说明书

发明名称: 一种抑制F11基因表达的核酸分子

[0001] 本申请要求2024年01月26日向中国国家知识产权局提交的专利申请号为202410114595.7，发明名称为“一种抑制F11基因表达的核酸分子”；以及2024年05月09日向中国国家知识产权局提交的专利申请号为202410568807.9，发明名称为“GalNAc衍生物及其寡聚核苷酸缀合物”的在先申请的优先权。该两件在先申请的全文通过引用的方式结合于本申请中。

技术领域

[0002] 本申请涉及RNAi领域，具体涉及一种可通过RNAi抑制F11基因表达的核酸分子及其用途。

背景技术

[0003] RNA干扰(RNAi)是指在进化过程中高度保守的、由双链RNA(dsRNA)诱发的同源mRNA高效特异性降解的现象。dsRNA长度通常为19～30bp是RNAi技术中重要的工具之一。自然机体内，通常较长的dsRNA进入细胞后可被Dicer酶特异性识别并切割成约21～23个核苷酸长的小分子RNA的片段(即siRNA)，切割产生的dsRNA片断解开变成单链，和某些蛋白质形成复合物(简称RISC)。RISC能结合到细胞内与dsRNA反义链互补的mRNA上，并切割该mRNA，使其被降解，造成蛋白质无法合成，产生基因“沉默”现象。工业生产中，人们更倾向于化学合成dsRNA并进行修饰，进一步提高dsRNA药物的稳定性和有效性。

[0004] 血栓是血管内限制血液流动的血凝块，可发生在动脉或静脉循环中，是大多数心肌梗死、缺血性脑卒中和静脉血栓栓塞症(VTE)的共同病理基础。目前常用抗凝药的主要靶点为凝血酶和FX(或称凝血因子10)，其在止血与血栓形成中同样重要，若试图通过抑制二者来发挥抗凝作用，则不可避免会影响到止血进程。这一矛盾限制了抗凝剂的治疗强度，意味着高出血风险患者可能不适合接受抗凝治疗。临床上需要出现新的抗凝剂，实现在抗凝的同时降低出血风险，而凝血因子XI(FXI)成为新的抗凝靶点。因为相较于FX，FXI(或称凝血因子FXI或F11)在

止血中起辅助作用，但在血栓形成中起必要作用，即使是在FXI严重缺乏的患者中，很少观察到自发性出血、中枢神经系统或胃肠道出血。

[0005] 申请概述

[0006] 本申请提供了一种通过RNAi抑制细胞中因子XI(FXI)基因表达的核酸分子，包括所述核酸分子的组合物、制剂、及其用途。本申请实施例有充分数据显示，本申请的优选核酸分子，包括但不限于编号为3、3’、5、8、9、9’、14、14’、15、19、24、24’、26、26’、50、70、70’、及82的dsRNA分子，结构及序列包含前述dsRNA分子的shRNA分子，所述shRNA分子或dsRNA分子的前体分子、以及修饰的所述shRNA分子或dsRNA分子。其中，优选的修饰包括但不限于本申请实施例中详细描述的修饰E及修饰E-1。

[0007] 具体地，本申请一方面涉及一种核酸分子，其包含彼此互补的正义序列和反义序列或由彼此互补的正义序列和反义序列组成，且所述反义序列包含与FXI基因mRNA互补的多核苷酸序列，其中，

[0008] 当所述反义序列与所述FXI基因mRNA以最大互补率杂交时，由所述反义序列和FXI基因mRNA序列中互补配对的碱基对组成互补区1；

[0009] 当所述反义序列与所述正义序列以最大互补率杂交时，由所述反义序列和所述正义序列中互补配对的碱基对组成互补区2；

[0010] 其中互补区1与互补区2具有至少18、19或20个相同的碱基对，

[0011] 所述互补区1的碱基对数量为15至35bp，并且所述互补区1包含FXI基因mRNA序列中：

[0012] 418至437位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0013] 1141至1160位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸；

[0014] 363至382位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0015] 372至391位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、411至430位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0016] 421至440位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0017] 422至441位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0018] 425至444位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、465至484位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0019] 470至489位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

[0020] 471至490位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、518至537位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸；

[0021] 其中FXI基因mRNA序列中核苷酸的位点编号为参比序列SEQ ID NO：244中对应核苷酸的编号。

[0022] 其中一段核苷酸序列“其中的连续18或19个核苷酸”，可以是该段核苷酸序列5’端从第一个核苷酸或第二个核苷酸开始且包含所述第一个核苷酸或第二个核苷酸的连续19个与所述核苷酸序列中核苷酸排序一致的核苷酸，或者也可以是该段核苷酸序列5’端从第一个核苷酸、第二个核苷酸或第三个核苷酸开始且包含所述第一个核苷酸、第二个核苷酸或第三个核苷酸的连续18个与所述核苷酸序列中核苷酸排序一致的核苷酸。

[0023] 在一些实施方案中，所述正义序列与所述反义序列等长。在一些实施方案中，所述正义序列和/或反义序列在所述互补区2之外还包含突出端核苷酸。在一些实施方案中，所述正义序列长于所述反义序列。在一些实施方案中，所述反义序列长于所述正义序列。在一些实施方案中，所述正义序列比所述反义序列长1、2、3或4个核苷酸。在一些实施方案中，所述反义序列比所述正义序列长1、2、3或4个核苷酸。在一些实施方案中，所述正义序列在互补区2的5’端一侧和/或3’端一侧还包括1或2个核苷酸。在一些实施方案中，所述反义序列在互补区2的5’端一侧和/或3’端一侧还包括1或2个核苷酸。在一些实施方案中，所述正义序列和反义序列在互补区2的5’端一侧和/或3’端一侧还包括1或2个核苷酸。在一些实施方案中，当所述反义序列与所述正义序列以最大互补率杂交时，所述正义序列在互补区2的第1位核苷酸与最后一位核苷酸之间不包含未与反义序列核苷酸互补配对的核苷酸。在一些实施方案中，当所述反义序列与所述正义序列以最大互补率杂交时，所述反义序列在互补区2的第1位核苷酸与最后一位核苷酸之间不包含未与正义序列核苷酸互补配对的核苷酸。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸为2个且位于反义序列中，与所述互补区2的5’末端相邻，所

述正义序列不包含突出端核苷酸。在一些实施方案中，所述反义序列在互补区1以外的区域仅包含0、1或2个核苷酸，且所述正义序列在互补区2以外仅包含0、1或2个核苷酸。在一些实施方案中，当所述反义序列与FXI基因mRNA序列以最大互补率杂交时，所述反义序列在互补区1的第1位核苷酸与最后一位核苷酸之间不包含未与FXI基因mRNA序列互补配对的核苷酸。在一些实施方案中，当所述反义序列与FXI基因mRNA序列以最大互补率杂交时，所述FXI基因mRNA序列在互补区1的第1位核苷酸与最后一位核苷酸之间不包含未与反义序列互补配对的核苷酸。在一些实施方案中，所述互补区2的3’末端为AU碱基对。在一些实施方案中，所述互补区2的3’末端由来自反义序列的A与来自正义序列的U(在本申请中可以写作T)组成。在一些实施方案中，所述互补区2的3’末端由来自正义序列的A与来自反义序列的U(在本申请中可以写作T)组成。在一些实施方案中，互补区1与互补区2是不间断的，即连续的。在一些实施方案中，互补区1和/或互补区2不连续，所述不连续即被一个或多个气泡(Bubble，由形成互补区的两条序列中各自的非互补核苷酸形成的非互补区)隔断。

