) – Ct (gen tham chiếu nội bộ trong nhóm đối chứng)

$\Delta\Delta$ Ct (nhóm thử nghiệm) =  $\Delta$ Ct (nhóm thử nghiệm) –  $\Delta$ Ct (giá trị trung bình trong nhóm đối chứng)

$\Delta\Delta$ Ct (nhóm đối chứng) =  $\Delta$ Ct (nhóm đối chứng) –  $\Delta$ Ct (giá trị trung bình trong

nhóm đối chứng)

trong đó,  $\Delta Ct$  (giá trị trung bình trong nhóm đối chứng) là giá trị trung bình cộng của  $\Delta Ct$  (nhóm đối chứng) của một trong số ba lỗ nuôi cấy trong nhóm đối chứng. Do đó, mỗi lỗ nuôi cấy trong nhóm thử nghiệm hoặc nhóm đối chứng tương ứng với một giá trị  $\Delta\Delta Ct$ .

Mức biểu hiện của mARN FXI trong các nhóm thử nghiệm được bình thường hóa dựa trên mức biểu hiện trong nhóm đối chứng, trong đó mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng được xác định là 100%;

Mức biểu hiện tương đối của mARN FXI trong nhóm thử nghiệm =  $2^{-\Delta\Delta Ct(\text{nhóm thử nghiệm})} \times 100\%$ .

Đối với siARN trong nhóm thử nghiệm tương tự, giá trị trung bình của các mức biểu hiện tương đối của mARN FXI in nhóm thử nghiệm ở mỗi nồng độ là giá trị trung bình của các mức biểu hiện tương đối của ba lỗ nuôi cấy ở nồng độ này.

Đường cong đáp ứng liều dùng được điều chỉnh sử dụng hàm log(chất ức chế) so với độ dốc đáp ứng-biến số của phần mềm Graphpad 5.0. Các giá trị  $IC_{50}$  của mỗi siARN kháng lại mARN FXI được tính toán dựa trên đường cong đáp ứng liều. Cụ thể là, đường cong đáp ứng liều dùng thu được bằng cách điều chỉnh theo công thức dưới đây:

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

trong đó:

Y là mức biểu hiện tương đối của mARN FXI trong mỗi nhóm thử nghiệm,

X là loga của nồng độ cuối cùng của siARN được sử dụng trong nhóm thử nghiệm tương ứng,

Bot là giá trị Y ở đáy của giai đoạn đều đặn,

Top là giá trị Y ở đỉnh của giai đoạn đều đặn,

$X'$  là giá trị X thu được bằng cách điều chỉnh tại Y là giá trị trung bình giữa đáy và đỉnh, và HillSlope là độ dốc của đường cong thu được bằng cách điều chỉnh ở  $X'$ .

Khi  $Y=50\%$  giá trị  $X_{50}$  tương ứng được xác định dựa trên đường cong đáp ứng liều và công thức tính toán tương ứng. Giá trị  $IC_{50}$  của mỗi siARN được tính toán là  $10^{X_{50}}$  (nM).

Các giá trị  $IC_{50}$  của mỗi siARN kháng lại mARN FXI được tóm tắt trong Bảng 8.

Bảng 8: Các giá trị  $IC_{50}$  của siARN kháng lại mARN FXI

| Ví dụ điều chế No. | NO.         | $IC_{50}$ |
|--------------------|-------------|-----------|
| Ví dụ điều chế 2   | siFXIa1M1SP | 6,18 nM   |
| Ví dụ điều chế 3   | siFXIb1M1SP | 7,54 nM   |
| Ví dụ điều chế 4   | siFXIc1M1SP | 11,1 nM   |
| Ví dụ điều chế 5   | siFXId1M1SP | 1,49 nM   |

Như có thể được nhìn thấy từ bảng 8, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế rất cao kháng lại mARN FXI *in vitro* trong dòng tế bào HepG2, với giá trị  $IC_{50}$  nằm trong khoảng từ 1,49 đến 11,1 nM.

#### **Ví dụ thí nghiệm 4: Đo $IC_{50}$ của siARN kháng lại mARN FXI trong tế bào gan sơ cấp của chuột**

Tế bào gan sơ cấp của chuột được chiết từ mô gan sạch của chuột C57BL/6N bình thường. Tế bào gan với mật độ thích hợp được cấy trong cốc được phủ Collagen Typ I, lá đáy bằng nhựa hoặc đĩa nuôi cấy mô, được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1460 chứa 1×kháng thể kếp và 10% FBS, và được nuôi cấy tiếp trong thiết bị ủ chứa 5%  $CO_2$ /95% không khí ở 37°C trong 30 phút.

Hoạt tính ức chế và giá trị  $IC_{50}$  của siARN kháng lại mARN FXI được đo bằng các phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 3 ngoại trừ rằng siARN cần được phát hiện là siFXIf1M1SP; các tế bào được sử dụng là tế bào gan sơ cấp của chuột; và nồng độ siARN cuối cùng được bao gồm tổng cộng 8 nồng độ tương ứng (100 nM, 25 nM, 6,25 nM, 1,56 nM, 0,391 nM, 0,098 nM, 0,0244 nM, và  $6,1 \times 10^{-3}$  nM). Các kết quả này là như được thể hiện trong Bảng 9.

Bảng 9:  $IC_{50}$  của siRNA kháng lại mARN FXI

| Ví dụ điều chế No. | NO.         | $IC_{50}$ |
|--------------------|-------------|-----------|
| Ví dụ điều chế 7   | siFXIf1M1SP | 0,021 nM  |

Như có thể được nhìn thấy từ bảng 9, siFXIf1M1SP thể hiện hoạt tính ức chế rất cao kháng lại mARN FXI *in vitro* trong tế bào gan sơ cấp của chuột, với giá trị  $IC_{50}$  là

0,021 nM.

**Ví dụ thí nghiệm 5: Phát hiện hiệu quả ức chế của siARN kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI trong tế bào HepG2**

Tỷ lệ ức chế của các siARN kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI được đo bằng phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 3 ngoại trừ là siARN được sử dụng là siFXI<sub>g1</sub>M1SP và siFXI<sub>h1</sub>M1SP; cho mỗi siARN, nồng độ siARN cuối cùng được đưa bao gồm tổng cộng tương ứng là 3 nồng độ (50 nM, 5 nM và 0,5 nM); và 2 lỗ nuôi cấy được sử dụng ở mỗi nồng độ. Các kết quả là như được thể hiện trong Bảng 10.

Bảng 10: Tỷ lệ ức chế của siARN ở các nồng độ khác nhau kháng lại mARN FXI

| Ví dụ điều chế No. | NO.                      | Tỷ lệ ức chế (%) kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI |      |        |
|--------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------|------|--------|
|                    |                          | 50 nM                                                 | 5 nM | 0,5 nM |
| Ví dụ điều chế 8   | siFXI <sub>g1</sub> M1SP | 78,0                                                  | 67,0 | 66,4   |
| Ví dụ điều chế 9   | siFXI <sub>h1</sub> M1SP | 83,0                                                  | 75,0 | 64,6   |

Như có thể được nhìn thấy từ bảng 10, siARN theo sáng chế thể hiện hoạt tính ức chế rất cao *in vitro* trong tế bào HepG2; và tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI lên đến 83% có thể thu được ở nồng độ siARN là 50 nM.

**Ví dụ thí nghiệm 6: Phát hiện hiệu quả ức chế của các thể tiếp hợp L10-siFXI<sub>f1</sub>M1S, L10-siFXI<sub>i1</sub>M1S và L10-siFXI<sub>i1</sub>M1SP kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI trong chuột *in vivo***

Chuột C57BL/6N (tất cả chuột cái) được chia ngẫu nhiên thành các nhóm (5 con chuột trong mỗi nhóm) và được đánh số tương ứng. Thể tiếp hợp cần được thử nghiệm (nghĩa là, L10-siFXI<sub>f1</sub>M1S, L10-siFXI<sub>i1</sub>M1S hoặc L10-siFXI<sub>i1</sub>M1SP) được dùng dưới da với hai liều dùng khác nhau là 5 mg/kg và 1 mg/kg (dựa trên khối lượng của siRNA) tương ứng cho các con chuột trong mỗi nhóm, tương ứng. Mỗi thể tiếp hợp siARN được dùng ở nồng độ là 1 mg/mL và 0,2 mg/mL ở dạng dung dịch nước NaCl 0,9 % trọng lượng và thể tích dùng là 5 mL/kg.

Một trong số các nhóm con chuột được dùng với 1×PBS trong thể tích dùng là 5 mL/kg và được ghi là nhóm đối chứng.

Chuột được an tử vào ngày thứ 7 sau khi dùng. Mô gan của mỗi con chuột được thu thập lại và được giữ lại ARN sau đó (Sigma Aldrich company), và mô gan được đồng



nhất bằng thiết bị đồng nhất mô. Sau đó ARN tổng số được chiết và thu được bằng cách sử dụng Trizol theo các quy trình như được mô tả trong hướng dẫn.

Mức biểu hiện của mARN FXI được đo bằng qPCR huỳnh quang và các tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI được tính toán bằng các phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 3, ngoại trừ là ARN tổng số được chiết được phiên mã ngược thành cADN bằng cách sử dụng kit phiên mã ngược ImProm-IITM (Promega company) theo hướng dẫn của nó, thu được dung dịch chứa cADN. Tiếp theo, mức biểu hiện của mARN FXI trong mô gan được đo bằng cách sử dụng kit qPCR huỳnh quang (Beijing ComWin Biotech Co., Ltd). Trong phương pháp qPCR huỳnh quang này, gen GAPDH (mGAPDH) chuột được sử dụng làm gen tham chiếu nội bộ, FXI và GAPDH chuột được phát hiện bằng cách sử dụng các mồi cho FXI và GAPDH chuột, tương ứng. Các trình tự của mồi để phát hiện là như được thể hiện trong Bảng 11.

Trong quá trình đo mức biểu hiện của mARN FXI và tính toán tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI, chuột trong nhóm đối chứng của thí nghiệm này được dùng PBS; và chuột trong nhóm thử nghiệm được dùng các thể tiếp hợp siARN khác nhau, tương ứng. Mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng được ghi là 100%; và do đó, tỷ lệ ức chế kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI được ghi là 0%. Các kết quả thí nghiệm được bình thường hóa dựa trên mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng, như được thể hiện trong Bảng 12.

Bảng 11: Các trình tự của mồi để phát hiện

| Tên gen     | Loại mồi          | Trình tự nucleotit (5'→3') | SEQ ID NO. |
|-------------|-------------------|----------------------------|------------|
| FXI chuột   | Mồi theo hướng 5' | GCCCTGTAAACTGGAATCAGC      | 574        |
|             | Mồi theo hướng 3' | CGTTTCTATCTCCTTTGGAAGGC    | 575        |
| GAPDH chuột | Mồi theo hướng 5' | TGCACCACCAACTGCTTAG        | 576        |
|             | Mồi theo hướng 3' | GGATGCAGGGATGATGTTC        | 577        |

Bảng 12: Tỷ lệ ức chế của thể tiếp hợp siARN ở các nồng độ khác nhau kháng lại mARN FXI

| Ví dụ điều chế No. | Thế tiếp hợp    | Tỷ lệ ức chế (%) kháng lại mARN FXI |         |
|--------------------|-----------------|-------------------------------------|---------|
|                    |                 | 1 mg/kg                             | 5 mg/kg |
| Ví dụ điều chế 1   | L10-siFXIf1M1S  | 78,4                                | 95,0    |
| Ví dụ điều chế 9   | L10-siFXIi1M1S  | 67,1                                | 90,2    |
| Ví dụ điều chế 10  | L10-siFXIi1M1SP | 56,8                                | 92,1    |

Như có thể được nhìn thấy từ bảng 12, thế tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế nằm trong khoảng từ 56,8 đến 78,4% kháng lại mARN FXI trong liều dùng siARN là 1 mg/kg; và tỷ lệ ức chế lên đến 95.0% có thể thu được ở nồng độ siARN là 5 mg/kg, gợi ý hiệu quả ức chế tuyệt vời kháng lại mARN FXI.

**Ví dụ thí nghiệm 7: Phát hiện sự ức chế của thế tiếp hợp L10-siFXIf1M1S và L10-siFXIi1M1SP kháng lại sự biểu hiện của mARN FXI và kéo dài thời gian Thromboplastin hoạt hóa một phần (Activated Partial Thromboplastin Time-APTT) ở các thời điểm khác nhau sau khi dùng trong chuột *in vivo***

Chuột C57BL/6N (tất cả đực) được chia ngẫu nhiên thành 7 nhóm (5 con chuột trong mỗi nhóm) và được đánh số, tương ứng. Thế tiếp hợp L10-siFXIf1M1S và L10-siFXIi1M1SP được dùng cho mỗi ba nhóm chuột tương ứng. Nhóm chuột còn lại được dùng nước muối làm nhóm đối chứng. Đường dùng là tiêm dưới da. Các thế tiếp hợp được dùng ở nồng độ 1,8 mg/ml (dựa trên siRNA) ở dạng dung dịch nước NaCl 0.9 % và với liều dùng của 9 mg/kg. Nước muối bình thường là dung dịch nước NaCl 0,9 %. Thể tích dùng là 5 mL/kg. Các mẫu huyết tương được thu lại tương ứng vào ngày 8, 15 và 29 sau khi dùng. Các nhóm con chuột được dùng thế tiếp hợp được an tử vào ngày 29 sau khi dùng; và nhóm các con chuột được dùng NS được an tử vào ngày 8 sau khi dùng. Mô gan của mỗi con chuột was collected và kept with RNA later (Sigma Aldrich company), và mô gan được đồng nhất bằng thiết bị đồng nhất mô. Sau đó ARN tổng số được chiết và thu được bằng cách sử dụng Trizol theo các quy trình như được mô tả trong hướng dẫn.

Mức biểu hiện của mARN FXI được đo bằng qPCR huỳnh quang và tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI được tính toán bằng các phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 3, ngoại trừ là ARN tổng số được chiết được phiên mã ngược thành cADN bằng cách sử dụng kit phiên mã ngược ImProm-IITM (Promega company) theo hướng dẫn của nó, thu được dung dịch chứa cADN. Tiếp theo, mức biểu hiện của mARN FXI trong mô gan được đo bằng cách sử dụng kit qPCR huỳnh quang (Beijing

ComWin Biotech Co., Ltd). Trong phương pháp qPCR huỳnh quang này, gen GAPDH chuột (mGAPDH) được sử dụng làm gen tham chiếu nội bộ, FXI và GAPDH chuột được phát hiện bằng cách sử dụng các mồi cho FXI và GAPDH chuột, tương ứng. Các trình tự của mồi để phát hiện là như được thể hiện trong Bảng 11.

Trong quá trình đo mức biểu hiện của mARN FXI và tính toán các tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI, chuột trong nhóm đối chứng của thí nghiệm này được dùng nước muối; và chuột trong nhóm thử nghiệm được dùng các thể tiếp hợp siARN khác nhau, tương ứng, với các mẫu được lấy ở các thời điểm khác nhau sau khi dùng. Mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng được ghi là 100%; và tương ứng là, tỷ lệ ức chế kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI được ghi nhận là 0%. Các kết quả thử nghiệm được bình thường hóa dựa trên mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng, như được thể hiện trong Bảng 13. Trong bảng này, tỷ lệ ức chế kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI là giá trị trung bình cộng của các tỷ lệ ức chế kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI đo được trong 5 con chuột của nhóm giống nhau vào ngày tương ứng sau khi dùng thể tiếp hợp siARN tương ứng.

Bảng 13: Tỷ lệ ức chế của thể tiếp hợp siARN kháng lại mARN FXI ở các thời điểm khác nhau sau một lần dùng

| Ví dụ điều chế No. | Thể tiếp hợp    | Tỷ lệ ức chế (%) kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI |         |         |
|--------------------|-----------------|-------------------------------------------------------|---------|---------|
|                    |                 | Ngày 8                                                | Ngày 15 | Ngày 29 |
| Ví dụ điều chế 1   | L10-siFXIf1M1S  | 91,33                                                 | 92,89   | 90,56   |
| Ví dụ điều chế 10  | L10-siFXIi1M1SP | 89,18                                                 | 92,39   | 90,54   |

Như có thể được nhìn thấy từ các kết quả của Bảng 13, sau khi dùng một lần dưới da trong chuột, thể tiếp hợp siARNs theo sáng chế thể hiện tỷ lệ ức chế tuyệt vời kháng lại mARN FXI trong gan ở các thời điểm khác nhau trong khoảng thời gian dài, và thể hiện tỷ lệ ức chế ít nhất 89,18% hoặc thậm chí lên đến 92,89%.

Ngoài ra, đối với các mẫu huyết tương như được thu thập nêu trên, kit APTT (Rayto company, Cat No. 20190402M) được sử dụng để đo giá trị APTT huyết tương của mỗi con chuột bằng thử nghiệm đo độ đục trong thiết bị phân tích đông bán tự động (Rayto company, Model No. RT-2202). Phương pháp phát hiện cụ thể được thực hiện như được mô tả trong hướng dẫn của kit APTT. Bằng cách so sánh các giá trị APTT đo được với giá trị của nhóm đối chứng, sự kéo dài tương đối của APTT cho mỗi con chuột = (giá trị

APTT đo được trong nhóm thử nghiệm - giá trị APTT trung bình đo được trong nhóm đối chứng)/ (giá trị APTT trung bình đo được trong nhóm đối chứng)  $\times 100\%$ . Các kết quả đo được là như được thể hiện trong Bảng 14. Trong bảng này, sự kéo dài tương đối của APTT đề cập đến giá trị trung bình của các sự kéo dài tương đối của APTT đo được trong 5 con chuột của nhóm giống nhau trong các ngày tương ứng sau khi dùng thể tiếp hợp siARN tương ứng.

Bảng 14: Sự kéo dài tương đối của APTT ở các thời điểm khác nhau sau khi dùng một lần thể tiếp hợp siARN

| Ví dụ điều chế No. | Thể tiếp hợp    | Sự kéo dài tương đối của APTT (%) |         |         |
|--------------------|-----------------|-----------------------------------|---------|---------|
|                    |                 | Ngày 8                            | Ngày 15 | Ngày 29 |
| Ví dụ điều chế 1   | L10-siFXIf1M1S  | 64,9                              | 62,1    | 18,2    |
| Ví dụ điều chế 10  | L10-siFXIi1M1SP | 42,5                              | 42,5    | 51,2    |

Như có thể được nhìn thấy từ các kết quả của Bảng 14, giá trị APTT đo được được kéo dài đáng kể trong chuột được dùng thể tiếp hợp siARN theo sáng chế trong khoảng thời gian dài; và sự kéo dài lên đến 64,9% có thể đạt được. Rõ ràng là, các thể tiếp hợp siARN theo sáng chế có thể kéo dài hiệu quả thời gian đông của chuột, gợi ý rằng chúng có triển vọng ứng dụng hứa hẹn để điều trị và/hoặc ngăn ngừa bệnh huyết khối và/hoặc đột quỵ do thiếu máu cục bộ.

**Ví dụ thí nghiệm 8: Đo hoạt tính của thể tiếp hợp siARNs theo sáng chế trong chuột được làm giống người *in vivo***

Chuột được làm giống người được sử dụng trong thí nghiệm này được mua từ Cyagen Biosciences Inc. Chuột được chia ngẫu nhiên thành các nhóm, với 4 con chuột (2 chuột đực 2 chuột cái) trong mỗi nhóm. Các thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S, L10-siFXIa1M1SP, L10-siFXIb1M1SP, L10-siFXIc1M1SP, L10-siFXId1M1SP, L10-siFXIe1M1SP, L10-siFXIg1M1SP, L10-siFXIh1M1SP và L10-siFXIi1M1S được dùng riêng rẽ cho các con chuột trong mỗi nhóm; và nước muối được sử dụng làm đối chứng. Các liều dùng được chắt cho tất cả các con vật được tính toán theo trọng lượng cơ thể (liều dùng đơn (dưới da). Mỗi thể tiếp hợp được dùng ở nồng độ là 0,3 mg/mL (dựa trên siARN) ở dạng dung dịch nước NaCl 0,9 % trọng lượng và thể tích dùng là 10 mL/kg, nghĩa là, liều dùng của mỗi thể tiếp hợp là 3 mg/kg (dựa trên siARN). Chuột được an tử

vào ngày 8 sau khi dùng. Các mẫu huyết tương được thu lại. 3,2 % trọng lượng (0,109 mol/L) dung dịch nước natri xitrat dihydrat được bổ sung với tỷ lệ thể tích của chất chống đông với huyết tương là 1:9 (thể tích/thể tích) để ngăn ngừa các cục máu đông; và các mẫu huyết tương được tách bằng cách ly tâm.

Khoảng 100 mg/con chuột thùy trái gan được lấy và được giữ lại ARN sau đó (Sigma Aldrich). Sau đó, mô gan của mỗi con chuột được đồng nhất bằng thiết bị đồng nhất mô. Sau đó ARN tổng số của mô gan của mỗi con chuột được chiết và thu được bằng cách sử dụng Trizol (Thermo Fisher company) theo quy trình như được mô tả trong hướng dẫn.

Theo phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 6, mức biểu hiện của mARN FXI của mô gan trong chuột được dùng thể tiếp hợp siARN khác nhau theo sáng chế hoặc trong con chuột trong nhóm đối chứng được đo bằng phương pháp qPCR huỳnh quang thời gian thực, ngoại trừ là các trình tự của các môi để khuếch đại FXI người và GAPDH chuột làm gen tham chiếu nội bộ là như được thể hiện trong Bảng 15.

Bảng 15: Các trình tự của môi để phát hiện

| Tên gen     | Loại môi          | Trình tự nucleotit (5'→3') | SEQ ID NO. |
|-------------|-------------------|----------------------------|------------|
| FXI người   | Môi theo hướng 5' | TCACGGCGGAATCACCATC        | 570        |
|             | Môi theo hướng 3' | TGTCCTATTCACTCTTGGCAGT     | 571        |
| GAPDH chuột | Môi theo hướng 5' | AAC TTTGGCATTGTGGAAGGGCTC  | 572        |
|             | Môi theo hướng 3' | TGGAAGAGTGGGAGTTGCTGTTGA   | 573        |

Mức biểu hiện của mARN FXI được đo và tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI được tính toán bằng các phương pháp tương tự như được mô tả trong Ví dụ thí nghiệm 3. Mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng được ghi là 100%; và tương ứng là, tỷ lệ ức chế kháng lại mức biểu hiện của mARN FXI được ghi là 0%. Các kết quả thử nghiệm được bình thường hóa dựa trên mức biểu hiện của mARN FXI trong nhóm đối chứng, như được thể hiện trong Bảng 16. Trong bảng này, tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI người là giá trị trung bình của tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI người được tính

toán trong chuột của nhóm tương tự dùng thể tiếp hợp siARN tương ứng và độ lệch chuẩn của nó.

Bảng 16: Tỷ lệ ức chế của thể tiếp hợp siARN theo sáng chế kháng lại mARN FXI người trong chuột được làm giống người *in vivo*

| Ví dụ điều chế No. | Thể tiếp hợp NO. | Tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI người |
|--------------------|------------------|---------------------------------------|
| Ví dụ điều chế 1   | L10-siFXIf1M1S   | 76,03 ± 6,74                          |
| Ví dụ điều chế 2   | L10-siFXIa1M1SP  | 89,23 ± 3,25                          |
| Ví dụ điều chế 3   | L10-siFXIb1M1SP  | 81,75 ± 3,91                          |
| Ví dụ điều chế 4   | L10-siFXIc1M1SP  | 81,25 ± 3,61                          |
| Ví dụ điều chế 5   | L10-siFXId1M1SP  | 71,06 ± 9,62                          |
| Ví dụ điều chế 6   | L10-siFXIe1M1SP  | 85,26 ± 4,15                          |
| Ví dụ điều chế 7   | L10-siFXIg1M1SP  | 93,09 ± 1,96                          |
| Ví dụ điều chế 8   | L10-siFXIh1M1SP  | 76,78 ± 5,54                          |
| Ví dụ điều chế 9   | L10-siFXIi1M1S   | 74,25 ± 6,07                          |

Như có thể được nhìn thấy từ các kết quả của Bảng 16, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế thể hiện hiệu quả ức chế tốt kháng lại mARN FXI người trong gan chuột dị hợp tử được làm giống người, và thể hiện tỷ lệ ức chế kháng lại mARN FXI lên đến khoảng từ 71 đến 93%.

Ngoài ra, mỗi nhóm chuột trên (bao gồm chuột trong các nhóm thử nghiệm được dùng tương ứng thể tiếp hợp L10-siFXIf1M1S, L10-siFXIa1M1SP, L10-siFXIb1M1SP, L10-siFXIc1M1SP, L10-siFXId1M1SP, L10-siFXIe1M1SP, L10-siFXIg1M1SP, L10-siFXIh1M1SP hoặc L10-siFXIi1M1S, và chuột trong nhóm đối chứng được dùng nước muối được thử nghiệm sử dụng kit ELISA yếu tố X đông máu người (Sigma company, Lot No. 0926F2350, Article No. RAB1385-1KT) để xác định nồng độ protein FXI trong huyết tương.

Chất pha loãng mẫu (được đánh dấu là ItemE2 trong kit) trong kit ELISA là được pha loãng 5-lần bằng nước khử ion để thu được chất pha loãng mẫu được pha loãng.

Đối với huyết tương của chuột được dùng thể tiếp hợp L10-siFXIa1M1SP hoặc L10-siFXIg1M1SP, 108  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng được bổ sung vào 12  $\mu\text{L}$  huyết tương để tạo thành dung dịch mẫu cần được thử nghiệm, mà được giữ tới khi sử dụng.

Đối với huyết tương của chuột được dùng các thể tiếp hợp khác hoặc nước muối, 108  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng được bổ sung vào 12  $\mu\text{L}$  huyết tương để thu được huyết tương được pha loãng 10-lần; 45  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng được bổ sung vào 5  $\mu\text{L}$  huyết tương được pha loãng 10-lần để thu được huyết tương được pha loãng 100-lần; và sau đó 108  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng được bổ sung vào 12  $\mu\text{L}$  huyết tương được pha loãng 100-lần để thu được chất pha loãng mẫu được pha loãng 1000-lần là dung dịch mẫu cần được thử nghiệm, mà được giữ tới khi sử dụng.

Sự phát hiện kháng thể FXI (được đánh dấu là ItemF trong kit) trong kit được pha loãng bằng 100  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng thành mẫu kháng thể, và sau đó 75  $\mu\text{L}$  mẫu kháng thể được lấy và được bổ sung vào 5925  $\mu\text{L}$  chất pha loãng mẫu được pha loãng được pha loãng đến 80-lần để tạo thành dung dịch phát hiện kháng thể.

Nồng độ streptomycin (được đánh dấu là ItemG trong kit) trong kit được pha loãng 250-lần bằng chất pha loãng mẫu được pha loãng để tạo thành dung dịch pha loãng Streptomycin.

Đệm rửa (được đánh dấu là ItemB trong kit) trong kit được pha loãng 20-lần bằng nước khử ion để tạo thành dung dịch rửa được pha loãng.

Các dung dịch với 8 gradient nồng độ tiêu chuẩn được cung cấp; một trong số các dung dịch là chất pha loãng mẫu được pha loãng (mà có thể được xem là dung dịch chuẩn ở nồng độ 0 pg/mL), và bảy dung dịch còn lại là dung dịch chuẩn gồm 7 nồng độ là 2500 pg/mL, 1000 pg/mL, 400 pg/mL, 160 pg/mL, 64 pg/mL, 25,6 pg/mL và 10,24 pg/mL thu được bằng cách pha loãng liên tiếp sản phẩm chuẩn (được đánh dấu là Item C trong kit) trong kit bằng chất pha loãng mẫu được pha loãng được mô tả trên đây.

### **Thử nghiệm ELISA**

Kit ELISA yếu tố X đông máu người (SIGMA company, Cat No. RAB1385-1KT) được sử dụng. Các lỗ chuẩn và các lỗ mẫu được sắp xếp theo sổ tay hướng dẫn sử dụng. Các dung dịch có gradient nồng độ chuẩn khác nhau hoặc các dung dịch mẫu cần được

thử nghiệm được dát mỏng riêng rẽ với khối lượng 100  $\mu\text{L}$  cho mỗi lỗ, và sau đó ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 2,5 giờ. Sau khi loại bỏ dung dịch từ đó, 300  $\mu\text{L}$  dung dịch rửa pha loãng được bổ sung vào mỗi lỗ để rửa các lỗ trong 1 phút, và sau đó loại bỏ dung dịch rửa. 100  $\mu\text{L}$  dung dịch phát hiện kháng thể được bổ sung cho mỗi lỗ, và sau đó ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 1 giờ. Sau khi loại bỏ dung dịch từ đó, 300  $\mu\text{L}$  dung dịch rửa pha loãng được bổ sung cho mỗi lỗ để rửa các lỗ trong 1 phút, và sau đó loại bỏ dung dịch rửa. Quy trình rửa này được lặp lại trong ba lần (nghĩa là, rửa trong tổng số bốn lần). 100  $\mu\text{L}$  dung dịch pha loãng Streptomycin được bổ sung cho mỗi lỗ, và sau đó ủ ở nhiệt độ trong phòng trong 45 phút. Sau khi loại bỏ dung dịch từ đó, 300  $\mu\text{L}$  dung dịch rửa pha loãng được bổ sung cho mỗi lỗ để rửa các lỗ trong 1 phút, và sau đó loại bỏ dung dịch rửa. Quy trình rửa này được lặp lại trong ba lần (nghĩa là, rửa trong tổng số bốn lần). 100  $\mu\text{L}$  TMB (được đánh dấu là ItemH trong kit) được bổ sung cho mỗi lỗ, và sau đó ủ trong 30 phút. 50  $\mu\text{L}$  dung dịch dừng (được cung cấp trong kit) được bổ sung cho mỗi lỗ để dừng phản ứng này. Độ hấp thụ ở 450 nm được đọc ngay lập tức bằng cách sử dụng máy đọc vi đĩa tự động hoàn toàn (BioTek company, Biotek SYNERGY MX). Các kết quả của mỗi nhóm thử nghiệm với nồng độ cụ thể thể tiếp hợp siARN được so sánh với nhóm đối chứng bằng nước muối.

Theo các kết quả hoạt tính đo được trong dung dịch với gradient nồng độ chuẩn, đường cong tiêu chuẩn đáp ứng liều được điều chỉnh sử dụng hàm log(chất ức chế) so với độ dốc đáp ứng-biến số của phần mềm Graphpad 6.0. Nồng độ protein trong huyết tương được tính toán dựa trên đường cong đáp ứng liều, và đường cong được điều chỉnh tuân theo công thức tính toán dưới đây:

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

trong đó:

Y là số đọc giá trị mật độ quang tương ứng ở 450 nm,

X là giá trị logarit ( $\mu\text{g/mL}$ ) của nồng độ trong đường cong chuẩn,

Bot là giá trị Y ở đáy của giai đoạn đều đặn,

Top là giá trị Y ở đỉnh của giai đoạn đều đặn,

X' là giá trị X thu được bằng cách điều chỉnh tại Y là giá trị trung bình giữa đáy



và đỉnh, và HillSlope là độ dốc của đường cong ở X'.

Giá trị logarit X của nồng độ tương ứng của mỗi mẫu thu được bằng cách đặt giá trị mật độ quang đo được trong mỗi mẫu huyết tương trong công thức dựa trên đường cong chuẩn được điều chỉnh; và giá trị nồng độ protein FXI huyết tương của mỗi mẫu được dùng các thể tiếp hợp siARN khác nhau  $= 10^X$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) được tính toán.

Theo giá trị nồng độ protein FXI huyết tương, tỷ lệ ức chế kháng lại protein FXI  $= (\text{nồng độ protein trong nhóm đối chứng} - \text{nồng độ protein trong nhóm thử nghiệm}) / \text{nồng độ protein trong nhóm đối chứng} \times 100\%$  được tính toán dựa trên nồng độ protein trong nhóm đối chứng. Các kết quả nồng độ và dữ liệu tỷ lệ ức chế thu được là như được thể hiện trong Bảng 17. Trong bảng này, nồng độ protein FXI và tỷ lệ ức chế kháng lại protein FXI là giá trị trung bình của nồng độ protein FXI và tỷ lệ ức chế kháng lại protein FXI trong nhóm chuột tương tự được dùng tương ứng thể tiếp hợp siRNA tương ứng.

Bảng 17: Hiệu quả ức chế của thể tiếp hợp siARN theo sáng chế kháng lại nồng độ protein trong huyết tương

| Ví dụ điều chế No. | Thể tiếp hợp NO. | Nồng độ protein FXI ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | Tỷ lệ ức chế tương đối (%) kháng lại FXI protein |
|--------------------|------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Nhóm đối chứng     | (Nước muối)      | 0,2597                                          | 0                                                |
| Ví dụ điều chế 1   | L10-siFXIf1M1S   | 0,0469                                          | 81,93                                            |
| Ví dụ điều chế 2   | L10-siFXIa1M1SP  | 0,0026                                          | 99,02                                            |
| Ví dụ điều chế 3   | L10-siFXIb1M1SP  | 0,0258                                          | 90,08                                            |
| Ví dụ điều chế 4   | L10-siFXIc1M1SP  | 0,0205                                          | 92,09                                            |
| Ví dụ điều chế 5   | L10-siFXId1M1SP  | 0,0417                                          | 83,94                                            |
| Ví dụ điều chế 6   | L10-siFXIe1M1SP  | 0,0166                                          | 93,61                                            |
| Ví dụ điều chế 7   | L10-siFXIg1M1SP  | 0,0017                                          | 99,34                                            |
| Ví dụ điều chế 8   | L10-siFXIh1M1SP  | 0,0447                                          | 82,80                                            |

|                  |                |        |       |
|------------------|----------------|--------|-------|
| Ví dụ điều chế 9 | L10-siFXIa1M1S | 0,0533 | 79,47 |
|------------------|----------------|--------|-------|

Như có thể được nhìn thấy từ các kết quả của bảng 17, thể tiếp hợp siARN theo sáng chế tất cả thể hiện hiệu quả ức chế tuyệt vời sự biểu hiện của protein FXI người trong huyết tương của chuột dị hợp tử được làm giống người; cụ thể là, các thể tiếp hợp L10-siFXIa1M1SP và L10- siFXIg1M1SP cả hai thể hiện tỷ lệ ức chế cao kháng lại protein FXI lên đến khoảng 99%.

Một vài phương án theo sáng chế được mô tả chi tiết trên đây, tuy nhiên sáng chế không bị giới hạn ở các mô tả chi tiết cụ thể nêu trong các phương án trên. Nhiều thay đổi đơn giản đối với các giải pháp kỹ thuật theo sáng chế có thể được đưa ra trong phạm vi sáng chế, và các thay đổi đơn giản này cũng thuộc phạm vi của sáng chế.

Cần lưu ý rằng mỗi dấu hiệu kỹ thuật trong số các dấu hiệu kỹ thuật cụ thể được bộc lộ trong các phương án trên có thể được kết hợp theo cách thích hợp bất kỳ được đề xuất mà không gây ra mâu thuẫn nào. Để tránh các đoạn lặp không cần thiết, các cách kết hợp có thể có không được mô tả trong sáng chế.

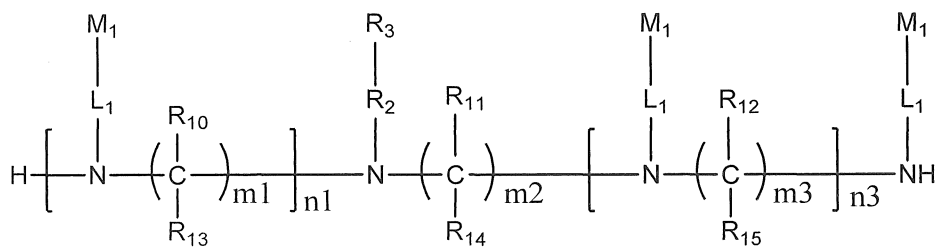
Ngoài ra, các phương án khác nhau theo sáng chế có thể cũng được thực hiện theo sự kết hợp bất kỳ miễn là nó không được bắt nguồn từ ý tưởng của sáng chế, cũng nên được xem là sự bộc lộ của sáng chế.

### **Viện dẫn tài liệu**

Tất cả các công bố, sáng chế, đơn sáng chế trong bản mô tả này được đưa vào đây bằng cách viện dẫn đến mức nếu mỗi công bố, sáng chế, đơn sáng chế được đưa vào đây cụ thể và tách biệt bằng cách viện dẫn.