[0024] 在一些实施方案中，所述互补区1的碱基对数量为15至35个，例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35bp。在一些实施方案中，所述互补区2的碱基对数量为15至35bp，例如5、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35bp。在一些实施方案中，所述互补区1与互补区2具有18、19、20、21、22或23个相同的碱基对。在一些实施方案中，所述正义序列和/或所述反义序列的长度为15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30nt。在一些实施方案中，所述正义序列长度为21nt，所述反义序列长度为23nt。在一些实施方案中，所述核酸分子由长度为21nt的正义序列和长度为23nt的反义序列组成。在一些实施方案中，所述核酸分子由正义序列和反义序列以及连接链(或称shRNA loop)组成，其中所述连接链连接所述正义序列的3’端核苷酸和反义序列的5’端核苷酸。所述连接链的选择是本领域一致的，例如参照文献Jensen,Stig Møl gaard Rask et al. “Functional selection of shRNA loops from randomiz

ed retroviral libr aries.”PloS one vol.7,8(2012):e43095.doi:10.1371/journal.pone.0043095描述的方式进行选择，其中所述文献通过引用全文并入本文。

[0025] 在一些实施方案中，所述正义序列和/或反义序列在所述互补区2之外还包含1至2个突出端核苷酸。

[0026] 在一些实施方案中，所述反义序列在互补区1以外的区域仅包含0、1或2个核苷酸，正义序列在互补区2以外仅包含0、1或2个核苷酸。

[0027] 在一些实施方案中，其中互补区2的3’末端为AU碱基对；在进一步的实施方案中，反义链的5’末端A在互补区1外。

[0028] 在一些实施方案中，与所述反义链互补的FXI基因mRNA序列转录自哺乳动物FXI基因编码区。在一些实施方案中所述哺乳动物为灵长类动物。在一些实施方案中，所述灵长类动物为人或食蟹猴。在一些实施方案中，所述mRNA包含如SEQ ID NO：244所示的多核苷酸序列。在一些实施方案中，所述反义序列包含如SEQ ID NO：122、123、126、129、130、131、136、137、138、143、149、150、152、153、177、200、201或213所示的多核苷酸序列。在一些实施方案中，所述反义序列由SEQ ID NO：122、123、126、129、130、131、136、137、138、143、149、150、152、153、177、200、201或213所示的多核苷酸序列以及另外的1、2、3或4核苷酸组成。在一些实施方案中，所述反义序列由SEQ ID NO：122、123、126、129、130、131、136、137、138、143、149、150、152、153、177、200、201或213所示的多核苷酸序列以及所述多核苷酸序列5’和/或3’端一侧的另外的1至2个核苷酸组成。在一些实施方案中，所述反义序列为如SEQ ID NO：122、123、126、129、130、131、136、137、138、143、149、150、152、153、177、200、201或213所示的多核苷酸序列。在一些实施方案中，所述正义序列包含如SEQ ID NO：3、4、7、10、11、12、17、18、19、24、30、31、33、34、58、81、82或94所示的多核苷酸序列。在一些实施方案中，所述反义序列由SEQ ID NO：3、4、7、10、11、12、17、18、19、24、30、31、33、34、58、81、82或94所示的多核苷酸序列以及另外的1至4个(例如2或3个)核苷酸组成。在一些实施方案中，所述反义序列由3、4、7、10、11、12、17、18、19、24、30、31、33、34、58、81、82或94所示的多核苷酸序列以及所述多核苷酸

序列5’和/或3’端一侧的另外的1至2个核苷酸组成。在一些实施方案中，所述反义序列为如3、4、7、10、11、12、17、18、19、24、30、31、33、34、58、81、82或94所示的多核苷酸序列。

[0029] 在一些实施方案中，所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：123所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：138所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID

NO：177所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：200所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列；或所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列。

[0030] 在一些实施方案中，所述正义序列由如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列以及另外1、2、3或4核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：123所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：

138所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：177所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：200所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列由如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；或所述正义序列由如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列由如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成。

[0031] 在一些实施方案中，所述正义序列由如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：123所

示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：138所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：177所示的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：200所示

的多核苷酸序列所述正义序列由如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列或所述正义序列由如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成，且所述反义序列为如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列。

[0032] 在一些实施方案中，所述正义序列为如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：123所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：138所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列且所

述反义序列由如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：177所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：200所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；所述正义序列为如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成；或所述正义序列为如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列且所述反义序列由如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列以及另外1至4个(例如2或3个)核苷酸组成。

[0033] 在一些实施方案中:

[0034] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列；

[0035] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：177所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列；

[0036] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列；

[0037] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：123所示的多核苷酸序列；

[0038] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列；

[0039] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列；

[0040] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列；

[0041] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列；

[0042] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列；

[0043] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列；

[0044] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：138所示的多核苷酸序列；

[0045] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列；

[0046] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列；

[0047] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列；

[0048] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：200所示的多核苷酸序列；

[0049] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列；或

[0050] 所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列。

[0051] 在一些实施方案中，所述核酸分子为dsRNA或shRNA。在一些实施方案中，所述ds RNA为siRNA。在一些实施方案中，所述核酸分子中的一个或多个核苷酸经过化学修饰。在一些实施方案中，所述化学修饰使所述核酸分子在细胞或体内环境中更稳定。在一些实施方案中，所述化学修饰延长了所述核酸分子体内

和/或体外半衰期。在一些实施方案中，所述化学修饰包含选自如下的任一种或多种，或由选自如下的一种或多种修饰组成：

[0052] 锁核酸修饰、开环或非锁核酸修饰、2′-甲氧基乙基修饰、2′-O-甲基修饰(2’-OM e)、2′-O-烯丙基修饰、2’-C-烷基修饰、2′-C-烯丙基修饰、2′-氟代修饰(2’-F)、2′-脱氧修饰(d)、硫代磷酸酯修饰(s)、2’-氨基-修饰、吗啉基修饰、氨基磷酸酯修饰、甲基膦酸酯修饰、四氢吡喃修饰、1,5-脱水己糖醇修饰、5’-乙烯基磷酸酯修饰、以及环己烯基修饰。

[0053] 在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-12位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-12位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰，并且其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-12位核苷酸由2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸由2′-氟代修饰，并且其余核苷酸由2′-O-甲基修饰，并且所述核酸分子不进一步包含其他除硫代磷酸酯以外的修饰。

[0054] 在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰，并且其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸由2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸由2′-氟代修饰，并且其余核苷酸由2′-O-甲基修饰，并且所述核酸分子不进一步包含其他除硫代磷酸酯以外的修饰。

[0055] 在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、6、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、6、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰，并且其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰。在一些实施方案中，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸由2′-氟代修饰和/或反义链2、6、14、16位核苷酸由2′-氟代修饰，并且其余核苷酸由2′-O-甲基修饰，并且所述核酸分子不进一步包含其他除硫代磷酸酯以外的修饰。