### Yêu cầu bảo hộ

1. Thể tiếp hợp siARN, trong đó thể tiếp hợp siARN này có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (308):



Công thức (308)

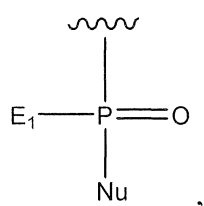
trong đó,

$n1$  là số nguyên từ 1-3, và  $n3$  là số nguyên từ 0-4;

$m1$ ,  $m2$ , và  $m3$  độc lập với nhau là số nguyên từ 2-10;

$R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , và  $R_{15}$  độc lập với nhau là H, hoặc được chọn từ nhóm bao gồm  $C_1$ - $C_{10}$  alkyl,  $C_1$ - $C_{10}$  haloalkyl, và  $C_1$ - $C_{10}$  alkoxy,

$R_3$  là nhóm có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (A59):



Công thức (A59),

trong đó  $E_1$  là OH, SH hoặc  $BH_2$ ; và Nu là siARN, trong đó siARN chứa sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa, mỗi nucleotit trong siARN độc lập là nucleotit cải biến hoặc không cải biến, trong đó sợi có nghĩa chứa trình tự nucleotit I, và sợi đối nghĩa chứa trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II là ít nhất bổ sung ngược một phần để tạo thành vùng sợi đôi; trong đó trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II được chọn từ các trình tự như được thể hiện trong bất kỳ trong số từ i) đến ix):

i) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GGGUAUUCUUUCAAGCAAZ<sub>1</sub>-3' (SEQ ID NO: 1);

5'-Z<sub>2</sub>UUGCUUGAAAGAAUACCC-3' (SEQ ID NO: 2),

trong đó, Z<sub>1</sub> là U và Z<sub>2</sub> là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>3</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>1</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>4</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>2</sub>, trong đó Z<sub>4</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

ii) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GGCAUAAACUAUAACAGCZ<sub>5</sub>-3' (SEQ ID NO: 61);

5'-Z<sub>6</sub>GCUGUUAUAGUUUAUGCC-3' (SEQ ID NO: 62),

trong đó, Z<sub>5</sub> là U và Z<sub>6</sub> là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>7</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>5</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>8</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>6</sub>, trong đó Z<sub>8</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

iii) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GCUCAAGAAUGCCAAGAAZ<sub>9</sub>-3' (SEQ ID NO: 121);

5'-Z<sub>10</sub>UUCUUGGCAUUCUUGAGC-3' (SEQ ID NO: 122),

trong đó, Z<sub>9</sub> là A và Z<sub>10</sub> là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>11</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>9</sub>; trình tự nucleotit II chứa

nucleotit  $Z_{12}$  ở vị trí tương ứng với  $Z_{10}$ , trong đó  $Z_{12}$  là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

iv) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GCAACAAAGACAUUUAUG $Z_{13}$ -3' (SEQ ID NO: 181);

5'- $Z_{14}$ CAUAAAUGUCUUUGUUGC-3' (SEQ ID NO: 182),

trong đó,  $Z_{13}$  là U và  $Z_{14}$  là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit  $Z_{15}$  ở vị trí tương ứng với  $Z_{13}$ ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit  $Z_{16}$  ở vị trí tương ứng với  $Z_{14}$ , trong đó  $Z_{16}$  là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

v) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GAAUCUCAAGAAAUCU $Z_{17}$ -3' (SEQ ID NO: 241);

5'- $Z_{18}$ AAGAUUUCUUUGAGAUUC-3' (SEQ ID NO: 242),

trong đó,  $Z_{17}$  là U và  $Z_{18}$  là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit  $Z_{19}$  ở vị trí tương ứng với  $Z_{17}$ ; trình tự nucleotit II chứa nucleotit  $Z_{20}$  ở vị trí tương ứng với  $Z_{18}$ , trong đó  $Z_{20}$  là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

vi) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GUACGUGGACUGGAUUC $Z_{21}$ -3' (SEQ ID NO: 301);

5'-Z<sub>22</sub>AGAAUCCAGUCCACGUAC-3' (SEQ ID NO: 302),

trong đó, Z<sub>21</sub> là G và Z<sub>22</sub> là C, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>23</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>21</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>24</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>22</sub>, trong đó Z<sub>24</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

vii) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ<sub>25</sub>-3' (SEQ ID NO: 361);

5'-Z<sub>26</sub>GAAAGAAUACCCAGAAAU-3' (SEQ ID NO: 362),

trong đó, Z<sub>25</sub> là A và Z<sub>26</sub> là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>27</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>25</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>28</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>26</sub>, trong đó Z<sub>28</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

viii) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-CAUGAAGGGCAUAAACUAZ<sub>29</sub>-3' (SEQ ID NO: 421);

5'-Z<sub>30</sub>UAGUUUAUGCCCUUCAUG-3' (SEQ ID NO: 422),

trong đó, Z<sub>29</sub> là U và Z<sub>30</sub> là A, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>31</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>29</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>32</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>30</sub>, trong đó Z<sub>32</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa.

ix) trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng, và trình tự nucleotit II có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện

bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng:

5'-GGAUUCUGGAGAAAACUCZ<sub>33</sub>-3' (SEQ ID NO: 481);

5'-Z<sub>34</sub>GAGUUUUCUCCAGAAUCC-3' (SEQ ID NO: 482),

trong đó, Z<sub>33</sub> là A và Z<sub>34</sub> là U, và

trình tự nucleotit I chứa nucleotit Z<sub>35</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>33</sub>; trình tự nucleotit II chứa nucleotit Z<sub>36</sub> ở vị trí tương ứng với Z<sub>34</sub>, trong đó Z<sub>36</sub> là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;

R<sub>2</sub> là alkylen thẳng có chiều dài từ 1 đến 20 nguyên tử cacbon, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon tùy ý được thay thế bằng một hoặc nhiều nhóm bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C(O), NH, O, S, CH=N, S(O)<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> alkenylen, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> alkynylen, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> arylen, C<sub>3</sub>-C<sub>18</sub> heterocyclylen, và C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> heteroarylen, và trong đó R<sub>2</sub> tùy ý có một hoặc nhiều phần tử thế bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> aryl, C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> heteroaryl, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-OH, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-SH, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, halo, -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-NH<sub>2</sub>, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl), -NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl), cyano, nitro, -CO<sub>2</sub>H, -C(O)O(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CON(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CONH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CONH<sub>2</sub>, -NHC(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NHC(O)(phenyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)C(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)C(O)(phenyl), -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -SO<sub>2</sub>(phenyl), -SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -SO<sub>2</sub>NH(phenyl), -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NHSO<sub>2</sub>(phenyl), và -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl);

mỗi L<sub>1</sub> là alkylen thẳng có chiều dài từ 1 đến 70 nguyên tử cacbon, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử cacbon tùy ý được thay thế bằng any một hoặc nhiều nhóm được chọn từ nhóm bao gồm: C(O), NH, O, S, CH=N, S(O)<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> alkenylen, C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> alkynylen, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> arylen, C<sub>3</sub>-C<sub>18</sub> heterocyclylen, và C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub> heteroarylen, và trong đó L<sub>1</sub> tùy ý có một hoặc nhiều phần tử thế bất kỳ được chọn từ nhóm bao gồm: C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, C<sub>6</sub>-C<sub>10</sub> aryl, C<sub>5</sub>-

C<sub>10</sub> heteroaryl, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-OH, -OC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-SH, -SC<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, halo, -OH, -SH, -NH<sub>2</sub>, -C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl-NH<sub>2</sub>, -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl), -NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl), cyano, nitro, -CO<sub>2</sub>H, -C(O)O(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CON(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CONH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -CONH<sub>2</sub>, -NHC(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NHC(O)(phenyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)C(O)(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl)C(O)(phenyl), -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkylphenyl, -C(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl, -OC(O)C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl, -SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -SO<sub>2</sub>(phenyl), -SO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl), -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -SO<sub>2</sub>NH(phenyl), -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> alkyl), -NHSO<sub>2</sub>(phenyl), và -NHSO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> haloalkyl);

~~~~~ thể hiện vị trí trong đó nhóm này được liên kết cộng hóa trị;

M₁ thể hiện nhóm hướng đích.

2. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 1, trong đó có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2; hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62; hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122; hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181, và/hoặc có không nhiều hơn

1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182; hoặc

có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242; hoặc

có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302; hoặc

có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362; hoặc

có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422; hoặc

có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481, và/hoặc có không nhiều hơn 1 sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482.

3. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 1 hoặc 2, trong đó sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 2 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_4 , trong đó Z_4 được chọn từ U, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 62 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_8 , trong đó Z_8 được chọn từ U, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi

trình tự nêu trong SEQ ID NO: 122 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{12} , trong đó Z_{12} được chọn từ A, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 182 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{16} , trong đó Z_{16} được chọn từ U, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 242 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{20} , trong đó Z_{20} được chọn từ U, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 302 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{24} , trong đó Z_{24} được chọn từ A, U hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 362 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{28} , trong đó Z_{28} được chọn từ A, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 422 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{32} , trong đó Z_{32} được chọn từ U, C hoặc G; hoặc

sự khác biệt nucleotit giữa trình tự nucleotit II và trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 482 bao gồm sự khác biệt ở vị trí Z_{36} , trong đó Z_{36} được chọn từ A, C hoặc G.

4. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-3, trong đó Z_3 là nucleotit bổ sung với Z_4 ; hoặc Z_7 là nucleotit bổ sung với Z_8 ; hoặc Z_{11} là nucleotit bổ sung với Z_{12} ; hoặc Z_{15} là nucleotit bổ sung với Z_{16} ; hoặc Z_{19} là nucleotit bổ sung với Z_{20} ; hoặc Z_{23} là nucleotit bổ sung với Z_{24} ; hoặc Z_{27} là nucleotit bổ sung với Z_{28} ; hoặc Z_{31} là nucleotit bổ sung với Z_{32} ; hoặc Z_{35} là nucleotit bổ sung với Z_{36} .

5. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-4, trong đó sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa có chiều dài giống nhau hoặc khác nhau, trong đó sợi có nghĩa có chiều dài từ 19 đến 23 nucleotit, và sợi đối nghĩa có chiều dài từ 19 đến 26 nucleotit; và

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 3, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 4:

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

5'-Z₄UUGCUUGAAAGAAUACCC-3' (SEQ ID NO: 4),

trong đó, Z₃ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₄ là nucleotit bổ sung với Z₃; hoặc

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 63, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 64:

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

5'-Z₈GCUGUUAUAGUUUAUGCC-3' (SEQ ID NO: 64),

trong đó, Z₇ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₈ là nucleotit bổ sung với Z₇; hoặc

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 123, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 124:

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

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

trong đó, Z₁₁ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₁₂ là nucleotit bổ sung với Z₁₁; hoặc

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 183, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 184:

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

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

trong đó, Z₁₅ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₁₆ là nucleotit bổ sung với Z₁₅; hoặc

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 243, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 244:

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

5'-Z₂₀AAGAUUUCUUUGAGAUUC-3' (SEQ ID NO: 244),

trong đó, Z₁₉ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₂₀ là nucleotit bổ sung với Z₁₉; hoặc

trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID

NO: 303, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 304:

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

5'-Z₂₄AGAAUCCAGUCCACGUAC-3' (SEQ ID NO: 304),

trong đó, Z₂₃ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₂₄ là nucleotit bổ sung với Z₂₃; hoặc trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 363, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 364:

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

5'-Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAU-3' (SEQ ID NO: 364),

trong đó, Z₂₇ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₂₈ là nucleotit bổ sung với Z₂₇; hoặc trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 423, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 424:

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

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUG-3' (SEQ ID NO: 424),

trong đó, Z₃₁ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₃₂ là nucleotit bổ sung với Z₃₁; hoặc trình tự nucleotit I là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 483, và trình tự nucleotit II là trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 484:

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

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

trong đó, Z₃₅ được chọn từ A, U, G, hoặc C, và Z₃₆ là nucleotit bổ sung với Z₃₅.

6. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 5, trong đó Z₃ là U, và Z₄ là A; hoặc Z₇ là U, và Z₈ là A; hoặc Z₁₁ là A, và Z₁₂ là U; hoặc Z₁₅ là U, và Z₁₆ là A; hoặc Z₁₉ là U, và Z₂₀ là A; hoặc Z₂₃ là G, và Z₂₄ là C; hoặc Z₂₇ là A, và Z₂₈ là U; hoặc Z₃₁ là U, và Z₃₂ là A; hoặc Z₃₅ là A, và Z₃₆ là U.

7. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 1, trong đó sợi có nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit

III, sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit IV, và trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV độc lập với nhau có chiều dài từ 1 đến 4 nucleotit; trình tự nucleotit III được liên kết với đầu tận cùng 5' của trình tự nucleotit I; và trình tự nucleotit IV được liên kết với đầu tận cùng 3' của trình tự nucleotit II; trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV có chiều dài giống nhau và là hầu như là bổ sung ngược hoặc bổ sung ngược hoàn toàn với nhau; "hầu như là bổ sung ngược" nghĩa là có không nhiều hơn 1 sự bất cặp sai bazơ giữa hai trình tự nucleotit; và "bổ sung ngược hoàn toàn" nghĩa là không có sự bất cặp sai giữa hai trình tự nucleotit.

8. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 7, trong đó trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 1 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UCU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UUCU; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 61 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là G; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III

là AG; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AAG; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GAAG; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 121 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GAGU; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 181 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo

hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CUU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GCUU; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 241 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AAA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CAAA; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 301 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CGA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là UCGA; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 361 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là G; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CG; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GCG; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGCG; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 421 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là A; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là AGA; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III

là UAGA; hoặc

trình tự nucleotit I có chiều dài giống như trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 481 với không nhiều hơn 3 sự khác biệt nucleotit giữa chúng; và

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 1 nucleotit, và bazơ của trình tự nucleotit III là U; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 2 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là CU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 3 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là ACU; hoặc

trình tự nucleotit III và trình tự nucleotit IV cả hai có chiều dài là 4 nucleotit, và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', thành phần bazơ của trình tự nucleotit III là GACU.

9. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-8, trong đó sợi đối nghĩa chứa thêm trình tự nucleotit V; trình tự nucleotit V có chiều dài từ 1 đến 3 nucleotit và được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa, nhờ đó tạo thành phần nhô ra 3' của sợi đối nghĩa.

10. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 9, trong đó trình tự nucleotit V có chiều dài là 2 nucleotit.

11. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 9 hoặc 10, trong đó trình tự nucleotit V là 2 thymine deoxyribonucleotit liên tiếp hoặc 2 uracil ribonucleotit liên tiếp; hoặc trình tự nucleotit V là bổ sung với các nucleotit ở vị trí tương ứng của mRNA đích.

12. Thể tiếp hợp siARN theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 11, trong đó sợi có nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 5, và sợi

đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 6:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 7, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 8:

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

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

trong đó, Z₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₃ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₄ là nucleotit bổ sung với Z₃;

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 65, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 66:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 67, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 68:

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

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

trong đó, Z₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₇ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₈ là nucleotit bổ sung với Z₇;

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 125, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 126:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 127, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được

thể hiện bởi SEQ ID NO: 128:

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

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

trong đó, Z₁₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₁ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₁₂ là nucleotit bổ sung với Z₁₁.

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 185, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 186:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 187, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 188:

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

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

trong đó, Z₁₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₅ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₁₆ là nucleotit bổ sung với Z₁₅;

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 245, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 246:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 247, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 248:

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

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

trong đó, Z₂₀ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₁₉ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₀ là nucleotit bổ sung với Z₁₉;

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 305, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 306:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 307, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 308:

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

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

trong đó, Z₂₄ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₂₃ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₄ là nucleotit bổ sung với Z₂₃.

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 365, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 366:

5'-AUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇-3' (SEQ ID NO: 365);

5'-Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAUCG-3' (SEQ ID NO: 366);

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 367, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 368:

5'-CGAUUUCUGGGUAUUCUUUCZ₂₇-3' (SEQ ID NO: 367);

5'-Z₂₈GAAAGAAUACCCAGAAAUCGCU-3' (SEQ ID NO: 368);

trong đó, Z₂₈ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₂₇ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₂₈ là nucleotit bổ sung với Z₂₇.

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 425, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 426:

5'-CAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁-3' (SEQ ID NO: 425);

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUGUC-3' (SEQ ID NO: 426),

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu

trong SEQ ID NO: 427, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 428:

5'-GACAUGAAGGGCAUAAACUAZ₃₁-3'(SEQ ID NO: 427);

5'-Z₃₂UAGUUUAUGCCCUUCAUGUCUA-3'(SEQ ID NO: 428),

trong đó, Z₃₂ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₃₁ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₃₂ là nucleotit bổ sung với Z₃₁;

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 485, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 486:

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

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

hoặc, sợi có nghĩa của siARN chứa trình tự nucleotit như được thể hiện bởi trình tự nêu trong SEQ ID NO: 487, và sợi đối nghĩa của siARN bao gồm trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 488:

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

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

trong đó, Z₃₆ là nucleotit thứ nhất ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa; Z₃₅ được chọn từ A, U, G hoặc C, và Z₃₆ là nucleotit bổ sung với Z₃₅.

13. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-12, trong đó siARN là một bất kỳ trong số siFXIa1, siFXIa2, siFXIb1, siFXIb2, siFXIc1, siFXIc2, siFXId1, siFXId2, siFXIe1, siFXIe2, siFXIf1, siFXIf2, siFXIg1, siFXIg2, siFXIh1, siFXIh2, siFXIi1, và siFXIi2.

14. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-13, trong đó ít nhất một nucleotit trong sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến, và/hoặc ít nhất một nhóm phosphat là nhóm phosphat có (các) nhóm cải biến.

15. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-14, trong đó mỗi nucleotit trong sợi có nghĩa và sợi đối nghĩa độc lập là nucleotit cải biến flo hoặc nucleotit

cải biến không phải flo.

16. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 15, trong đó nucleotit cải biến flo được đặt trong trình tự nucleotit I và trình tự nucleotit II; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', ít nhất các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I là nucleotit cải biến flo; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', ít nhất các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II là nucleotit cải biến flo.

17. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 16, trong đó, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 hoặc ở các vị trí 5, 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa là nucleotit cải biến không phải flo; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 hoặc ở các vị trí 2, 6, 8, 9, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa là nucleotit cải biến không phải-flo.

18. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 15-17, trong đó mỗi nucleotit cải biến không phải flo độc lập được chọn từ nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza của nó bằng nhóm không chứa -flo, hoặc chất tương tự nucleotit.

19. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 18, trong đó nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm không chứa -flo là nucleotit được chọn từ nhóm bao gồm nucleotit cải biến 2'-alkoxy, nucleotit cải biến alkoxy được thế 2'-, nucleotit cải biến 2'-alkyl, nucleotit cải biến alkyl được thế 2'-, nucleotit cải biến 2'-amino, nucleotit cải biến amino được thế 2'-, và 2'-deoxy nucleotit; và chất tương tự nucleotit là chất được chọn từ nhóm bao gồm isonucleotit, LNA, ENA, cET, UNA, và GNA.

20. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 15-19, trong đó mỗi nucleotit cải biến không phải flo là nucleotit cải biến metoxy; và nucleotit cải biến metoxy

đề cập đến nucleotit được tạo thành bởi sự thay thế 2'-hydroxy của nhóm riboza bằng nhóm metoxy.

21. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 17, trong đó, theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 5, 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I in sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 8, 9, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; hoặc

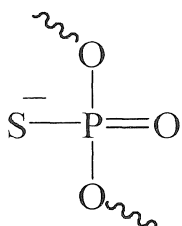
theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 5, 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; hoặc theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 7, 8 và 9 của trình tự nucleotit I trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi có nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy; và theo hướng từ đầu tận cùng 5' đến đầu tận cùng 3', các nucleotit ở các vị trí 2, 6, 14, và 16 của trình tự nucleotit II trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến flo, và các nucleotit ở các vị trí khác trong sợi đối nghĩa của siARN là nucleotit cải biến metoxy.

22. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-21, trong đó siARN là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1, siFXIa1-M2, siFXIa1-M3, siFXIa2-M1, siFXIa2-M2, siFXIa2-M3, siFXIb1-M1, siFXIb1-M2, siFXIb1-M3, siFXIb2-M1, siFXIb2-M2, siFXIb2-M3, siFXIc1-M1, siFXIc1-M2, siFXIc1-M3, siFXIc2-M1, siFXIc2-M2, siFXIc2-M3, siFXId1-M1, siFXId1-M2, siFXId1-M3, siFXId2-M1, siFXId2-M2, siFXId2-M3, siFXIe1-M1, siFXIe1-M2, siFXIe1-M3, siFXIe2-M1, siFXIe2-M2, siFXIe2-M3, siFXIf1-M1, siFXIf1-M2, siFXIf1-M3, siFXIf2-M1, siFXIf2-M2, siFXIf2-

M3, siFXIg1-M1, siFXIg1-M2, siFXIg1-M3, siFXIg2-M1, siFXIg2-M2, siFXIg2-M3, siFXIh1-M1, siFXIh1-M2, siFXIh1-M3, siFXIh2-M1, siFXIh2-M2, siFXIh2-M3, siFXIi1-M1, siFXIi1-M2, siFXIi1-M3, siFXIi2-M1, siFXIi2-M2, và siFXIi2-M3.

23. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 14, trong đó nhóm phosphat có (các) nhóm cải biến là nhóm phosphorothioat được tạo thành bằng cách thay thế ít nhất một nguyên tử oxy trong liên kết phosphodiester trong nhóm phosphat bằng nguyên tử lưu huỳnh.

24. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 14 hoặc 23, trong đó nhóm phosphat có (các) nhóm cải biến là nhóm phosphorothioat có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (1):



công thức (1).

25. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 23 hoặc 24, trong đó liên kết phosphorothioat được đặt ở ít nhất một trong số nhóm bao gồm các vị trí sau:

- vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 5' của sợi có nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 5' của sợi đối nghĩa;
- vị trí giữa nucleotit thứ nhất và thứ hai ở đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa; và
- vị trí giữa nucleotit thứ hai và thứ ba ở đầu tận cùng 3' của sợi đối nghĩa.

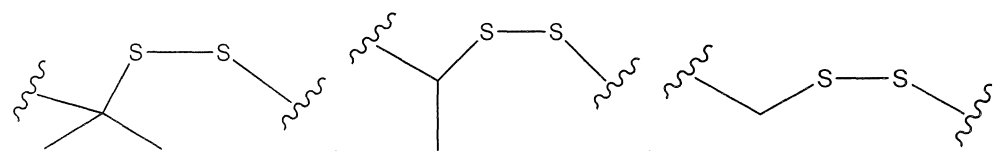
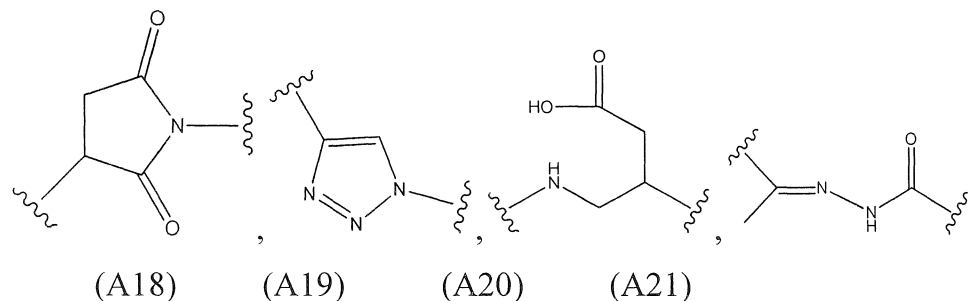
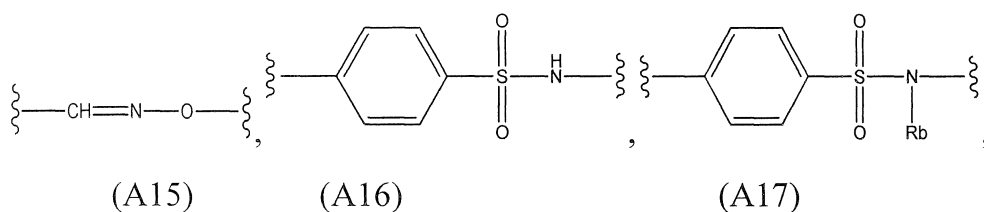
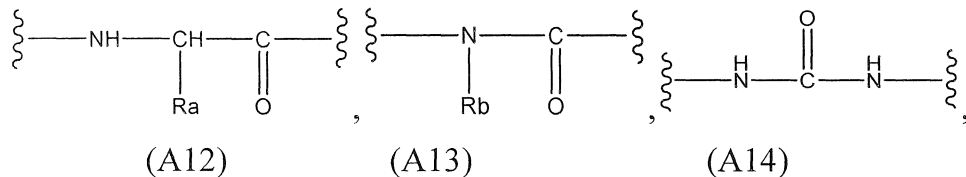
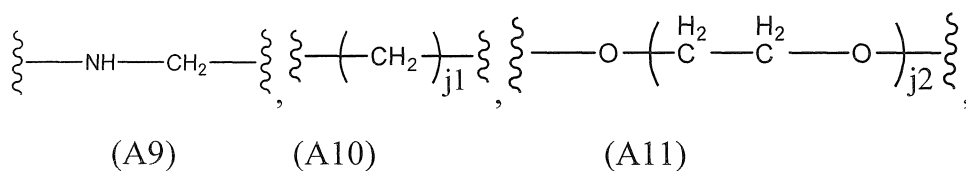
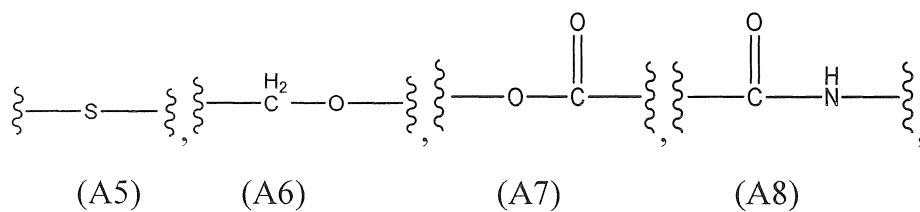
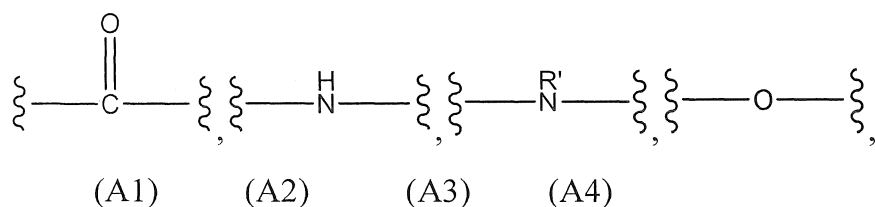
26. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-25, trong đó siARN là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1S, siFXIa1-M2S, siFXIa1-M3S, siFXIa2-M1S, siFXIa2-M2S, siFXIa2-M3S, siFXIb1-M1S, siFXIb1-M2S, siFXIb1-M3S, siFXIb2-

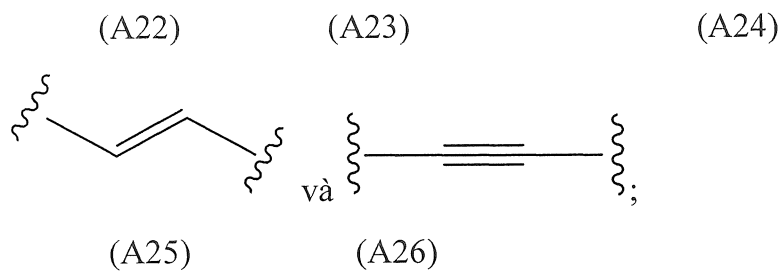
M1S, siFXIb2-M2S, siFXIb2-M3S, siFXIc1-M1S, siFXIc1-M2S, siFXIc1-M3S, siFXIc2-M1S, siFXIc2-M2S, siFXIc2-M3S, siFXId1-M1S, siFXId1-M2S, siFXId1-M3S, siFXId2-M1S, siFXId2-M2S, siFXId2-M3S, siFXIe1-M1S, siFXIe1-M2S, siFXIe1-M3S, siFXIe2-M1S, siFXIe2-M2S, siFXIe2-M3S, siFXIf1-M1S, siFXIf1-M2S, siFXIf1-M3S, siFXIf2-M1S, siFXIf2-M2S, siFXIf2-M3S, siFXIg1-M1S, siFXIg1-M2S, siFXIg1-M3S, siFXIg2-M1S, siFXIg2-M2S, siFXIg2-M3S, siFXIh1-M1S, siFXIh1-M2S, siFXIh1-M3S, siFXIh2-M1S, siFXIh2-M2S, siFXIh2-M3S, siFXIi1-M1S, siFXIi1-M2S, siFXIi1-M3S, siFXIi2-M1S, siFXIi2-M2S, và siFXIi2-M3S.

27. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-26, trong đó siARN là một bất kỳ trong số siFXIa1-M1P1, siFXIa1-M2P1, siFXIa1-M3P1, siFXIa2-M1P1, siFXIa2-M2P1, siFXIa2-M3P1, siFXIa1-M1SP1, siFXIa1-M2SP1, siFXIa1-M3SP1, siFXIa2-M1SP1, siFXIa2-M2SP1, siFXIa2-M3SP1, siFXIb1-M1P1, siFXIb1-M2P1, siFXIb1-M3P1, siFXIb2-M1P1, siFXIb2-M2P1, siFXIb2-M3P1, siFXIb1-M1SP1, siFXIb1-M2SP1, siFXIb1-M3SP1, siFXIb2-M1SP1, siFXIb2-M2SP1, siFXIb2-M3SP1, siFXIc1-M1P1, siFXIc1-M2P1, siFXIc1-M3P1, siFXIc2-M1P1, siFXIc2-M2P1, siFXIc2-M3P1, siFXIc1-M1SP1, siFXIc1-M2SP1, siFXIc1-M3SP1, siFXIc2-M1SP1, siFXIc2-M2SP1, siFXIc2-M3SP1, siFXId1-M1P1, siFXId1-M2P1, siFXId1-M3P1, siFXId2-M1P1, siFXId2-M2P1, siFXId2-M3P1, siFXId1-M1SP1, siFXId1-M2SP1, siFXId1-M3SP1, siFXId2-M1SP1, siFXId2-M2SP1, siFXId2-M3SP1, siFXIe1-M1P1, siFXIe1-M2P1, siFXIe1-M3P1, siFXIe2-M1P1, siFXIe2-M2P1, siFXIe2-M3P1, siFXIe1-M1SP1, siFXIe1-M2SP1, siFXIe1-M3SP1, siFXIe2-M1SP1, siFXIe2-M2SP1, siFXIe2-M3SP1, siFXIf1-M1P1, siFXIf1-M2P1, siFXIf1-M3P1, siFXIf2-M1P1, siFXIf2-M2P1, siFXIf2-M3P1, siFXIf1-M1SP1, siFXIf1-M2SP1, siFXIf1-M3SP1, siFXIf2-M1SP1, siFXIf2-M2SP1, siFXIf2-M3SP1, siFXIg1-M1P1, siFXIg1-M2P1, siFXIg1-M3P1, siFXIg2-M1P1, siFXIg2-M2P1, siFXIg2-M3P1, siFXIg1-M1SP1, siFXIg1-M2SP1, siFXIg1-M3SP1, siFXIg2-M1SP1, siFXIg2-M2SP1, siFXIg2-M3SP1, siFXIh1-M1P1, siFXIh1-M2P1, siFXIh1-M3P1, siFXIh2-M1P1, siFXIh2-M2P1, siFXIh2-M3P1, siFXIh1-M1SP1, siFXIh1-M2SP1, siFXIh1-M3SP1, siFXIh2-M1SP1, siFXIh2-M2SP1, siFXIh2-M3SP1, siFXIi1-M1P1, siFXIi1-M2P1, siFXIi1-M3P1,

siFXIi2-M1P1, siFXIi2-M2P1, siFXIi2-M3P1, siFXIi1-M1SP1, siFXIi1-M2SP1, siFXIi1-M3SP1, siFXIi2-M1SP1, siFXIi2-M2SP1, và siFXIi2-M3SP1.

28. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 1, trong đó mỗi L_1 độc lập được chọn từ nhóm bao gồm nhóm bao gồm các công thức (A1)-(A26) và sự kết hợp bất kỳ của nó:



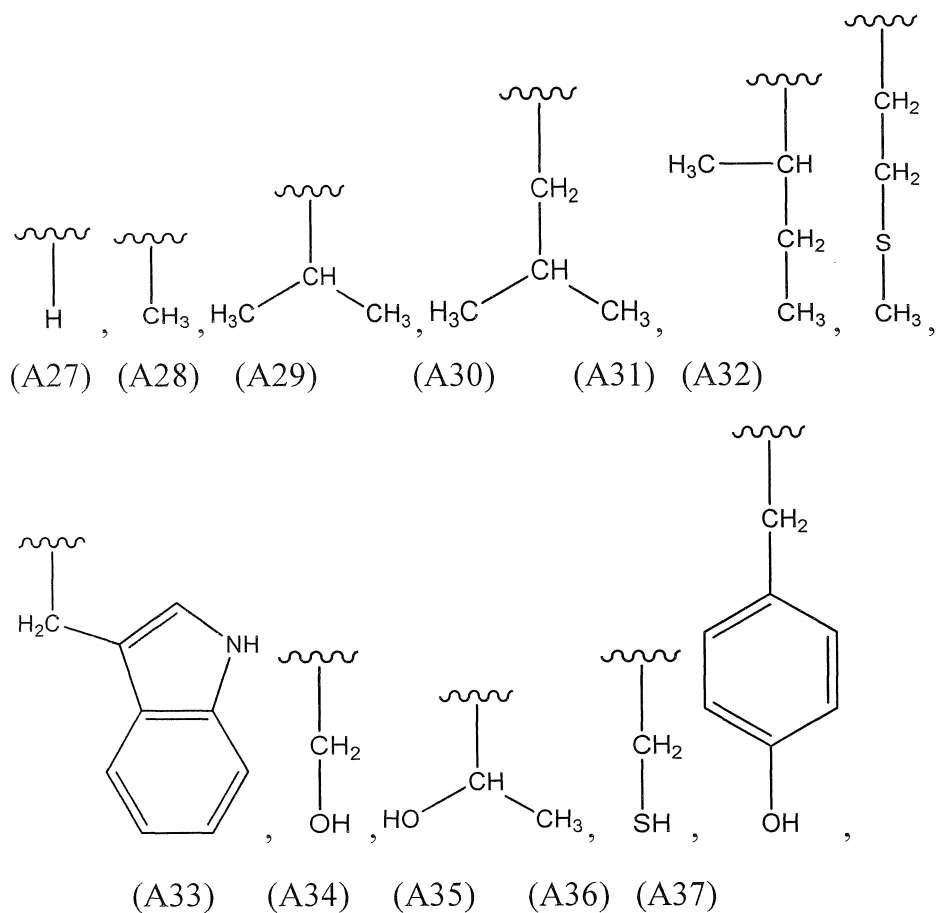


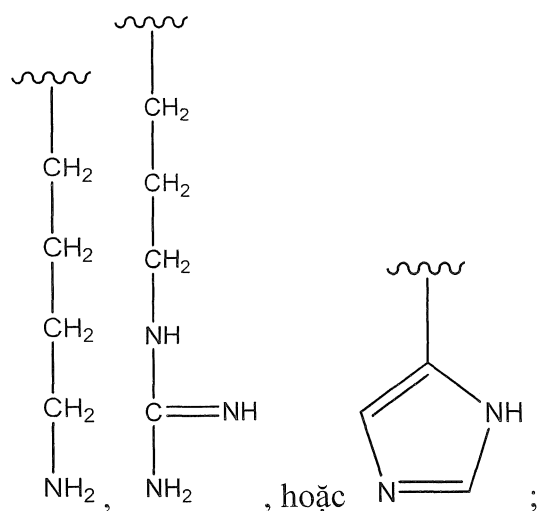
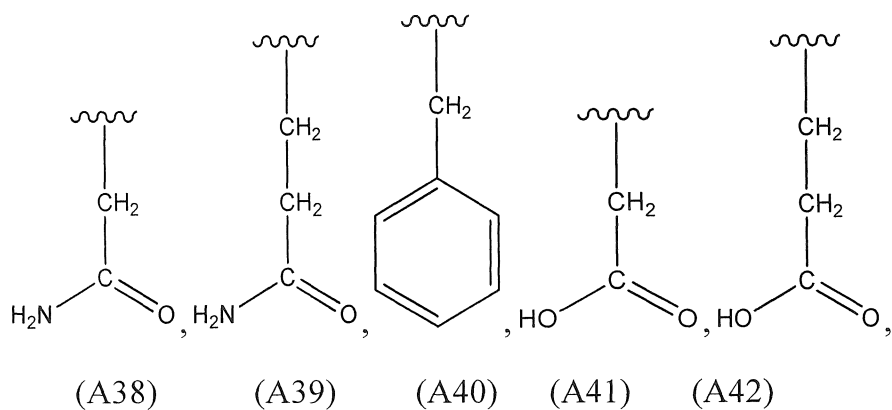
trong đó mỗi j1 độc lập là số nguyên từ 1-20;

mỗi j2 độc lập là số nguyên từ 1-20;

mỗi R' độc lập là C₁-C₁₀ alkyl;

mỗi Ra được chọn từ nhóm bao gồm nhóm bao gồm các công thức (A27)-(A45) và sự kết hợp bất kỳ của nó:





mỗi Rb độc lập là C₁-C₁₀ alkyl; và

~~~~ thể hiện vị trí trong đó nhóm được liên kết đồng hóa trị.

29. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 28, trong đó L<sub>1</sub> được chọn từ nhóm bao gồm nhóm có công thức (A1), (A4), (A5), (A6), (A8), (A10), (A11), và (A13) và các sự kết hợp kết nối của nó.

30. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 29, trong đó L<sub>1</sub> là các sự kết hợp kết nối của ít nhất hai trong số nhóm có công thức (A1), (A4), (A8), (A10), và (A11).

31. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 30, trong đó L<sub>1</sub> là các sự kết hợp kết nối của ít nhất hai trong số nhóm có công thức (A1), (A8) và (A10).

32. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-31, trong đó  $L_1$  có chiều dài là từ 3 đến 25 nguyên tử.
33. Thở tiếp hợp siARN theo điểm 32, trong đó  $L_1$  có chiều dài là từ 4 đến 15 nguyên tử.
34. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 28-33, trong đó  $j_1$  là số nguyên từ 2-10;  $j_2$  là số nguyên từ 2-10;  $R'$  là  $C_1$ - $C_4$  alkyl;  $R_a$  là một trong số các công thức (A27), (A28), (A29), (A30), và (A31); và  $R_b$  là  $C_1$ - $C_5$  alkyl.
35. Thở tiếp hợp siARN theo điểm 34, trong đó  $j_1$  là số nguyên từ 3-5;  $j_2$  là số nguyên từ 3-5;  $R'$  là một trong số methyl, ethyl và isopropyl;  $R_a$  là Công thức (A27) hoặc (A28);  $R_b$  là một trong số methyl, ethyl, isopropyl, và butyl.
36. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-35, trong đó  $n_1$  là số nguyên từ 1-2;  $n_3$  là số nguyên từ 0-1; và  $n_1+n_3=2-3$ .
37. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-36, trong đó mỗi  $m_1$ ,  $m_2$  và  $m_3$  độc lập với nhau là số nguyên từ 2-5.
38. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-37, trong đó  $m_1 = m_2 = m_3$ .
39. Thở tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-38, trong đó mỗi nhóm hướng đích độc lập là phối tử mà có ái lực với thụ thể asialoglycoprotein trên bề mặt của tế bào gan của động vật có vú.
40. Thở tiếp hợp siARN theo điểm 39, trong đó mỗi nhóm hướng đích độc lập là asialoglycoprotein hoặc saccharit.
41. Thở tiếp hợp siARN theo điểm 40, trong đó mỗi nhóm hướng đích độc lập được chọn

từ nhóm bao gồm D-mannopyranoza, L-mannopyranoza, D-arabinoza, D-xylofuranoza, L-xylofuranoza, D-glucoza, L-glucoza, D-galactoza, L-galactoza,  $\alpha$ -D-mannofuranoza,  $\beta$ -D-mannofuranoza,  $\alpha$ -D-mannopyranoza,  $\beta$ -D-mannopyranoza,  $\alpha$ -D-glucopyranoza,  $\beta$ -D-glucopyranoza,  $\alpha$ -D-glucufuranoza,  $\beta$ -D-glucufuranoza,  $\alpha$ -D-fructofuranoza,  $\alpha$ -D-fructopyranoza,  $\alpha$ -D-galactopyranoza,  $\beta$ -D-galactopyranoza,  $\alpha$ -D-galactofuranoza,  $\beta$ -D-galactofuranoza, glucosamin, axit sialic, galactosamin, N-axetylgalactosamin, N-trifloaxetylgalactosamin, N-propionylgalactosamin, N-n-butyrylgalactosamin, N-isobutyrylgalactosamin, 2-amino-3-O-[(R)-1-carboxyetyl]-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopyranoza, 2-deoxy-2-metylamino-L-glucopyranoza, 4,6-dideoxy-4-formamido-2,3-di-O-metyl-D-mannopyranoza, 2-deoxy-2-sulfoamino-D-glucopyranoza, N-glycolyl- $\alpha$ -neuraminic acid, 5-thio- $\beta$ -D-glucopyranoza, methyl 2,3,4-tris-O-acetyl-1-thio-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosit, 4-thio- $\beta$ -D-galactopyranoza, etyl 3,4,6,7-tetra-O-acetyl-2-deoxy-1,5-dithio- $\alpha$ -D-glucoheptopyranosit, 2,5-anhydro-D-allononitril, riboza, D-riboza, D-4-thioriboza, L-riboza, L-4-thioriboza.

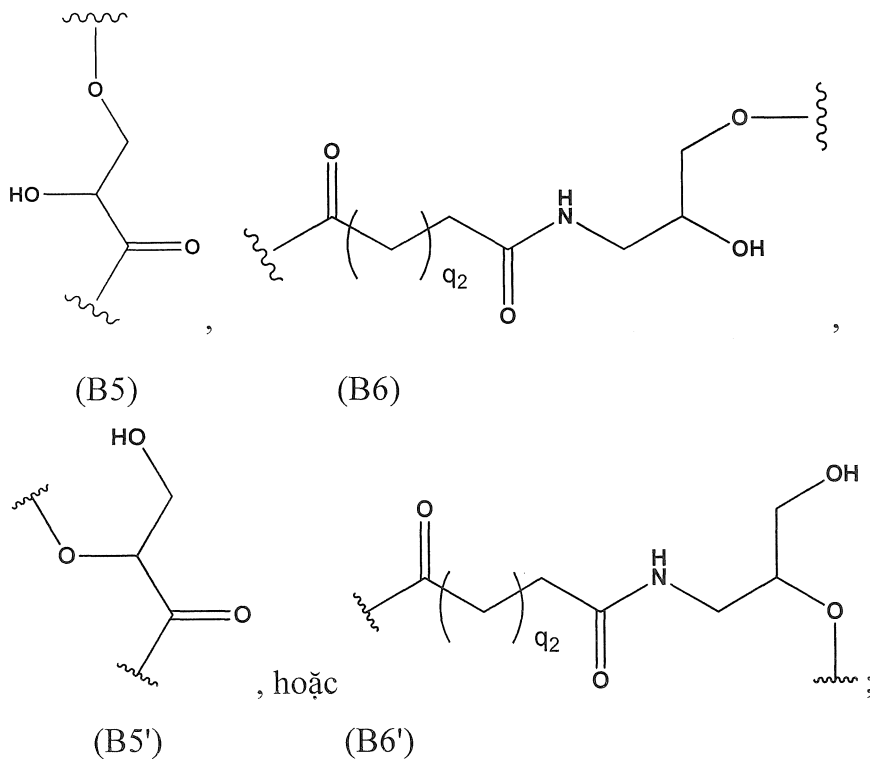
42. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 41, trong đó ít nhất một hoặc mỗi nhóm hướng đích là galactoza hoặc N-axetylgalactosamin.

43. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-42, trong đó  $R_{10}$ ,  $R_{11}$ ,  $R_{12}$ ,  $R_{13}$ ,  $R_{14}$ , và  $R_{15}$  độc lập với nhau được chọn từ H, methyl và etyl.

44. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 28-43, trong đó nhóm  $R_2$  có cả hai vị trí liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ và vị trí liên kết với nguyên tử P trong  $R_3$ .

45. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-44, trong đó trong  $R_2$ , vị trí liên kết với nguyên tử N trên khung có nitơ tạo thành liên kết amit với nguyên tử N, và vị trí liên kết với nguyên tử P trong  $R_3$  tạo thành liên kết phosphoeste với nguyên tử P.

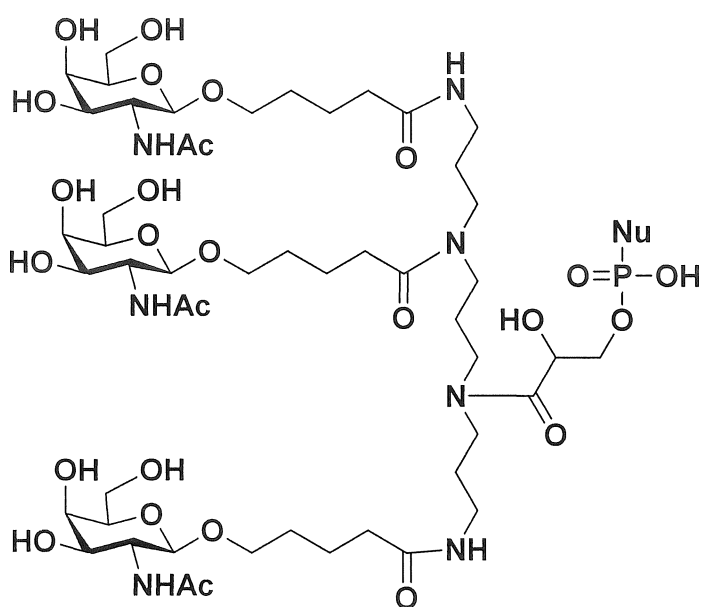
46. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-45, trong đó  $R_2$  được chọn từ B5, B6, B5', hoặc B6':



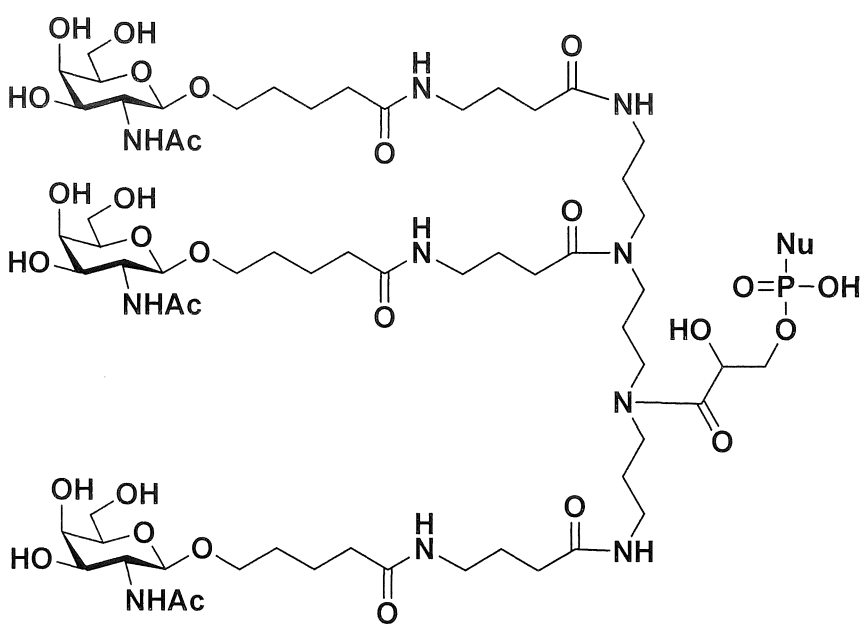
trong đó  $\sim$  thể hiện vị trí trong đó nhóm này được liên kết đồng hóa trị;  
 $Q_2$  là một số nguyên nằm trong khoảng từ 1 đến 10.

47. Thẻ tiếp hợp siARN theo điểm 46, trong đó  $q_2$  là số nguyên từ 1-5.

48. Thẻ tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-47, trong đó thẻ tiếp hợp siARN có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (403), (404), (405), (406), (407), (408), (409), (410), (411), (412), (413), (414), (415), (416), (417), (418), (419), (420), (421) hoặc (422):

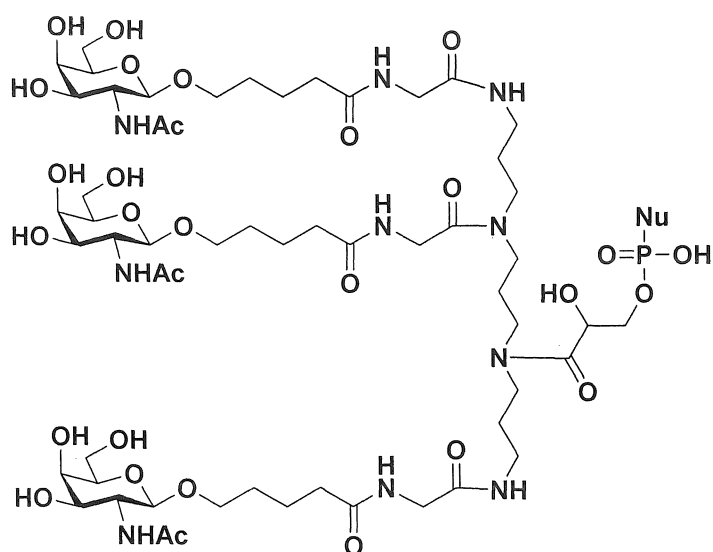


công thức (403)

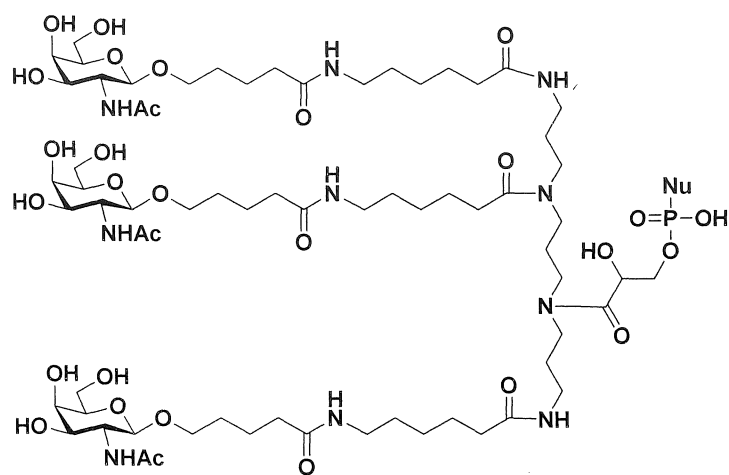


công thức (404)

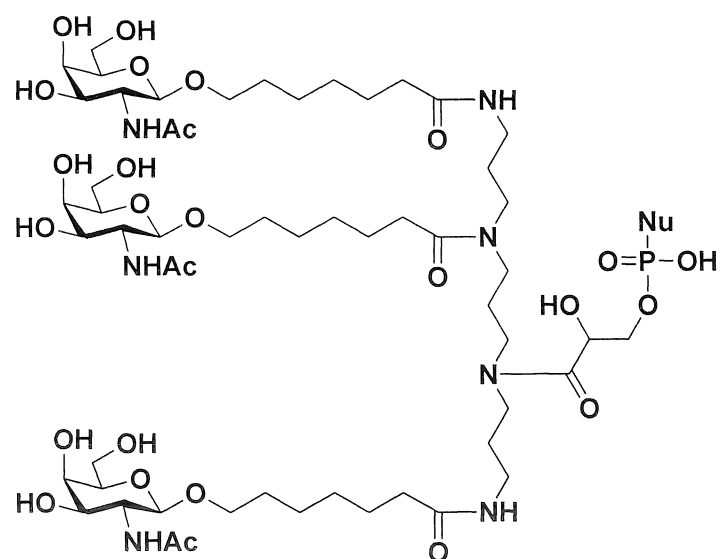




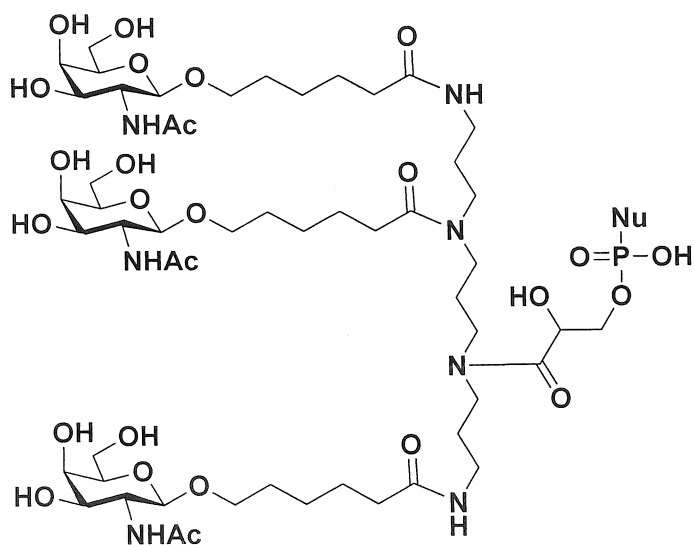
công thức (405)



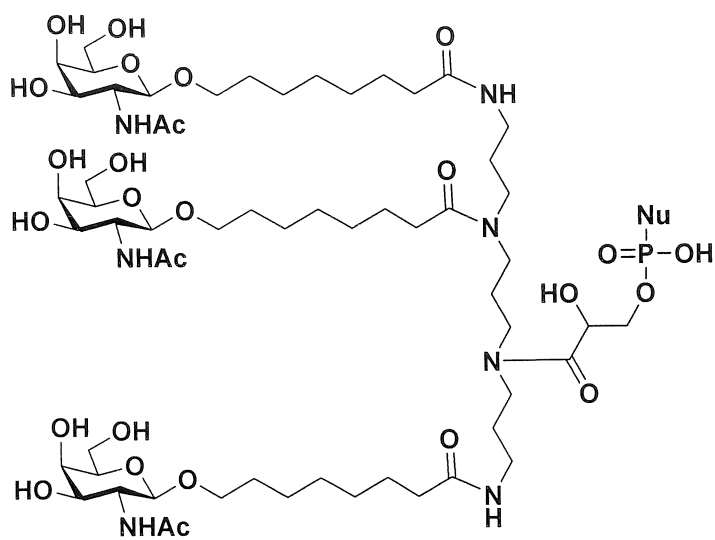
công thức (406)



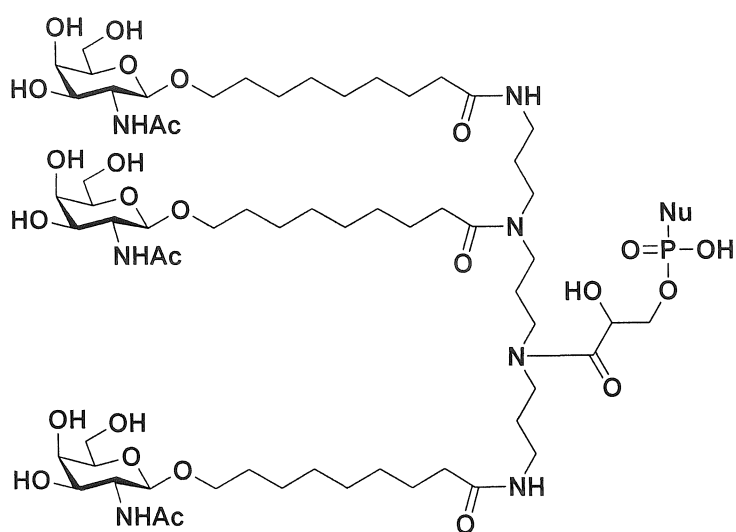
công thức (407)