[0056] 在一些实施方案中，所述核酸分子包含选自如下任一种基序：

[0057] (1)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm

[0058] (2)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm；和

[0059] (3)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm；

[0060] 其中，各序列从5’至3’的N依次分别独立地表示其所在序列的所在位置的核苷酸，Nm表示经2’-O-甲基修饰的核糖核苷酸，Nf表示经2’-氟代修饰的核糖核苷酸；应当理解本方案并未限定各核苷酸是否包含或不包含除标注的修饰以外的其他修饰。

[0061] 在一些实施方案中，上述实施方案进一步在正义序列5’的第一个和第二核苷酸之间，以及第二个和第三个核苷酸之间包括至少一个硫代磷酸酯修饰；在反义序列5’的第一个和第二核苷酸之间，第二个和第三个核苷酸之间，倒数第一个和第二个之间，以及倒数第二个和第三个之间包括至少一个硫代磷酸酯修饰。

[0062] 在一些实施方案中，所述核酸分子包含选自如下(1)-(9)中任一种基序：

[0063] (1)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0064] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0065] (2)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0066] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0067] (3)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0068] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0069] (4)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0070] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0071] (5)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0072] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0073] (6)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0074] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0075] (7)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0076] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0077] (8)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

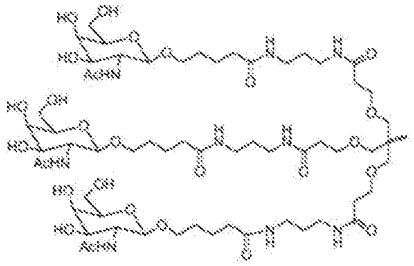
[0078] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0079] (9)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0080] 在另一些实施方案中是：正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

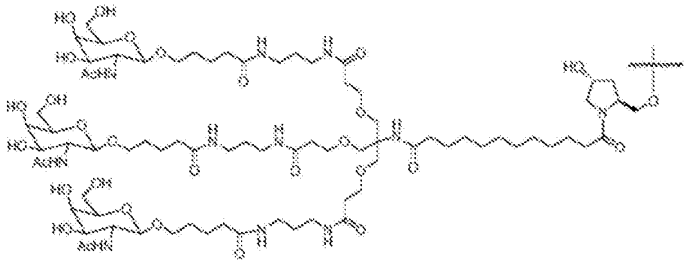
[0081] 其中，在本申请的所有基序中，Nm表示经2’-O-甲基修饰的核糖核苷酸，Nf表示经2’-氟代修饰的核糖核苷酸，s表示硫代磷酸酯修饰。

[0082] 在一些实施方案中，所述核酸分子连接具有器官靶向性的配体，例如肝靶向性的配体。在一些实施方案中，所述核酸分子连接至少一个去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)配体。在一些实施方案中，所述器官靶向性配体连接于所述正义序列的5’末端或3’末端。在一些实施方案中，所述ASGPR配体是通过二价或三价支链结构连接的一个或多个GalNAc衍生物。在一些实施方案中，所述GalNAc衍生物包含以下结构：



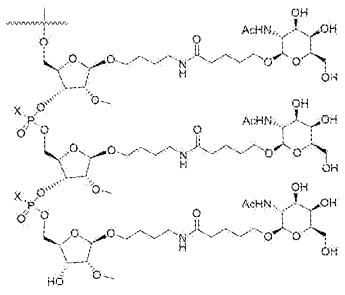
。

[0083] 在一些实施方案中，所述GalNac衍生物为L96，所述L96的结构如下所示：



。

[0084] 在一些实施方案中，所述GalNac衍生物为配体1,所述配体1结构如下所示：

[0085]  (X＝S^-或O^-)(式II)；

[0086] 其中式I和II中的~代表与所述核酸分子的正义序列或反义序列的3’端连接；优选地，通过磷酸二酯键或硫代磷酸二酯键连接。

[0087] 进一步优选地，所述核酸分子具有如(1)-(6)中任一的修饰基序：

[0088] (1)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义链：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0089] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义链：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含L96、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0090] (2)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0091] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含配体1、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0092] (3)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0093] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含L96、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0094] (4)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0095] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmN

mNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0096] (5)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0097] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0098] (6)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0099] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0100] 在一些实施方案中，所述核酸分子包含5’磷酸酯或5’磷酸酯模拟物修饰，如在反义链上的5’端磷酸酯或磷酸酯模拟物；优选地，所述5’磷酸酯模拟物为5’-VP修饰。

[0101] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0102] GN-E20VP：

[0103] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0104] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0105] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0106] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0107] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0108] GN-E04VP：

[0109] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0110] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0111] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0112] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0113] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0114] GN-E05VP：

[0115] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0116] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0117] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0118] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0119] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0120] LN-E20VP：

[0121] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0122] 反义序列：vp−NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0123] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0124] 反义序列：vp−NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、L96、2’−F、2’−OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0125] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0126] LN−E04VP：

[0127] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0128] 反义序列：vp−NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0129] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0130] 反义序列：vp−NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、L96、2’−F、2’−OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0131] 在一些实施方案中，所述核酸分子具有如下修饰基序：

[0132] LN−E05VP：

[0133] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0134] 反义序列：vp−NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0135] 在另一些实施方案中，正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96

[0136] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0137] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：58和反义序列：SEQ ID NO：177(siRNA编号50)，且具有如上列举的任一修饰模式。

[0138] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：58和反义序列：SEQ ID NO：177(siRNA编号50)，且具有如下修饰模式：

[0139] GN-E20：

[0140] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0141] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0142] GN-E20VP：

[0143] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0144] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0145] GN-E04：

[0146] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0147] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0148] GN-E04VP：

[0149] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0150] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0151] GN-E05：

[0152] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0153] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；或

[0154] GN-E05VP：

[0155] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0156] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0157] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：58和反义序列：SEQ ID NO：177(siRNA编号50)，且具有如下修饰模式：

[0158] GN-E20：

[0159] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0160] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0161] GN-E20VP：

[0162] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0163] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0164] GN-E04：

[0165] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0166] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0167] GN-E04VP：

[0168] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0169] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0170] GN-E05：

[0171] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0172] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；或

[0173] GN-E05VP：

[0174] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0175] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0176] 在一些实施方案中，本申请提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：34和反义序列：SEQ ID NO：153(siRNA编号26')，具有如上列举的任一修饰模式。

[0177] 在一些实施方案中，本申请提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：34和反义序列：SEQ ID NO：153(siRNA编号26')，具有如下所示的修饰模式：

[0178] GN-E20：

[0179] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0180] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0181] GN-E20VP：

[0182] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0183] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0184] GN-E04：

[0185] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0186] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0187] GN-E04VP：

[0188] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0189] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0190] GN-E05：

[0191] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0192] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；或

[0193] GN-E05VP：

[0194] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0195] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0196] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：34和反义序列：SEQ ID NO：153(siRNA编号26')，且具有如下修饰模式：

[0197] GN-E20：

[0198] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0199] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0200] GN-E20VP：

[0201] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0202] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0203] GN-E04：

[0204] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0205] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0206] GN-E04VP：

[0207] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0208] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0209] GN-E05：

[0210] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0211] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；或

[0212] GN-E05VP：

[0213] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1，

[0214] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、配体1、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0215] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：58和反义序列：SEQ ID NO：177(siRNA编号50)，且具有如下修饰模式：

[0216] LN-E20：

[0217] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0218] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0219] LN-E20VP：

[0220] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0221] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0222] LN-E04：

[0223] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0224] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0225] LN-E04VP：

[0226] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0227] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0228] LN-E05：

[0229] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0230] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；或

[0231] LN-E05VP：

[0232] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0233] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0234] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：58和反义序列：SEQ ID NO：177(siRNA编号50)，且具有如下修饰模式：

[0235] LN-E20：

[0236] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0237] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0238] LN-E20VP：

[0239] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0240] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0241] LN-E04：

[0242] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0243] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0244] LN-E04VP：

[0245] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0246] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0247] LN-E05：

[0248] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0249] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；或

[0250] LN-E05VP：

[0251] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0252] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0253] 在一些实施方案中，本申请提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：34和反义序列：SEQ ID NO：153(siRNA编号26')，具有如下所示的修饰模式：

[0254] LN-E20：

[0255] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0256] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0257] LN-E20VP：

[0258] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0259] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0260] LN-E04：

[0261] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0262] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0263] LN-E04VP：

[0264] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0265] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0266] LN-E05：

[0267] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0268] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；或

[0269] LN-E05VP：

[0270] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0271] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0272] 在一些实施方案中，本申请具体提供的核酸分子裸序列为正义序列：SEQ ID NO：34和反义序列：SEQ ID NO：153(siRNA编号26')，且具有如下修饰模式：

[0273] LN-E20：

[0274] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0275] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含L96、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0276] LN-E20VP：

[0277] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0278] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0279] LN-E04：

[0280] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0281] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含L96、2'-F、2'-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0282] LN-E04VP：

[0283] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0284] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；

[0285] LN-E05：

[0286] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0287] 反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰；或

[0288] LN-E05VP：

[0289] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96，

[0290] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm，其中各核苷酸不包含vp、L96、2’-F、2’-OMe及硫代磷酸酯以外的修饰。

[0291] 此外，本申请还提供了前述核酸分子的前体，所述前体可以是shRNA或dsRNA。

[0292] 本申请的第二方面提供了第二核酸分子，所述第二核酸分子在细胞中可转录为dsRNA或shRNA前体，所述dsRNA或shRNA为前述第一方面的核酸分子。在一些实施方案中，所述第二核酸分子为环状或线性核酸分子。在一些实施方案中，所述第二核酸分子为换装或线性质粒。在一些实施方案中，所述核酸分子属于人工构建的病毒基因组，可选自包括但不限于例如慢病毒载体或其他逆转录病毒载体、腺病毒载体、AAV载体、痘病毒载体、杆状病毒载体、单纯疱疹病毒载体。在一些实施方案中，所述核酸分子属于细胞基因组，例如核基因组、线粒体核酸、或细胞质游离核酸。

[0293] 本申请的第三方面，还提供了核酸递送体，其包含前述第一方面的核酸分子，或前述第二方面的第二核酸分子。在一些实施方案中，所述核酸递送体是脂质体、脂质纳米颗粒或其他聚合物、内吞体、外泌体或囊泡。

[0294] 还提供了病毒颗粒，所述病毒颗粒包含前述第二方面的第二核酸分子。在一些实施方案中，所述病毒颗粒为囊膜病毒或披膜病毒颗粒。在一些实施方案中，所述病毒颗粒为假病毒颗粒。在一些实施方案中，所述病毒颗粒属于AAV、杆状病毒、痘病毒、疱疹病毒、甲病毒、慢病毒或其他逆转录病毒。

[0295] 同时还提供了细胞，所述细胞包含前述第二方面的第二核酸分子。在一些实施方案中，所述细胞为原核细胞。在一些实施方案中，所述细胞为真核细胞，例如干细胞，例如造血干细胞、间充质干细胞等。

[0296] 本申请还提供了药物组合物，其包含前述第一方面的核酸分子或其盐，以及要用可接受的载体或稀释剂。在一些实施方案中，所述药物组合物用于治疗或预防受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱，所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种。

[0297] 本申请的第四方面，还提供了前述第一方面的核酸、第二方面的第二核酸、第三方面的核酸递送体、以及前述病毒颗粒、前述细胞、及前述药物组合物的用途。

[0298] 例如本申请提供了将前述第一方面的核酸分子或其盐、前述第二方面的第二核酸分子、前述核酸递送体、前述病毒颗粒、或前述细胞用于制备预防或治疗受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱的药物的用途。在一些实施方案中，所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种。

[0299] 本申请还提供了治疗或预防受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱的方法，所述方法包含向有需要的受试者施用有效量的前述第一方面的核酸分子或其盐、前述第二方面的第二核酸分子、前述核酸递送体、前述病毒颗粒、前述细胞或前述药物组合物。在一些实施方案中，所述所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种。

[0300] 还提供了用于治疗或预防受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱的化合物，其包含前述第一方面的核酸分子或其盐、前述第二方面的第二核酸分子、前述核酸递送体、前述病毒颗粒、前述细胞或前述药物组合物。在一些实施方案中，

所述所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种。

[0301] 本申请还提供了将前述第一方面的核酸分子或其盐或前述第二方面的第二核酸分子用于抑制因子11的表达的用途。

[0302] 本申请还提供了将前述第一方面的核酸分子或其盐或前述第二方面的第二核酸分子用于制备抑制受试者体内FXI表达的药物的用途。

[0303] 本申请还提供了用于抑制受试者体内FXI表达的化合物，所述化合物包含前述第一方面的核酸分子或其盐，以及药学上可接受的载体或稀释剂。以上详细描述了本申请的优选实施方式，但是，本申请并不限于此。在本申请的技术构思范围内，可以对本申请的技术方案进行多种简单变型，包括各个技术特征以任何其它的合适方式进行组合，这些简单变型和组合同样应当视为本申请所公开的内容，均属于本申请的保护范围。本文描述的本申请的方面和实施方式包括“包含”，“组成”和“基本上由……组成”的方面和实施方式。

附图说明

[0304] 图1示出了dsRNA裸核酸分子(5nM)在HepG2细胞中的高通量筛选结果。

[0305] 图2示出了分别施用5nM及1nM候选dsRNA或阳参dsRNA裸核酸分子时，HepG2细胞中FXI mRNA的相对含量。

[0306] 图3示出了经修饰E进行修饰的dsRNA在1nM浓度下对HepG2细胞中FXI mRNA的抑制率。

[0307] 图4示出了偶联GalNAc的dsRNA在不同浓度下对FXI mRNA的抑制率。

[0308] 图5示出了偶联GalNAc的不同dsRNA体内给药后靶蛋白的抑制结果。

[0309] 图6示出了不同GalNAc体内给药后的比较结果

[0310] 图7示出了不同修饰的dsRNA体外细胞水平IC50的比较结果

[0311] 图8示出了不同修饰基序dsRNA体内给药后的比较结果

[0312] 申请详述

[0313] 本发明提供一种可引发RNA-诱导沉默复合体(RISC)介导裂解凝血因子FXI(或称FX11)基因的RNA转录本的核酸分子、可转录所述核酸分子的第二核酸分子，