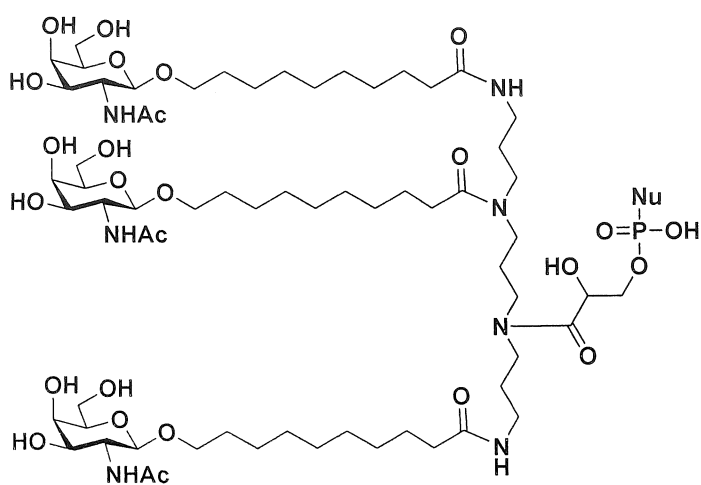
công thức (408)



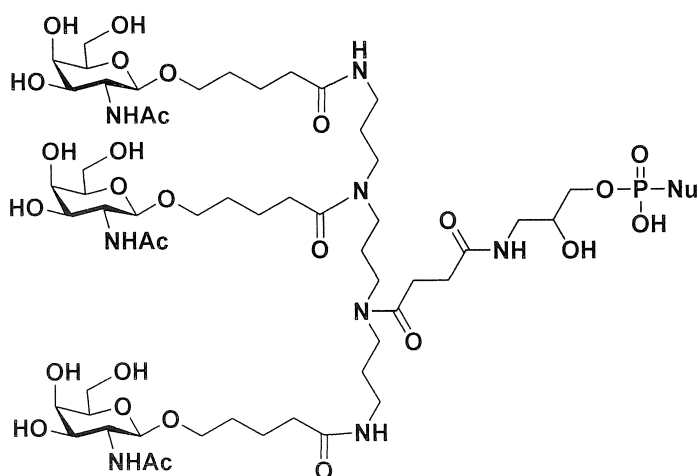
công thức (409)



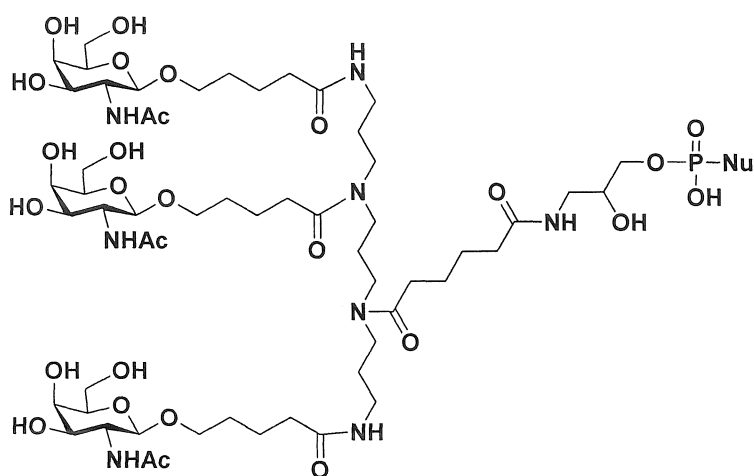
công thức (410)



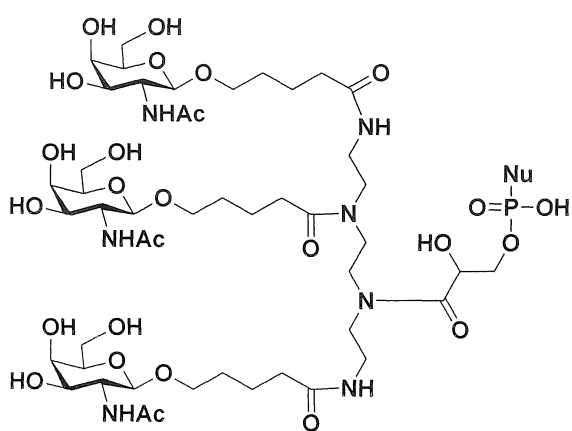
công thức (411)



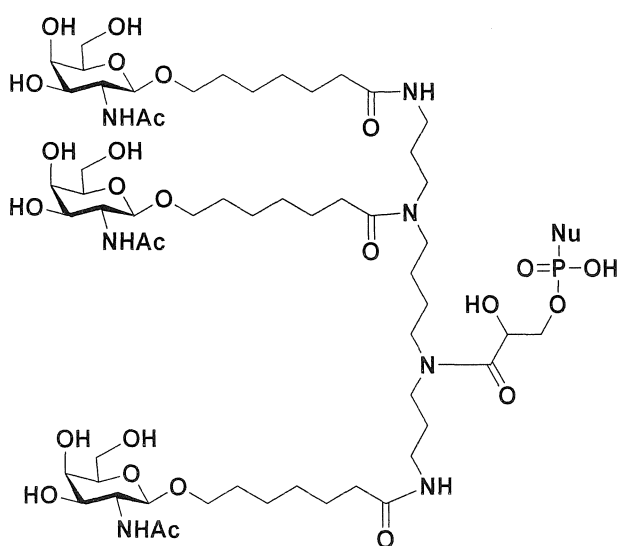
công thức (412)



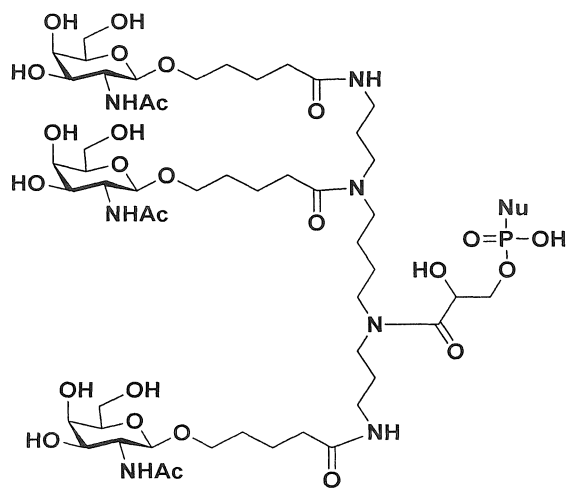
công thức (413)



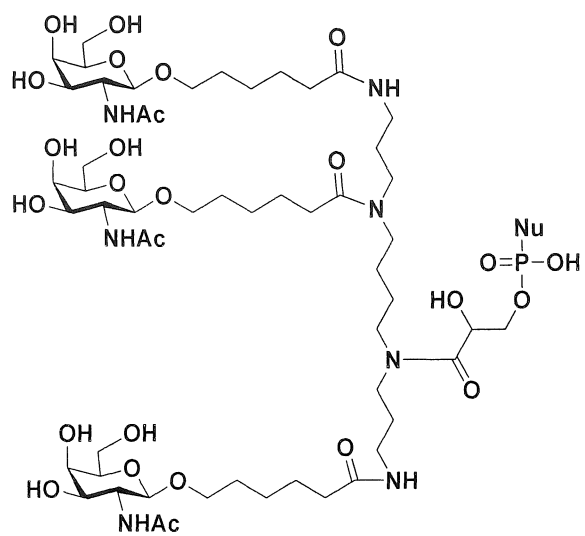
công thức (414)



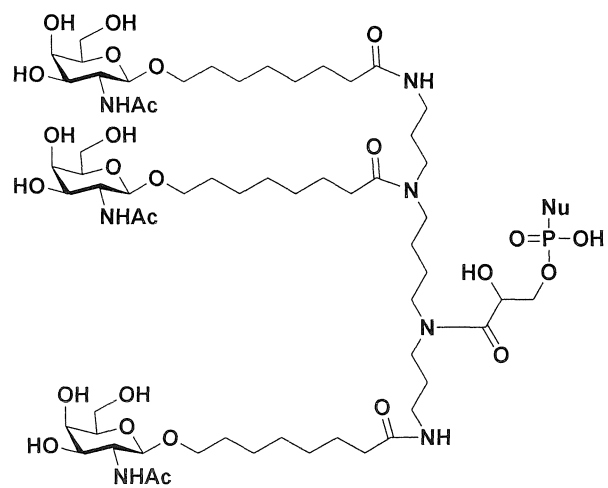
công thức (415)



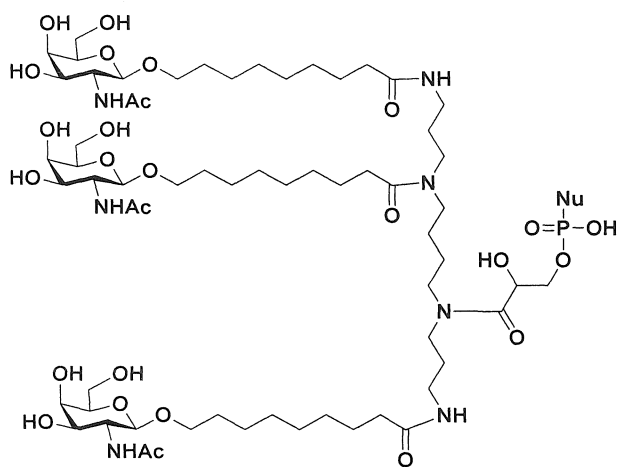
công thức (416)



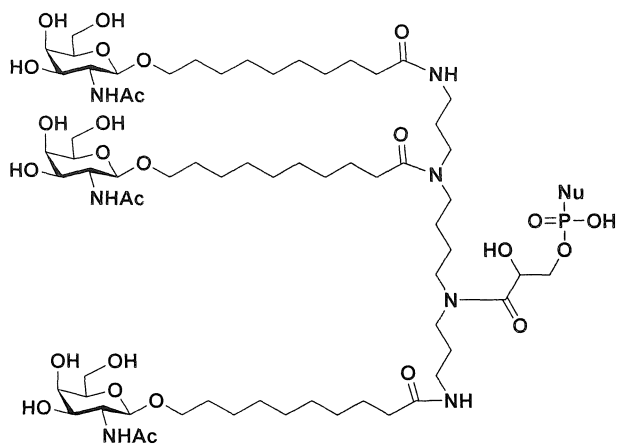
công thức (417)



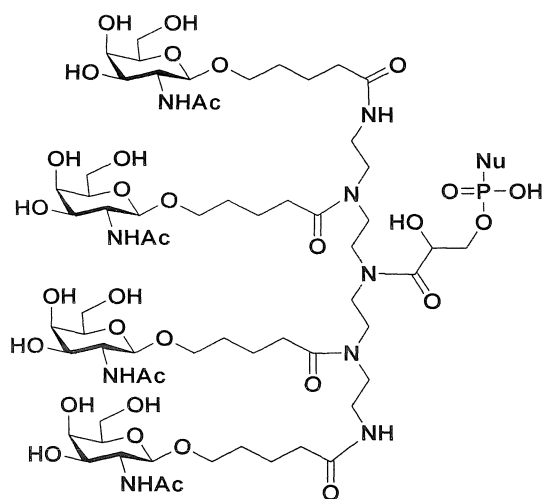
công thức (418)



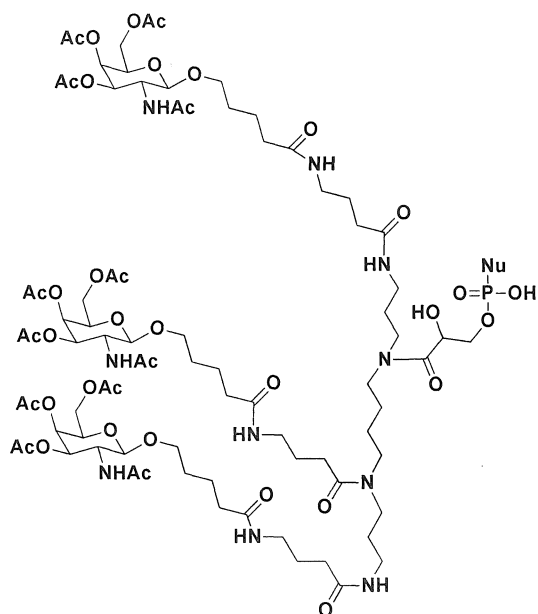
công thức (419)



công thức (420)



công thức (421)



công thức (422)

49. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-48, trong đó nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với vùng tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN; và vùng tận cùng đề cập đến 4 nucleotit thứ nhất được tính từ một đầu tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa.

50. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 49, trong đó nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với một trong số các đầu tận cùng của sợi có nghĩa hoặc sợi đối nghĩa của siARN.

51. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 50, trong đó nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với đầu tận cùng 3' của sợi có nghĩa của siARN.

52. Thể tiếp hợp siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-51, trong đó nguyên tử P trong công thức (A59) được liên kết với vị trí 2', 3', hoặc 5' của nucleotit trong siARN bằng cách tạo thành liên kết phosphodiester.

53. Thể tiếp hợp siARN theo điểm 52, trong đó thể tiếp hợp siARN này là L10-siFXIf1M1S, trong đó L10 có cấu trúc như được thể hiện bằng công thức (403), và sợi

có nghĩa của siFXIf1M1S có trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 541, và sợi đối nghĩa của siFXIf1M1S có trình tự nucleotit như được thể hiện bởi SEQ ID NO: 542:

5'-GmsUmsAmCmGmUmGfGfAfCmUmGmGmAmUmUmCmUmGm-3'

(SEQ ID NO:541)

5'-CmsAfsGmAmAmUfCmCmAmGmUmCmCmAfCmGfUmAmCmsUmsUm-

3'(SEQ ID NO: 542).

54. Phương pháp ức chế sự biểu hiện của gen yếu tố đông máu XI (Coagulation Factor XI) in vitro, bao gồm tiếp xúc khối lượng hữu hiệu siARN theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1-53 với tế bào này.



## DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> SU ZHOU RIBO LIFE SCIENCE CO.,LTD

<120> AXIT NUCLEIC, DƯỢC PHẨM,  
THỂ TIẾP HỢP

<130> FP1200353P

<150> CN 2019104305887

<151> 2019-5-22

<160> 577

<210> 1

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z1, Z1 là U

<400> 1

ggguauucuu ucaagcaan

19

<210> 2

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z2, Z2 là A

<400> 2

nuugcuugaa agaauaccc

19

<210> 3

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z3, Z3 là A, U, G hoặc C

<400> 3  
ggguauucuu ucaagcaan  
19

<210> 4  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z4, Z4 là nucleotit bổ sung với Z3,  
Z3 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 4  
nuugcuugaa agaauaccc  
19

<210> 5  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z3, Z3 là A, U, G hoặc C

<400> 5  
ggguauucuu ucaagcaan  
19

<210> 6  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z4, Z4 là nucleotit bổ sung với Z3,  
Z3 được chọn từ A,U,G or C

<400> 6  
nuugcuugaa agaauaccga g  
21

<210> 7  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z3, Z3 là A, U, G hoặc C

<400> 7  
 cuggguauuc uuucaagcaa n  
 21

<210> 8  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z4, Z4 là nucleotit bổ sung với Z3,  
 Z3 được chọn từ A,U,G or C

<400> 8  
 nuugcuugaa agaauaccca gaa  
 23

<210> 9  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1

<400> 9  
 gggauuucuu ucaagcaau  
 19

<210> 10  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1

<400> 10  
 auugcuugaa agaauaccca g  
 21

<210> 11  
 <211> 21  
 <212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2

<400> 11

cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 12

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2

<400> 12

auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 13

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M1

<400> 13

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 14

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M1

<400> 14

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 15

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M2

<400> 15  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 16  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M2

<400> 16  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 17  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M3

<400> 17  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 18  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M3

<400> 18  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 19  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M1

<400> 19  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 20  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M1

<400> 20  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 21  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M2

<400> 21  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 22  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M2

<400> 22  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 23  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M3

<400> 23  
cuggguauuc uuucaagcaau  
21

<210> 24  
<211> 23  
<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M3

<400> 24

auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 25

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M1S

<400> 25

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 26

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M1S

<400> 26

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 27

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M2S

<400> 27

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 28

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M2S

<400> 28

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 29

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M3S

<400> 29

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 30

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M3S

<400> 30

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 31

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M1S

<400> 31

cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 32

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M1S

<400> 32

auugcuugaa agaauaccca gaa  
23



<210> 33  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M2S

<400> 33  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 34  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M2S

<400> 34  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 35  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M3S

<400> 35  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 36  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M3S

<400> 36  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 37  
<211> 19  
<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M1P1

<400> 37  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 38  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M1P1

<400> 38  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 39  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M2P1

<400> 39  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 40  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M2P1

<400> 40  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 41  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M3P1

<400> 41  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 42  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M3P1

<400> 42  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 43  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M1P1

<400> 43  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 44  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M1P1

<400> 44  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 45  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M2P1

<400> 45  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 46  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M2P1

<400> 46  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 47  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M3P1

<400> 47  
cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 48  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M3P1

<400> 48  
auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 49  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M1SP1

<400> 49  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 50  
<211> 21  
<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M1SP1

<400> 50

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 51

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M2SP1

<400> 51

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 52

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M2SP1

<400> 52

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 53

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa1-M3SP1

<400> 53

ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 54

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa1-M3SP1

<400> 54

auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 55

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M1SP1

<400> 55

cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 56

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M1SP1

<400> 56

auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 57

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M2SP1

<400> 57

cuggguauuc uuucaagcaa u  
21

<210> 58

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M2SP1

<400> 58

auugcuugaa agaauaccca gaa  
23

<210> 59  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIa2-M3SP1

<400> 59  
 cuggguauuc uuucaagcaa u  
 21

<210> 60  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIa2-M3SP1

<400> 60  
 auugcuugaa agaauaccca gaa  
 23

<210> 61  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z5, Z5 là U

<400> 61  
 ggcauaaacu auaacagcn  
 19

<210> 62  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z6, Z6 là A

<400> 62  
 ngcuguuaua guuuauGCC  
 19

<210> 63  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z7, Z7 là A, U,G or C

<400> 63  
 ggcauaaacu auaacagcn  
 19

<210> 64  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z8, Z8 là nucleotit bổ sung với Z7,  
 Z7 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 64  
 ngcuguuaua guuuauGCC  
 19

<210> 65  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z7, Z7 là A, U, G hoặc C

<400> 65  
 ggcauaaacu auaacagcn  
 19

<210> 66  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)



<223> n là Z8, Z8 là nucleotit bổ sung với Z7,  
Z7 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 66  
ngcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 67  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (21)..(21)  
<223> n là Z7, Z7 là A, U, G hoặc C