所述核酸分子及所述第二核酸分子的递送体、可转录所述核酸分子的病毒或细胞、以及所述核酸分子及所述第二核酸分子的用途。

[0314] 术语

[0315] 为了解释本说明书的目的，将应用以下定义，并且在适当时，单数形式使用的术语也将包括复数形式，反之亦然。除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与所述技术所属领域的普通技术人员通常所理解的相同的含义。本文引用的所有技术和专利公开通过引用以其整体并入本文。

[0316] 如本文所用，“dsRNA”即双链RNA，由于siRNA为双链结构的RNA，因此术语“dsRNA”涵盖了siRNA。dsRNA还包含长度大于siRNA的双链RNA，所述长度大于siRNA可以指其正义链长于siRNA，或其反义链长于siRNA，或其正义链及反义链均长于siRNA。通常长度大于其包含的siRNA序列的双链RNA进入细胞中后，会被称为Dicer的第III型内切核酸酶分解成siRNA。在一些实施方案中，所述dsRNA两条链的长度各自独立地为15至30nt(在本申请中，“nt”即核苷酸)。当“siRNA”被纳入RNA-诱导沉默复合体(RISC)后，RISC中的一种或多种解螺旋酶解开siRNA双螺旋。当与siRNA中的反义链互补的标靶mRNA结合时，RISC内的一种或多种内切核酸酶会裂解标靶，诱发沉默基因沉默。通常，dsRNA分子的每个链的大多数核苷酸是核糖核苷酸，但其并不排除其中任一条或两条链中包含一个或多个非核糖核苷酸，例如脱氧核糖核苷酸和/或非天然核苷酸。在一些实施方案中，所述dsRNA分子中不包含非天然核苷酸。在一些实施方案中，所述dsRNA中的每一个核苷酸均为核糖核苷酸。如本申请所用，dsRNA可以包含一个或多个化学修饰的核苷酸或不包含化学修饰的核苷酸。

[0317] 术语“FXI”、“凝血因子FXI”、及“因子11”可互换使用，在本领域中又称为FXI或PTA。FXI可以为哺乳动物来源的FXI。在一些实施方案中，FXI为灵长类动物来源的FXI。在一些实施方案中，FXI为人源的FXI。在一些实施方案中，FXI为食蟹猴来源的FXI。如本文所用，“FXI基因mRNA”是指编码因子11蛋白的mRNA，其可由FXI基因DNA转录而成，可以为成熟mRNA或mRNA前体(Pre-mRNA)，因此其可以包含内含子或不包含内含子。由于因子11基因在不同个体中可能存在少数核苷酸的突变，如非特别说明，本申请的因子11基因mRNA

序列旨在包含全部由因子11基因突变体转录获得的mRNA序列。人FXI基因mRNA序列可以例如在基因库登录号GI:1732746318(NM_000128.4)中找到。恒河猴FXI基因mRNA序列可以例如在基因库登录号GI:1622942384(XM_015139652.2)中找到。食蟹猴FXI基因mRNA序列可以例如在基因库登录号GI:2161917139(XM_005556483.3)中找到。小鼠FXI基因mRNA序列可以例如在基因库登录号GI:2293430447(NM_028066.3)中找到。大鼠FXI基因mRNA序列可以例如在基因库登录号GI:2293332621(NM_001411666.1)中找到。使用公共可获得的数据库，例如基因库(GenBANK)容易获得FXI基因mRNA序列的其他实例。如非特别说明，FXI基因mRNA以SEQ ID NO：244(即NM_000128.4)为参比序列，即FXI基因mRNA中的各核苷酸位点编号为对应于参比序列SEQ ID NO：244中的5’至3’方向的核苷酸编号。如本文所用，术语“参比序列”即用于同源序列比对的标准序列，可用于定义同源多核苷酸或多核苷酸序列中核苷酸位置的序列。例如“FXI基因mRNA序列中碱基的位点编号为参比序列SEQ ID NO：244中对应碱基的编号”是指通过向所述FXI基因mRNA序列中引入空位或删除核苷酸等方式使所述FXI基因mRNA序列与参比序列在尽可能多的位置上具有相同碱基后，所述参比序列的核苷酸从5’端的第1位核苷酸开始按序列顺序依次连续编号，所述FXI基因mRNA序列与所述参比序列通过比对相互对应的核苷酸以相同编号定义该核苷酸的位置。

[0318] 如本文所用，核酸的“互补”是指一条核酸具有通过传统的Watson-Crick碱基配对与另一条核酸形成氢键的能力。百分比互补性表示两条核酸分子中，较短一条的核酸分子中可与另一核酸分子形成氢键(即，Watson-Crick碱基配对)的核苷酸占所述较短一条的核苷酸中全部核苷酸的百分比(例如，10个中的约5、6、7、8、9、10个分别为约50%，60%，70%，80%，90%和100%互补)。“完全互补”是指核酸序列的所有连续残基与第二核酸序列中相同数量的连续残基形成氢键。如本文所用，“基本上互补”是指在约40、50、60、70、80、100、150、200、250或更多个核苷酸的区域内，至少约70%，75%，80%，85%，90%，95%，96%，97%，98%，99%或100%中的任何一个的互补程度，或指在严格条件下杂交的两条核酸。对于单个碱基或单个核苷酸，按照Watson-Crick碱

基配对原则，A与T或U、C与G或I配对时，被称为互补、配对或匹配，反之亦然；而除此以外的碱基配对都称为不互补。

[0319] 如本文所用，核酸的“杂交”是指一个或多个多核苷酸反应形成复合物的反应，该复合物通过核苷酸残基之间的氢键来稳定。氢键可以通过沃森克里克碱基配对，Hoogstein结合或任何其他序列特定方式发生。所述复合物可包括形成双链结构的两条链、形成多链复合物的三条或更多条链、单个自杂交链或其组合。

[0320] 在本申请中，当提及两条多核苷酸序列或两条核酸链“以最大互补率杂交”，则是指在使两条链中尽可能多的核苷酸彼此通过形成氢键配对的杂交方式。在“以最大互补率杂交”时，可以允许出现一个或多个错配，也可以允许两条链中的一条或多条链中出现一个或多个凸起(bulge)。但是，在一些实施方案中，“以最大互补率杂交”的两条链在彼此杂交后也可以不出现错配和凸起。如本文所用，“互补区”是指两条链杂交后，从5’端开始第一个通过氢键配对的碱基对开始至最后一个通过氢键配对的碱基对为止的全部通过氢键配对的碱基对，两条杂交链形成的互补区可以是连续的亦可以是间隔的。而本申请的“互补区1”特指当反义序列与FXI基因mRNA以最大互补率杂交时，由反义序列和FXI基因mRNA序列中互补配对的碱基对组成的互补区；而“互补区2”则是指当反义序列与正义序列以最大互补率杂交时，由所述反义序列和所述正义序列中互补配对的碱基对组成的互补区。由于互补区1与互补区2均涉及反义序列，因此互补区1和互补区2的反义序列部分通常具有部分或全部相同的核苷酸组成。本申请中，反义序列和正义序列是相对于与其中的一条序列互补的第三序列而言的，例如“通过RNAi抑制细胞中因子11(FXI)基因表达的核酸分子”中的反义序列和正义序列是相对于第三序列FXI基因mRNA序列来说的，即反义序列是指所述核酸分子中与FXI基因mRNA序列存在互补区的序列，正义序列是指所述核酸分子中与FXI基因mRNA序列具有至少10个以上连续相同核苷酸的序列。此外，本申请中任意互补区的5’末端是指其互补区中最接近于正义链或所述第三序列5’末端的核苷酸或碱基对的位置，互补区的5’端则是指其中相对靠近正义链或所述第三序列5’末端的一侧或一端。同理，本申请的任意互补区的3’

末端是指其互补区中最接近于正义链或所述第三序列3’末端的核苷酸或碱基对的位置，互补区的3’端则是指其中相对靠近正义链或所述第三序列3’末端的一侧或一端。在本申请中，当描述同一条序列或核苷链上核苷酸位置的“接近”、“近”或“远”是指两个核苷酸位置间隔核苷酸数量的少或多。

[0321] 如本文所用，“突出端核苷酸”是相对于互补区2而言的，当正义序列与反义序列以最大互补率杂交后，所述正义序列和/或反义序列核苷酸中位于互补区2以外核苷酸。在一些实施方案中，所述突出区核苷酸仅位于正义序列，在一些实施方案中，所述突出区核苷酸仅位于反义序列，在一些实施方案中所述突出端核苷酸位于正义序列及反义序列。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于互补区2的5’端一侧。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于正义链互补区2的5’端一侧。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于反义链互补区2的5’端一侧。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于互补区2的3’端一侧。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于正义链互补区2的3’端一侧。在一些实施方案中，所述突出端核苷酸仅存在于反义链互补区2的3’端一侧。在一些实施方案中，所述突出区核苷酸在正义序列或反义序列的同一侧(例如5’端或3’端)的数量不超过两个(即为1个或者2个)。在本申请中，“5’端一侧”及“3’端一侧”均用以描述同一条多核苷酸序列中两段序列，两个核苷酸或一个核苷酸与一段序列之间的相对位置关系；其中，“5’端”指所述多核苷酸序列包含5’游离磷酸基团或5’游离羟基的一端，“3’端”指所述多核苷酸序列包含游离3’–羟基或3’–磷酸基团的一端，而核酸链中某序列3’端一侧的序列或核苷酸比所述某序列更靠近所述核酸链的3’端。。而例如“在互补区2的5’端一侧”还包含某序列或者某个或某几个核苷酸，则指所述“某序列或者某个或某几个核苷酸”相对于“互补区2”的序列，更靠近其共同所在的多核苷酸序列(例如反义序列或正义序列)的5’端。

[0322] 术语“核苷酸”，除了是指天然存在的核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸单体以外，本文中还应当理解为是指其相关的结构变体，包括衍生物和类似物，其关于使用该核苷酸的具体上下文在功能上是等效的，除非上下文明确另外指明。例如，“核苷酸”指脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸。核苷酸可以是标准核苷酸

(即，腺苷、鸟苷、胞苷、胸苷和尿苷)，核苷酸异构体或核苷酸类似物。核苷酸类似物指具有修饰的嘌呤或嘧啶碱基或者修饰的核糖部分的核苷酸。核苷酸类似物可以是天然存在的核苷酸(例如肌苷、假尿苷等)或非天然存在的核苷酸。核苷酸的糖或碱基部分上的修饰的非限制性实例包括乙酰基、氨基、羧基、羧甲基、羟基、甲基、磷酰基和硫醇基的添加(或去除)，以及碱基的碳和氮原子被其它原子的取代(例如7-脱氮嘌呤)。核苷酸类似物还包括双脱氧核苷酸、2'-O-甲基核苷酸、锁核酸(LNA)、肽核酸(PNA)和吗啉代寡核苷酸(morpholino)。在一些实施方案中，本申请的“核苷酸”不包含碱基经过修饰的非天然核苷酸。在一些实施方案中，本申请的“核苷酸”不包含碱基经过修饰的核苷酸。在本申请中，“G”、“C”、“A”、“T”和“U”通常分别代表以鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶为碱基的核苷酸，如非特别说明，“G”、“C”、“A”、“T”和“U”表示不限定其包含的修饰的核苷酸，即其可用于表示天然核苷酸或非天然核苷酸，所述非天然核苷酸可以包含核糖和/或碱基经修饰的核苷酸，只要其中的碱基依然可与其天然配对(即依据Watson-Crick原则配对)的碱基通过氢键互补配对即可。但在RNA的语境下以及在RNA序列中，如非特别说明“T”代指尿苷或尿嘧啶。应当理解，本申请中凡涉及核苷酸序列的语境，“核苷酸”、“核苷酸残基”和“碱基”可互换使用。碱基对的个数以bp为单位，一个bp则为一个碱基对。核苷酸个数则以nt为单位，一个nt为一个核苷酸。

[0323] 如本文所用“核苷酸间连接”是指相邻两个核苷酸间或核苷酸与配体键的化学键(或连接基团)，如非特别说明，所述化学键为磷酸酯键或磷酸酯键；然而当一个修饰基序中特别标明“s”，即硫代磷酸酯修饰的位置时，则仅在s出现位置处的核苷酸间连接为硫代磷酸酯键，其他未标明的核苷酸间连接均为磷酸酯键，例如：

[0324] (1)有义链：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNdNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义链：NmNfNmNmNdNmNdNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm；

[0325] 则(1)中的各核苷酸间连接可以是磷酸酯键也可以是硫代磷酸酯键；

[0326] 而如果是:有义链：CmsAmsGmAmGmUmUfAmUfCdGfAmGmGmCmAmCmAmUmUmAms−配体1，

[0327] 反义链：vp−UmsAfsAmUmGdUmGdCmCmUmCmGmAmUfAmAfCmUmCmUmGmsGmsCm；由于其具有特别标明的“s”,则除以下核苷酸间连接为硫代磷酸酯键之外，其他位置的核苷酸间连接均为磷酸酯键：有义链5’端起的第1个核苷酸间连接和第2个核苷酸间连接，有义链3’末端核苷酸与配体1之间的核苷酸间连接，反义链5’末端起的第1个核苷酸间连接和第2个核苷酸间连接，以及反义链3’末端起的第1个核苷酸间连接和第2个核苷酸间连接。其中，第1个核苷酸间连接是指从一个末端(例如5’末端或3’末端)开始的第一个和第二个核苷酸之间的化学键；第2个核苷酸间连接是指从一个末端(例如5’末端或3’末端)开始的第二个和第三个核苷酸之间的化学键，依次类推；第n个核苷酸间连接是指从一个末端(例如5’末端或3’末端)开始的第n个和第n+1个核苷酸或配体之间的化学键，依次类推。