<400> 67  
agggcauaaaa cuauaacagc n  
21

<210> 68  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z8, Z8 là nucleotit bổ sung với Z7,  
Z7 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 68  
ngcuguuaua guuuauugccc uuc  
23

<210> 69  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1

<400> 69  
ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 70  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1

<400> 70

agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 71

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2

<400> 71

agggcauaaaa cuauaacagc u  
21

<210> 72

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2

<400> 72

agcuguuaua guuuauugccc uuc  
23

<210> 73

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M1

<400> 73

ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 74

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M1

<400> 74

agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 75

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M2

<400> 75

ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 76

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M2

<400> 76

agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 77

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M3

<400> 77

ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 78

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M3

<400> 78

agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 79  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M1

<400> 79  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 80  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M1

<400> 80  
agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 81  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M2

<400> 81  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 82  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M2

<400> 82  
agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 83  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M3

<400> 83

agggcauaaaa cuauaacagc u  
21

<210> 84

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M3

<400> 84

agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 85

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M1S

<400> 85

ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 86

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M1S

<400> 86

agcuguuaua guuuauagccc u  
21

<210> 87

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M2S

<400> 87  
ggcauaaaacu auaacagcu  
19

<210> 88  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M2S

<400> 88  
agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 89  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M3S

<400> 89  
ggcauaaaacu auaacagcu  
19

<210> 90  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M3S

<400> 90  
agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 91  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M1S

<400> 91  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 92  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M1S  
  
 <400> 92  
 agcuguuaua guuuauugccc uuc  
 23  
  
 <210> 93  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M2S  
  
 <400> 93  
 ggcauaaacu auaacagcu  
 19  
  
 <210> 94  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M2S  
  
 <400> 94  
 agcuguuaua guuuauugccc uuc  
 23  
  
 <210> 95  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M3S  
  
 <400> 95  
 agggcauaaa cuauaacagc u  
 21  
  
 <210> 96  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M3S

<400> 96

agcuguuaua guuuauugccc uuc

23

<210> 97

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M1P1

<400> 97

ggcauaaaacu auaacagcu

19

<210> 98

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M1P1

<400> 98

agcuguuaua guuuauugccc u

21

<210> 99

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M2P1

<400> 99

ggcauaaaacu auaacagcu

19

<210> 100

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M2P1



<400> 100

agcuguuaua guuuauagccc u  
21

<210> 101

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M3P1

<400> 101

ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 102

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M3P1

<400> 102

agcuguuaua guuuauagccc u  
21

<210> 103

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M1P1

<400> 103

agggcauaaaa cuauaacagc u  
21

<210> 104

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M1P1

<400> 104

agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 105  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M2P1

<400> 105  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 106  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M2P1

<400> 106  
agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 107  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M3P1

<400> 107  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 108  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M3P1

<400> 108  
agcuguuaua guuuauagccc uuc  
23

<210> 109  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M1SP1

<400> 109

ggcauaaacu auaacagcu

19

<210> 110

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M1SP1

<400> 110

agcuguuaua guuuauugccc u

21

<210> 111

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M2SP1

<400> 111

ggcauaaacu auaacagcu

19

<210> 112

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M2SP1

<400> 112

agcuguuaua guuuauugccc u

21

<210> 113

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb1-M3SP1

<400> 113  
ggcauaaacu auaacagcu  
19

<210> 114  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb1-M3SP1

<400> 114  
agcuguuaua guuuauugccc u  
21

<210> 115  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M1SP1

<400> 115  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 116  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M1SP1

<400> 116  
agcuguuaua guuuauugccc uuc  
23

<210> 117  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M2SP1

<400> 117  
agggcauaaa cuauaacagc u  
21

<210> 118  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M2SP1

<400> 118  
agcuguuaua guuuauugccc uuc  
23

<210> 119  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIb2-M3SP1

<400> 119  
agggcuaaaa cuauaacagc u  
21

<210> 120  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIb2-M3SP1

<400> 120  
agcuguuaua guuuauugccc uuc  
23

<210> 121  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z9, Z9 là A

<400> 121  
gcucaagaau gccagaan  
19

<210> 122  
<211> 19

<212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z10, Z10 là U

<400> 122  
 nuucuuggca uucuugagc  
 19

<210> 123  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z11, Z11 là A, U, G hoặc C

<400> 123  
 gcucaagaau gccagaan  
 19

<210> 124  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z12, Z12 là nucleotit bổ sung với Z11,  
 Z11 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 124  
 nuucuuggca uucuugagc  
 19

<210> 125  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z11, Z11 là A, U, G hoặc C

<400> 125

gcucaagaau gccaagaan  
19

<210> 126  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z12, Z12 là nucleotit bổ sung với Z11,  
Z11 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 126  
nuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 127  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (21)..(21)  
<223> n là Z11, Z11 là A, U, G hoặc C

<400> 127  
gugcucaaga augccaagaa n  
21

<210> 128  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z12, Z12 là nucleotit bổ sung với Z11,  
Z11 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 128  
nuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 129  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1  
  
<400> 129  
gcucaagaau gccaga  
19  
  
<210> 130  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1  
  
<400> 130  
uuucuuggca uucuugagca c  
21  
  
<210> 131  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2  
  
<400> 131  
gugcucaaga augccaagaa a  
21  
  
<210> 132  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2  
  
<400> 132  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23  
  
<210> 133  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M1  
  
<400> 133



gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 134  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M1

<400> 134  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 135  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M2

<400> 135  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 136  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M2

<400> 136  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 137  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M3

<400> 137  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 138

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M3

<400> 138  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 139  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M1

<400> 139  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 140  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M1

<400> 140  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 141  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M2

<400> 141  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 142  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M2

<400> 142  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 143  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M3

<400> 143  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 144  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M3

<400> 144  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 145  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M1S

<400> 145  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 146  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M1S

<400> 146

uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 147  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M2S

<400> 147  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 148  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M2S

<400> 148  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 149  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M3S

<400> 149  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 150  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M3S

<400> 150  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 151

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M1S

<400> 151  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 152  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M1S

<400> 152  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 153  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M2S

<400> 153  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 154  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M2S

<400> 154  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 155  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M3S

<400> 155

gugcucaaga augccaagaa a

21

<210> 156

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M3S

<400> 156

uuucuuggca uucuugagca cuc

23

<210> 157

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M1P1

<400> 157

gcucaagaau gccaagaaa

19

<210> 158

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M1P1

<400> 158

uuucuuggca uucuugagca c

21

<210> 159

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M2P1

<400> 159

gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 160  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M2P1

<400> 160  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 161  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M3P1

<400> 161  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 162  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M3P1

<400> 162  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 163  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M1P1

<400> 163  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 164

<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M1P1

<400> 164  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 165  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M2P1

<400> 165  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 166  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M2P1

<400> 166  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 167  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M3P1

<400> 167  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 168  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo



<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M3P1

<400> 168  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 169  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M1SP1

<400> 169  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 170  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M1SP1

<400> 170  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 171  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M2SP1

<400> 171  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 172  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M2SP1

<400> 172

uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 173  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc1-M3SP1

<400> 173  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 174  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc1-M3SP1

<400> 174  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 175  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M1SP1

<400> 175  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 176  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M1SP1

<400> 176  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 177

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M2SP1

<400> 177  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 178  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M2SP1

<400> 178  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 179  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIc2-M3SP1

<400> 179  
gugcucaaga augccaagaa a  
21

<210> 180  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIc2-M3SP1

<400> 180  
uuucuuggca uucuugagca cuc  
23

<210> 181  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z13, Z13 là U

<400> 181  
 gcaacaaaga cauuuuagn  
 19

<210> 182  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z14, Z14 là A

<400> 182  
 ncauaaaugu cuuuguugc  
 19

<210> 183  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z15, Z15 là A, U, G hoặc C

<400> 183  
 gcaacaaaga cauuuuagn  
 19

<210> 184  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z16, Z16 là nucleotit bổ sung với Z15,  
 Z15 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 184  
 ncauaaaugu cuuuguugc  
 19

<210> 185  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z15, Z15 là A, U, G hoặc C

<400> 185  
 gcaacaaaga cauuuaugn  
 19

<210> 186  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z16, Z16 là nucleotit bổ sung với Z15,  
 Z15 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 186  
 ncauaaaugu cuuuguugca a  
 21

<210> 187  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z15, Z15 là A, U, G hoặc C

<400> 187  
 uugcaacaaa gacauuuauug n  
 21

<210> 188  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z16, Z16 là nucleotit bổ sung với Z15,

Z15 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 188

ncauaaaugu cuuuguugca agc

23

<210> 189

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1

<400> 189

gcaacaaaga cauuaugu

19

<210> 190

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1

<400> 190

acauaaaugu cuuuguugca a

21

<210> 191

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2

<400> 191

uugcaacaaa gacauuaug u

21

<210> 192

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2

<400> 192

acaiaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 193  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M1

<400> 193  
gcaacaaaga cauuaaugu  
19

<210> 194  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M1

<400> 194  
acaiaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 195  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M2

<400> 195  
gcaacaaaga cauuaaugu  
19

<210> 196  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M2

<400> 196  
acaiaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 197

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M3

<400> 197  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 198  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M3

<400> 198  
acauaaauugu cuuuguugca a  
21

<210> 199  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M1

<400> 199  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 200  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M1

<400> 200  
acauaaauugu cuuuguugca agc  
23

<210> 201  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo



<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M2

<400> 201

uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 202

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M2

<400> 202

acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 203

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M3

<400> 203

uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 204

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M3

<400> 204

acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 205

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M1S

<400> 205

gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 206  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M1S

<400> 206  
acaucuaaagu cuuuguugca a  
21

<210> 207  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M2S

<400> 207  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 208  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M2S

<400> 208  
acaucuaaagu cuuuguugca a  
23

<210> 209  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M3S

<400> 209  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 210

<211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Anritrình tự có nghĩa cho siFXId1-M3S  
  
 <400> 210  
 acauaaaugu cuuuguugca a  
 21  
  
 <210> 211  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M1S  
  
 <400> 211  
 uugcaacaaa gacauuuuug u  
 21  
  
 <210> 212  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M1S  
  
 <400> 212  
 acauaaaugu cuuuguugca agc  
 23  
  
 <210> 213  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M2S  
  
 <400> 213  
 uugcaacaaa gacauuuuug u  
 21  
  
 <210> 214  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M2S

<400> 214  
acaauaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 215  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M3S

<400> 215  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 216  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M3S

<400> 216  
acaauaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 217  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M1P1

<400> 217  
gcaacaaaga cauuuuugu  
19

<210> 218  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M1P1

<400> 218

acaiaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 219  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M2P1

<400> 219  
gcaacaaaga cauuaugu  
21

<210> 220  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M2P1

<400> 220  
acaiaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 221  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M3P1

<400> 221  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 222  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M3P1

<400> 222  
acaiaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 223

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M1P1

<400> 223  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 224  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M1P1

<400> 224  
acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 225  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M2P1

<400> 225  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 226  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M2P1

<400> 226  
acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 227  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M3P1  
  
<400> 227  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21  
  
<210> 228  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M3P1  
  
<400> 228  
acaucuaaauugc cuuuguugca agc  
23  
  
<210> 229  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M1SP1  
  
<400> 229  
gcaacaaaga cauuuuauug  
19  
  
<210> 230  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M1SP1  
  
<400> 230  
acaucuaaauugc cuuuguugca a  
21  
  
<210> 231  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M2SP1  
  
<400> 231

gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 232  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M2SP1

<400> 232  
acauaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 233  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId1-M3SP1

<400> 233  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 234  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId1-M3SP1

<400> 234  
acauaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 235  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M1SP1

<400> 235  
uugcaacaaa gacauuaug u  
21

<210> 236



<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M1SP1

<400> 236  
acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 237  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M2SP1

<400> 237  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 238  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M2SP1

<400> 238  
acauaaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 239  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXId2-M3SP1

<400> 239  
uugcaacaaa gacauuuuug u  
21

<210> 240  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXId2-M3SP1

<400> 240  
acaauaaugu cuuuguugca agc  
23

<210> 241  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z17, Z17 là U

<400> 241  
gaaucucaaa gaaaucuun  
19

<210> 242  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z18, Z18 là A

<400> 242  
naagauuucu uugagauuc  
19

<210> 243  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z19, Z19 là A, U, G hoặc C

<400> 243  
gaaucucaaa gaaaucuun  
19

<210> 244  
<211> 19  
<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z20, Z20 là nucleotit bổ sung với Z19,  
Z19 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 244

naagauuucu uugagauuc

19

<210> 245

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z19, Z19 là A, U, G hoặc C

<400> 245

gaaucucaaa gaaauucun

19

<210> 246

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z20, Z20 là nucleotit bổ sung với Z19,  
Z19 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 246

naagauuucu uugagauucu u

21

<210> 247

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (21)..(21)

<223> n là Z19, Z19 là A, U, G hoặc C

<400> 247

aagaaucuca aagaaaucuu n  
21

<210> 248  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z20, Z20 là nucleotit bổ sung với Z19,  
Z19 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 248  
naagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 249  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1

<400> 249  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 250  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1

<400> 250  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 251  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2

<400> 251

aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 252  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2

<400> 252  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 253  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M1

<400> 253  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 254  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M1

<400> 254  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 255  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M2

<400> 255  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 256

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M2

<400> 256  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 257  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M3

<400> 257  
gaaucucaaa gaaauuuu  
19

<210> 258  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M3

<400> 258  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 259  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M1

<400> 259  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 260  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M1

<400> 260  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 261  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M2

<400> 261  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 262  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M2

<400> 262  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 263  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M3

<400> 263  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 264  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M3

<400> 264

aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 265  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M1S

<400> 265  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 266  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M1S

<400> 266  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 267  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M2S

<400> 267  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 268  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M2S

<400> 268  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 269



<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIel-M3S

<400> 269  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 270  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIel-M3S

<400> 270  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 271  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIel-M3S

<400> 271  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 272  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIel-M3S

<400> 272  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 273  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M2S  
  
<400> 273  
aagaaucuca aagaaucuu u  
21  
  
<210> 274  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M2S  
  
<400> 274  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23  
  
<210> 275  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M3S  
  
<400> 275  
aagaaucuca aagaaucuu u  
21  
  
<210> 276  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M3S  
  
<400> 276  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23  
  
<210> 277  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M1P1  
  
<400> 277

gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 278  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M1P1

<400> 278  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 279  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M2P1

<400> 279  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 280  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M2P1

<400> 280  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 281  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M3P1

<400> 281  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 282

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M3P1

<400> 282  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 283  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M1P1

<400> 283  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 284  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M1P1

<400> 284  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 285  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M2P1

<400> 285  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 286  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M2P1

<400> 286  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 287  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M3P1

<400> 287  
aagaauucu aagaaucuu u  
21

<210> 288  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M3P1

<400> 288  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 289  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M1SP1

<400> 289  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 290  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M1SP1

<400> 290

aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 291  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M2SP1

<400> 291  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 292  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M2SP1

<400> 292  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 293  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1-M3SP1

<400> 293  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 294  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1-M3SP1

<400> 294  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 295

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M1SP1

<400> 295  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 296  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M1SP1

<400> 296  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 297  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M2SP1

<400> 297  
aagaaucuca aagaaaucuu u  
21

<210> 298  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M2SP1

<400> 298  
aaagauuucu uugagauucu uug  
23

<210> 299  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe2-M3SP1

<400> 299

aagaauca aagaaucuu u  
21

<210> 300

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe2-M3SP1

<400> 300

aaagauucuu uugagauucuu uug  
23

<210> 301

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z21, Z21 là G

<400> 301

guacguggac uggauucun  
19

<210> 302

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z22, Z22 là C

<400> 302

nagaauccag uccacguac  
19

<210> 303

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo



<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z23, Z23 là A, U, G hoặc C

<400> 303

guacguggac uggauucun

19

<210> 304

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z24, Z24 là nucleotit bổ sung với Z23,  
Z23 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 304

nagaauccag uccacguac

19

<210> 305

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z23, Z23 là A, U, G hoặc C

<400> 305

guacguggac uggauucun

19

<210> 306

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)

<223> n là Z24, Z24 là nucleotit bổ sung với Z23,  
Z23 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 306

nagaauccag uccacguacu c

21

<210> 307  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z23, Z23 là A, U, G hoặc C

<400> 307  
 gaguacgugg acuggauucu n  
 21

<210> 308  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z24, Z24 là nucleotit bổ sung với Z23,  
 Z23 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 308  
 nagaauccag uccacguacu cga  
 23

<210> 309  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1

<400> 309  
 guacguggacu ggauucug  
 19

<210> 310  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1

<400> 310

cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 311  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2

<400> 311  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 312  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2

<400> 312  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 313  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M1

<400> 313  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 314  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M1

<400> 314  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 315

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M2

<400> 315  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 316  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M2

<400> 316  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 317  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M3

<400> 317  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 318  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M3

<400> 318  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 319  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M1

<400> 319  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 320  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M1

<400> 320  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 321  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M2

<400> 321  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 322  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M2

<400> 322  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 323  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M3

<400> 323

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 324  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M3

<400> 324  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 325  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M1S

<400> 325  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 326  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M1S

<400> 326  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 327  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M2S

<400> 327  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 328

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M2S

<400> 328  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 329  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M3S

<400> 329  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 330  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M3S

<400> 330  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 331  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M1S

<400> 331  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 332  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M1S

<400> 332

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 333

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M2S

<400> 333

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 334

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M2S

<400> 334

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 335

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M3S

<400> 335

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 336

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M3S

<400> 336



cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 337  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M1P1

<400> 337  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 338  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M1P1

<400> 338  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 339  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M2P1

<400> 339  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 340  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M2P1

<400> 340  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 341

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M3P1

<400> 341  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 342  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M3P1

<400> 342  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 343  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M1P1

<400> 343  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 344  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M1P1

<400> 344  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 345  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M2P1

<400> 345

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 346

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M2P1

<400> 346

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 347

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M3P1

<400> 347

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 348

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M3P1

<400> 348

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 349

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M1SP1

<400> 349

guacguggac uggauucug  
19

<210> 350  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M1SP1

<400> 350  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 351  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M2SP1

<400> 351  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 352  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M2SP1

<400> 352  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 353  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf1-M3SP1

<400> 353  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 354

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf1-M3SP1

<400> 354  
cagaauccag uccacguacu c  
21

<210> 355  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M1SP1

<400> 355  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 356  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M1SP1

<400> 356  
cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 357  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M2SP1

<400> 357  
gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 358  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M2SP1

<400> 358

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 359

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIf2-M3SP1

<400> 359

gaguacgugg acuggauucu g  
21

<210> 360

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIf2-M3SP1

<400> 360

cagaauccag uccacguacu cga  
23

<210> 361

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (19)..(19)

<223> n là Z25, Z25 là A

<400> 361

auuucugggu auucuuucn  
19

<210> 362

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)  
 <223> n là Z26, Z26 là U

<400> 362  
 ngaaagaaua cccagaaau  
 19

<210> 363  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z27,Z27 là A, U, G hoặc C

<400> 363  
 auuucugggu auucuuucn  
 19

<210> 364  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z28, Z28 là nucleotit bổ sung với Z27,  
 Z27 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 364  
 ngaaagaaua cccagaaau  
 19

<210> 365  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z27,Z27 là A, U, G hoặc C

<400> 365  
 auuucugggu auucuuucn  
 19

<210> 366  
 <211> 21

<212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z28, Z28 là nucleotit bổ sung với Z27,  
 Z27 được chọn từ A, U, G hoặc C  
  
 <400> 366  
 ngaaagaaua cccagaaauc g  
 21  
  
 <210> 367  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z27,Z27 là A, U, G hoặc C  
  
 <400> 367  
 cgauuucugg guauucuuuc n  
 21  
  
 <210> 368  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z28, Z28 là nucleotit bổ sung với Z27,  
 Z27 được chọn từ A, U, G hoặc C  
  
 <400> 368  
 ngaaagaaua cccagaaauc gcu  
 23  
  
 <210> 369  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIgl  
  
 <400> 369



auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 370  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1

<400> 370  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 371  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2

<400> 371  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 372  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2

<400> 372  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 373  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M1

<400> 373  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 374

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M1

<400> 374  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 375  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M2

<400> 375  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 376  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M2

<400> 376  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 377  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M3

<400> 377  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 378  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M3

<400> 378

ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 379

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M1

<400> 379

cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 380

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M1

<400> 380

ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 381

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M2

<400> 381

cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 382

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M2

<400> 382

ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 383  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M3

<400> 383  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 384  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M3

<400> 384  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 385  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M1S

<400> 385  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 386  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M1S

<400> 386  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 387

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M2S

<400> 387  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 388  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M2S

<400> 388  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 389  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M3S

<400> 389  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 390  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M3S

<400> 390  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 391  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M1S  
  
<400> 391  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21  
  
<210> 392  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M1S  
  
<400> 392  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23  
  
<210> 393  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M2S  
  
<400> 393  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21  
  
<210> 394  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M2S  
  
<400> 394  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23  
  
<210> 395  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M3S  
  
<400> 395

cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 396  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M3S

<400> 396  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 397  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M1P1

<400> 397  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 398  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M1P1

<400> 398  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 399  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M2P1

<400> 399  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 400

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M2P1

<400> 400  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 401  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M3P1

<400> 401  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 402  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M3P1

<400> 402  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 403  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M1P1

<400> 403  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 404  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo



<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M1P1

<400> 404

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 405

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M2P1

<400> 405

cgauuucugg guauucuuuc a

21

<210> 406

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M2P1

<400> 406

ugaaagaaua cccagaaauc gcu

23

<210> 407

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M3P1

<400> 407

cgauuucugg guauucuuuc a

21

<210> 408

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M3P1

<400> 408

ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 409  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M1SP1

<400> 409  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 410  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M1SP1

<400> 410  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 411  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M2SP1

<400> 411  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 412  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M2SP1

<400> 412  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 413

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg1-M3SP1

<400> 413  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 414  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg1-M3SP1

<400> 414  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 415  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M1SP1

<400> 415  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 416  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M1SP1

<400> 416  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 417  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M2SP1

<400> 417  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 418  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M2SP1

<400> 418  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 419  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIg2-M3SP1

<400> 419  
cgauuucugg guauucuuuc a  
21

<210> 420  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIg2-M3SP1

<400> 420  
ugaaagaaua cccagaaauc gcu  
23

<210> 421  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z29, Z29 là U

<400> 421  
caugaagggc auaaacuan  
19

<210> 422  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z30, Z30 là A

<400> 422  
nuaguuuuug cccuucaug  
19

<210> 423  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z31, Z31 là A, U, G hoặc C

<400> 423  
caugaagggc auaaacuan  
19

<210> 424  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z32, Z32 là nucleotit bổ sung với Z31,  
Z31 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 424  
nuaguuuuug cccuucaug  
19

<210> 425  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z31, Z31 là A, U, G hoặc C

<400> 425  
 caugaagggc auaaacuan  
 19

<210> 426  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z32, Z32 là nucleotit bổ sung với Z31,  
 Z31 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 426  
 nuaguuuuug cccuucaugu c  
 21

<210> 427  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z31, Z31 là A, U, G hoặc C

<400> 427  
 gacaugaaggg gcauaaacua n  
 21

<210> 428  
 <211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z32, Z32 là nucleotit bổ sung với Z31,  
 Z31 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 428

nuaguuuuug cccuucaugu cua  
23

<210> 429  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1

<400> 429  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 430  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1

<400> 430  
auaguuuuug cccuucaugu c  
21

<210> 431  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2

<400> 431  
gacaugaagg gcauaaacua u  
21

<210> 432  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2

<400> 432  
auaguuuuug cccuucaugu cua  
23

<210> 433

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M1

<400> 433  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 434  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M1

<400> 434  
auaguuuuug ccucucaugu c  
21

<210> 435  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M2

<400> 435  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 436  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M2

<400> 436  
auaguuuuug ccucucaugu c  
21

<210> 437  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo



<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M3  
  
<400> 437  
caugaagggc auaaacua  
19  
  
<210> 438  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M3  
  
<400> 438  
auaguuuuug ccuucaugu c  
21  
  
<210> 439  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M1  
  
<400> 439  
gacaugaagg gcuaaaacua u  
21  
  
<210> 440  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M1  
  
<400> 440  
auaguuuuug ccuucaugu cua  
23  
  
<210> 441  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M2  
  
<400> 441

gacaugaagg gcauaaacua u  
21

<210> 442  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M2

<400> 442  
auaguuuauug cccuucaugu cua  
23

<210> 443  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M3

<400> 443  
gacaugaagg gcauaaacua u  
21

<210> 444  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M3

<400> 444  
auaguuuauug cccuucaugu cua  
23

<210> 445  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M1S

<400> 445  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 446

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M1S

<400> 446  
auaguuuuug ccuucaugu c  
21

<210> 447  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M2S

<400> 447  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 448  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M2S

<400> 448  
auaguuuuug ccuucaugu c  
21

<210> 449  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M3S

<400> 449  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 450  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M3S

<400> 450  
auaguuuuauug ccuucaugu c  
21

<210> 451  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M1S

<400> 451  
gacauagaagg gcauaaacua u  
21

<210> 452  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M1S

<400> 452  
auaguuuuauug ccuucaugu cua  
23

<210> 453  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M2S

<400> 453  
gacauagaagg gcauaaacua u  
21

<210> 454  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M2S

<400> 454

auaguuuuauug cccuucaugu cua  
23

<210> 455  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M3S

<400> 455  
gacaugaaggg gcauaaacua u  
21

<210> 456  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M3S

<400> 456  
auaguuuuauug cccuucaugu cua  
23

<210> 457  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M1P1

<400> 457  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 458  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M1P1

<400> 458  
auaguuuuauug cccuucaugu c  
21

<210> 459

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M2P1

<400> 459  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 460  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M2P1

<400> 460  
auaguuuuag ccuucaugu c  
21

<210> 461  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M3P1

<400> 461  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 462  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M3P1

<400> 462  
auaguuuuag ccuucaugu c  
21

<210> 463  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M1P1

<400> 463

gacaugaagg gcauaaacua u  
21

<210> 464

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M1P1

<400> 464

auaguuaug ccuucaugu cua  
23

<210> 465

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M2P1

<400> 465

gacaugaaggg cauaaacua u  
21

<210> 466

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M2P1

<400> 466

auaguuaug ccuucaugu cua  
23

<210> 467

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M3P1

<400> 467

gacaugaagg gcauaaacua u  
21

<210> 468  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M3P1

<400> 468  
auaguuuuauug ccuucuaugu cua  
23

<210> 469  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M1SP1

<400> 469  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 470  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M1SP1

<400> 470  
auaguuuuauug ccuucuaugu c  
21

<210> 471  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M2SP1

<400> 471  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 472



<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M2SP1

<400> 472  
auaguuuuug ccuucaugu c  
21

<210> 473  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh1-M3SP1

<400> 473  
caugaagggc auaaacuau  
19

<210> 474  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh1-M3SP1

<400> 474  
auaguuuuug ccuucaugu c  
21

<210> 475  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M1SP1

<400> 475  
gacaugaagg gcuaaacua u  
21

<210> 476  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M1SP1  
  
<400> 476  
auaguuuuauug ccuuucaugu cua  
23  
  
<210> 477  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M2SP1  
  
<400> 477  
gacaugaagagg gcauaaaacua u  
21  
  
<210> 478  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M2SP1  
  
<400> 478  
auaguuuuauug ccuuucaugu cua  
23  
  
<210> 479  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIh2-M3SP1  
  
<400> 479  
gacaugaagagg gcauaaaacua u  
21  
  
<210> 480  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo  
  
<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIh2-M3SP1  
  
<400> 480

auaguuuauug ccuucaugu cua  
23

<210> 481  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z33, Z33 là A

<400> 481  
ggauucugga gaaaacucn  
19

<210> 482  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (1)..(1)  
<223> n là Z34, Z34 là U

<400> 482  
ngaguuuucu ccagaaucc  
19

<210> 483  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác  
<222> (19)..(19)  
<223> n là Z35, Z35 là A, U, G hoặc C

<400> 483  
ggauucugga gaaaacucn  
19

<210> 484  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<221> đặc điểm khác

<222> (1)..(1)  
 <223> n là Z36, Z36 là nucleotit bổ sung với Z35,  
 Z35 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 484  
 ngaguuuucu ccagaaucc  
 19

<210> 485  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (19)..(19)  
 <223> n là Z35, Z35 là A, U, G hoặc C

<400> 485  
 ggauucugga gaaaacucn  
 19

<210> 486  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z36, Z36 là nucleotit bổ sung với Z35,  
 Z35 được chọn từ A, U, G hoặc C

<400> 486  
 ngaguuuucu ccagaaucca g  
 21

<210> 487  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (21)..(21)  
 <223> n là Z35, Z35 là A, U, G hoặc C

<400> 487  
 cuggauucug gagaaaacuc n  
 21

<210> 488

<211> 23  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <221> đặc điểm khác  
 <222> (1)..(1)  
 <223> n là Z36, Z36 là nucleotit bổ sung với Z35,  
 Z35 được chọn từ A, U, G hoặc C  
  
 <400> 488  
 ngaguuuucu ccagaaucca guc  
 23  
  
 <210> 489  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1  
  
 <400> 489  
 ggauucugga gaaaacuca  
 19  
  
 <210> 490  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1  
  
 <400> 490  
 ugaguuuucu ccagaaucca g  
 21  
  
 <210> 491  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo  
  
 <220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2  
  
 <400> 491  
 cuggauucug gagaaaacuc a  
 21  
  
 <210> 492  
 <211> 23

<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2

<400> 492  
ugaguuuucu ccagaaucga guc  
23

<210> 493  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M1

<400> 493  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 494  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M1

<400> 494  
ugaguuuucu ccagaaucga g  
21

<210> 495  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M2

<400> 495  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 496  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M2

<400> 496

ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 497

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M3

<400> 497

ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 498

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M3

<400> 498

ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 499

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M1

<400> 499

cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 500

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M1

<400> 500

ugaguuuucu ccagaauc ca guc  
23

<210> 501  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M2

<400> 501  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 502  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M2

<400> 502  
ugaguuuucu ccagaauc ca guc  
23

<210> 503  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M3

<400> 503  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 504  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M3

<400> 504  
ugaguuuucu ccagaauc ca guc  
23

<210> 505



<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M1S

<400> 505  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 506  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M1S

<400> 506  
ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 507  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M2S

<400> 507  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 508  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M2S

<400> 508  
ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 509  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M3S

<400> 509  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 510  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M3S

<400> 510  
ugaguuuucu ccagaaucCa g  
21

<210> 511  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M1S

<400> 511  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 512  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M1S

<400> 512  
ugaguuuucu ccagaaucCa guc  
23

<210> 513  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M2S

<400> 513

cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 514  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M2S

<400> 514  
ugaguuuucu ccagaaucca guc  
23

<210> 515  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M3S

<400> 515  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 516  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M3S

<400> 516  
ugaguuuucu ccagaaucca guc  
23

<210> 517  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M1P1

<400> 517  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 518

<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M1P1

<400> 518  
ugaguuuucu ccagaauc ca g  
21

<210> 519  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M2P1

<400> 519  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 520  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M2P1

<400> 520  
ugaguuuucu ccagaauc ca g  
21

<210> 521  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M3P1

<400> 521  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 522  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M3P1

<400> 522  
ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 523  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M1P1

<400> 523  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 524  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M1P1

<400> 524  
ugaguuuucu ccagaaucca guc  
23

<210> 525  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M2P1

<400> 525  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 526  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M2P1

<400> 526

ugaguuuucu ccagaauc ca guc  
23

<210> 527  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M3P1

<400> 527  
cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 528  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M3P1

<400> 528  
ugaguuuucu ccagaauc ca guc  
23

<210> 529  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M1SP1

<400> 529  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 530  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M1SP1

<400> 530  
ugaguuuucu ccagaauc ca g  
21

<210> 531

<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M2SP1

<400> 531  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 532  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M2SP1

<400> 532  
ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 533  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi1-M3SP1

<400> 533  
ggauucugga gaaaacuca  
19

<210> 534  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi1-M3SP1

<400> 534  
ugaguuuucu ccagaaucca g  
21

<210> 535  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M1SP1

<400> 535

cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 536

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M1SP1

<400> 536

ugaguuuucu ccagaaucga guc  
23

<210> 537

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M2SP1

<400> 537

cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 538

<211> 23

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M2SP1

<400> 538

ugaguuuucu ccagaaucga guc  
23

<210> 539

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIi2-M3SP1

<400> 539



cuggauucug gagaaaacuc a  
21

<210> 540  
<211> 23  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIi2-M3SP1

<400> 540  
ugaguuuucu ccagaaucca guc  
23

<210> 541  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIf1M1S

<400> 541  
guacguggac uggauucug  
19

<210> 542  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIf1M1S

<400> 542  
cagaauccag uccacguacu u  
21

<210> 543  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIa1M1SP

<400> 543  
ggguauucuu ucaagcaau  
19

<210> 544  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIa1M1SP

<400> 544  
auugcuugaa agaauaccca g  
21

<210> 545  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIb1M1SP

<400> 545  
ggcauaaaacu auaacagcu  
19

<210> 546  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIb1M1SP

<400> 546  
agcuguuaua guuuauagccc u  
21

<210> 547  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIc1M1SP

<400> 547  
gcucaagaau gccaagaaa  
19

<210> 548  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIc1M1SP

<400> 548  
uuucuuggca uucuugagca c  
21

<210> 549  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXId1M1SP

<400> 549  
gcaacaaaga cauuaugu  
19

<210> 550  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXId1M1SP

<400> 550  
acauaaaugu cuuuguugca a  
21

<210> 551  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIe1M1SPP

<400> 551  
gaaucucaaa gaaaucuuu  
19

<210> 552  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIe1M1SP

<400> 552  
aaagauuucu uugagauucu u  
21

<210> 553  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIglM1SP

<400> 553  
auuucugggu auucuuuca  
19

<210> 554  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIglM1SP

<400> 554  
ugaaagaaua cccagaaauc g  
21

<210> 555  
<211> 19  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIh1M1SP

<400> 555  
caugaagggc auaaacua  
19

<210> 556  
<211> 21  
<212> ARN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIh1M1SP

<400> 556  
auaguuaug cccuucaugu c  
21

<210> 557  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIi1M1S

<400> 557  
 ggauucugga gaaaacuca  
 19

<210> 558  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIi1M1S

<400> 558  
 ugaguuuucu ccagaaucua g  
 21

<210> 559  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự có nghĩa cho L10-siFXIi1M1SP

<400> 559  
 ggauucugga gaaaacuca  
 19

<210> 560  
 <211> 21  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>  
 <223> Trình tự đối nghĩa cho L10-siFXIi1M1SP

<400> 560  
 ugaguuuucu ccagaaucua g  
 21

<210> 561  
 <211> 19  
 <212> ARN  
 <213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho siFXIe1

<400> 561

gaaucucaaa gaaaucuuu

19

<210> 562

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho siFXIe1

<400> 562

aaagauuucu uugagauuc

19

<210> 563

<211> 19

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự có nghĩa cho NC

<400> 563

uucuccgaac gugucacgu

19

<210> 564

<211> 21

<212> ARN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đối nghĩa cho NC

<400> 564

acgugacacg uucggagaac u

21

<210> 565

<211> 19

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Trình tự đích cho siFXIe1

<400> 565  
gaatctcaaa gaaatcttt  
19

<210> 566  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mời theo hướng 5' cho FXI người

<400> 566  
tcacggcgga atcaccatc  
19

<210> 567  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mời theo hướng 3' cho FXI người

<400> 567  
tgtcctattc actcttggca gt  
22

<210> 568  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mời theo hướng 5' cho Human GAPDH

<400> 568  
ggtcggagtc aacggattt  
19

<210> 569  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mời theo hướng 3' cho Human GAPDH

<400> 569  
ccagcatcgc cccacttga  
19

<210> 570  
<211> 19  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mối theo hướng 5' cho FXI người

<400> 570  
tcacggcgga atcaccatc  
19

<210> 571  
<211> 22  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mối theo hướng 3' cho FXI người

<400> 571  
tgtcctattc actcttggca gt  
22

<210> 572  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mối theo hướng 5' cho GAPDH chuột

<400> 572  
aactttggca ttgtggaagg gctc  
24

<210> 573  
<211> 24  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo

<220>  
<223> Mối theo hướng 3' cho GAPDH chuột

<400> 573  
tggaagagtg ggagttgctg ttga  
24

<210> 574  
<211> 23  
<212> ADN  
<213> Trình tự nhân tạo



<220>

<223> Mỗi theo hướng 5' cho FXI chuột

<400> 574

gccctgttaa aactggaatc agc

23

<210> 575

<211> 23

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mỗi theo hướng 3' cho FXI chuột

<400> 575

cgtttctatc tcctttggaa ggc

23

<210> 576

<211> 19

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mỗi theo hướng 5' cho GAPDH chuột

<400> 576

tgaccacca actgcttag

19

<210> 577

<211> 19

<212> ADN

<213> Trình tự nhân tạo

<220>

<223> Mỗi theo hướng 3' cho GAPDH chuột

<400> 577

ggatgcaggg atgatgttc

19