[0328] 如本文所用，“突出端”、“悬垂端”及“悬垂序列”可互换使用，是指延伸超过在链末端的双链体区的未配对的一个或多个核苷酸。当一条链的3′端延伸超过另一条链的5′端时或者当一条链的5′端延伸超过另一条链的3′端时，典型地形成核苷酸突出端。核苷酸突出端的长度通常是在1与6个核苷酸之间、1与5个核苷酸之间、1与4个核苷酸之间、1与3个核苷酸之间、2与6个核苷酸之间、2与5个核苷酸之间、或2与4个核苷酸之间。在一些实施例中，核苷酸突出端包含1、2、3、4、5或6个核苷酸。在一个特定的实施例中，核苷酸突出端包含1至4个核苷酸。在某些实施例中，核苷酸突出端包含2个核苷酸。在某些其他实施例中，核苷酸突出端包含单个核苷酸。

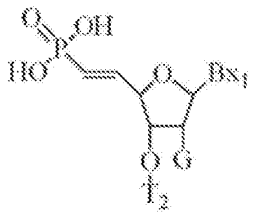
[0329] 突出端中的核苷酸可以是如本文所述的核糖核苷酸或经修饰的核苷酸。在一些实施例中，突出端中的核苷酸是2′−经修饰的核苷酸(例如2'−氟修饰的核苷酸，2'−O−甲基修饰的核苷酸)、脱氧核糖核苷酸、反向核苷酸(例如反向无碱基核苷酸，反向脱氧核糖核苷酸)或其组合。例如，在一个实施例中，突出端中的核苷酸是脱氧核糖核苷酸，例如脱氧胸苷。在另一个实施例中，突出端中的核苷酸是2'−O−甲基修饰的核苷酸、2'−氟修饰的核苷酸、2'−甲氧基乙基修饰的核

苷酸或其组合。在其他实施例中，突出端包含5'-尿苷-尿苷-3'(5'-UU-3')二核苷酸。在这类实施例中，UU二核苷酸可以包含核糖核苷酸或经修饰的核苷酸，例如2'-修饰的核苷酸。在其他实施例中，突出端包含5'-脱氧胸苷-脱氧胸-3'(5'-dTdT-3')二核苷酸。当核苷酸突出端存在于反义链中时，突出端中的核苷酸可以与靶基因序列互补，形成与靶基因序列的错配或包含一些其他序列(例如聚嘧啶或聚嘌呤序列，如UU、TT、AA、GG等)。

[0330] 核苷酸突出端可以在一条或两条链的5'端或3'端。例如，在一个实施例中，RNA分子在反义链的5'端和3'端包含核苷酸突出端。在另一个实施例中，RNA分子在正义链的5'端和3′端包含核苷酸突出端。在一些实施例中，RNA分子在正义链的5”端和反义链的5′端包含核苷酸突出端。在其他实施例中，RNA分子在正义链的3′端和反义链的3′端包含核苷酸突出端。

[0331] RNA分子可在双链RNA分子的一端包含核苷酸突出端，而在另一端包含平端。“平端”意味着正义链与反义链在分子末端完全地碱基配对，并且不存在延伸超出双链体区的未配对核苷酸。在一些实施例中，RNA分子在正义链的3′端包含核苷酸突出端，而在正义链的5′端和反义链的3′端包含平端。在其他实施例中，RNA分子在反义链的3′端包含核苷酸突出端，而在反义链的5′端和正义链的3′端包含平端。在某些实施例中，RNA分子在双链RNA分子的两端包含平端。在这类实施例中，正义链和反义链具有相同的长度，并且双链体区的长度与正义链和反义链相同(即该分子在其整个长度上是双链的)。如本文所用，“GalNAc”或“N-乙酰半乳糖胺”：是指2-(乙酰基氨基)-2-脱氧-D-吡喃半乳糖。如非特别说明，术语“GalNAc”或“N-乙酰基半乳糖胺”包括β形式：2-(乙酰基氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖与α形式：2-(乙酰基氨基)-2-脱氧-α-D-吡喃半乳糖两者。优选地，本申请的GalNAc化合物为β形式，即2-(乙酰基氨基)-2-脱氧-β-D-吡喃半乳糖。

[0332] 如本文所用，“VP修饰”或“E-VP”是指位于反义链上5'的磷酸酯模拟修饰，具体结构为：



[0333] 其中：

[0334] Bx1为尿嘧啶、胸腺嘧啶、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、腺嘌呤或鸟嘌呤；

[0335] T_2是将上述化合物连接到寡聚核酸链的磷酸酯或硫代磷酸酯核苷间连接基团；以及G为卤素、OCH_3、OCF_3、OCH_2CH_3、OCH_2CF_3、$OCH_2-CH=CH_2$、$O(CH_2)_2-OCH_3$、$O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(CH_3)_2$、$OCH_2C(=O)-N(H)CH_3$、$OCH_2C(=O)-N(H)-(CH_2)_2-N(CH_3)_2$或$OCH_2-N(H)-C(=NH)NH_2$。

[0336] 如本文所用，“3’末端”特指单核苷酸序列或双链多核苷酸3’端的第一个核苷酸或第一个碱基对的位置。“5’末端”则特指单核苷酸序列或双链多核苷酸5’端的第一个核苷酸或第一个碱基对的位置。

[0337] 如本申请所用，术语“核酸分子”可用于指代任何具有由2个以上核苷酸通过磷酸酯键，或经过修饰的磷酸酯键(例如硫代磷酸脂键)连接而成的核苷酸序列的分子。

[0338] 如本文所用，术语“核苷酸序列”是指一段由核苷酸依据一定顺序依次排列组成的一段多核苷酸链，该段多核苷酸链本申请可以组成一个核酸分子，也可以构成某一个核酸分子的一条链中的一段。因此，“核苷酸序列”可以以一段确切的由各种核苷酸(例如ATCG)组成的多核苷酸序列(例如SEQ ID NO：1至100中的任一条)表示，也可以表示为某序列中的某位至某位的核苷酸，例如“FXI基因mRNA序列中”“363至382位的核苷酸”。在本申请中，如非特别说明，包含“某序列中的某位至某位的核苷酸”的序列或核酸分子中，所述某位至某位的核苷酸的排列顺序与所述某序列中的前述核苷酸的顺序一致。在不加限定的情况下，“核苷酸序列”可以是RNA或DNA，或RNA与DNA的杂合分子，还可以掺入非天然核苷酸或经人工修饰的核苷酸。

[0339] 此外，本申请附图中出现的REL或Relative expression level是指mRNA相对表达水平。在序列语境下出现的N代表核糖核苷酸，dN代表脱氧核糖核苷酸(DN

A)，Nm代表2'−O−Me修饰的核苷酸或称为2’−O−甲基修饰的核苷酸；Nf表示2'−F修饰的核糖核苷酸或2’−氟代修饰的核糖核苷酸；s代表硫代磷酸脂修饰，即5'−硫代修饰的磷酸脂，当该修饰在两个核苷酸之间或核苷酸与配体之间，其替代天然核苷酸间的磷酸酯键，可称硫代磷酸酯键。如本文所用，如非特别说明，本申请中“硫代磷酸酯键”与“硫代磷酸二酯键”可互换使用；同样“磷酸酯键”与“磷酸二酯键”可互换使用。

[0340] 如本文所用，术语“约”是指本技术领域的技术人员容易知道的各个值的通常误差范围。提及“约”值或参数在本文中包括(及描述)针对该值或参数本身的实施方案。如本文所使用的，当术语“约”在数值之前时，表示该数值上或下10%的范围内。例如，“约100”涵盖90和110。

[0341] 如本文所用，除非另外指出，否则单数形式“一个”，“一种”和“该”包括复数形式。

[0342] 除非本文另外定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。

[0343] 应当理解，本申请包含本文所描述的各种方面、实施方案以及所述方面和/或实施方案的组合。以上描述以及随后的实施例旨在说明而不是限制本申请的范围。在本申请的技术构思范围内，可以对本申请的技术方案进行多种简单变型，包括各个技术特征以任何其它的合适方式进行组合，这些简单变型和组合同样应当视为本申请所公开的内容，均属于本申请的保护范围。

[0344] 除另有说明外，本申请的实践将采用细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组DNA和免疫学的常规技术。现有技术文献记载了所述常规技术。

[0345] 应当理解，本申请包含本文所描述的各种方面、实施方案以及所述方面和/或实施方案的组合。以上描述以及随后的实施例旨在说明而不是限制本申请的范围。在本申请范围内的其他方面、改进和修改对于本申请所属领域的技术人员将是显而易见的。因此，本领域的普通技术人员应该认识到，本申请的范围还包括对所述方面和实施方案的所述改进和修改。

实施例

[0346] 实施例1：dsRNA的序列设计与合成

[0347] 在本申请具体实施例1-7中，各核苷酸不包含本实施例未标明的修饰。即本申请实施例1-7使用的各核苷酸序列为裸序列或仅包含其所用修饰基序中标明的修饰。

[0348] 1.1 dsRNA设计

[0349] 参考人FXI基因(Gene ID,2160)mRNA序列(NM_000128.4)，选择不同位点设计多个FXI dsRNAs，设计的所有单个dsRNA，所述dsRNA序列经序列相似性软件比对与其他所有非靶标基因序列有最低同源性，具体参见文末序列表。此外，对于修饰的dsRNA，若正义链3’端第一个核苷酸如非A或U，则采用尿嘧啶核糖核苷酸替代原有核苷酸，反义序列的5’端第一个核苷酸如非A或U，则采用腺嘌呤核糖核苷酸替代原有核苷酸，将原有核酸序列从n变为n’进行检测，例如E3、E4、E9、E14、E16、E24、E26、E51、E52、E69、E70的核酸序列分别如文末序列表编号为3’、4’、9’、14’、16’、24’、26’、51’、52’、69’、70’的dsRNA所示。

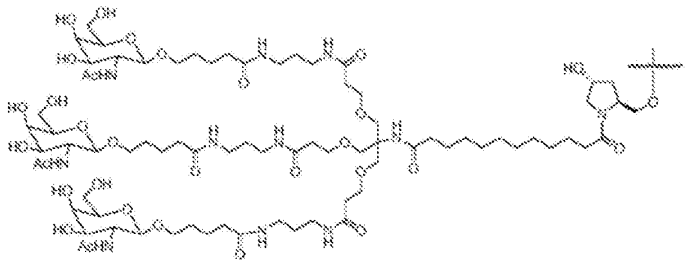
[0350] 本申请中，我们选择ionis公司专利(专利号：CN 109797150 A)公开的ISIS-416858的ASO序列，选择专利号：CN113227376A公开的对FXI基因抑制率前4的序列(裸序列命名：RB2、RB4、RB6、RB7；修饰序列命名为：ERB2、ERB4、ERB6、ERB7，裸序列及修饰序列分别对应专利中的命名为L10-siFXIa1M1SP、L10-siFXIc1M1SP、L10-siFXIe1M1SP、L10-siFXIg1M1SP分子中无配体偶联的序列)，选择专利号：WO 2022028457A1公开的对FXI基因抑制率前三的序列(裸序列命名：TJ632、TJ645、TJ772；修饰序列命名为：ETJ632、ETJ645、ETJ772；裸序列及修饰序列分别对应专利中命名为TRD0632、TRD0645、TRD0772分子中无配体偶联的序列)序列作为FXI基因阳性对照序列。前述dsRNA序列及阳性对照序列的裸序列如文末序列表所示。

[0351] 1.2 dsRNA及其缀合物的合成与纯化

[0352] 使用经修饰(例如2’-甲氧基或2’-氟修饰或硫代修饰)或未经化学修饰的核糖核苷酸合成dsRNA，其按照理论产量1μmol合成规格完成，选用1μmol通用的Frit载体(1000Å=100nm,逗点生物)或带保护基的GANLNAC衍生物L96的CPG载

体(凯莱英)在LK-192X合成仪(江苏领坤生物科技有限公司)上制备所有的寡核苷酸。根据序列需要，将对应核苷的所有亚磷酰胺单体(均按照1:40(g/mL)的无水乙腈溶剂稀释，偶联时间为3min，共两次偶联。使用3%TCA进行脱保护，采用0.3M苄硫基四唑乙腈溶液进行活化，并通过CAPA/CAPB和50mM I2溶液分别进行盖帽和氧化。在去三苯甲基合成(Trityl-off synthesis)后，将固相载体转移至2mL离心管中，加入1.2mL氨水置于65℃烘箱中加热3h，脱去保护基。然后冷却至室温，真空浓缩30min，将溶液通过0.22um滤膜过滤至进样瓶中，采用半制备反相纯化仪进行单链纯化，洗脱梯度为7%～30%(ACN:100mM TEAA)，时间10min；流速：5mL/min，纯化制备后真空浓缩，室温旋干。最后用水溶解样品，在GE Hi-Trap脱盐柱上将每种溶液脱盐以洗脱最终的寡聚核苷酸产物。分别使用ESI-MS和IEX HPLC确认所有的特性和纯度。采用酶标仪紫外定浓，将等摩尔量的正义链和反义链混合并至新的发货管中，95℃加热5min，并缓慢退火至室温，最后采用真空浓缩仪室温旋干得到最终的dsRNA产品。

[0353] 本申请实施例中使用的L96结构如下式I所示：



（式I）；

[0354] 其中，𐄂代表通过磷酸二酯键与RNA分子的有义链或反义链的3’端相连。

[0355] 实施例2：FXI-dsRNA体外活性高通量筛选检测

[0356] 2.1 FXI dsRNA转染HepG2细胞

[0357] HepG2细胞在含10%胎牛血清的DMEM培养基中，于5%CO_2、37℃恒温培养箱中培养。细胞消化后调整细胞密度为4×10^5个/ml，按照每孔1ml细胞悬液铺种到12孔板中。配制100ul转染复合物：将45μL Opti-MEM和5μL不同浓度的dsRNA(裸核酸，无修饰)混合，48μL Opti-MEM和2μL RNAiMax转染试剂混合，静置5min，然后将以上两个混合物混合，静置20min形成转染复合物。将上述转

染复合物加入12孔板中，于5%CO2、37℃恒温培养箱中继续培养24h。转染后24小时收获细胞，使用TRIZOL法进行RNA提取。

[0358] 2.2实时荧光定量PCR分析

[0359] 转染24h后裂解细胞，采用诺唯赞柱提法FastPure Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2试剂盒(参考诺唯赞RC112-01说明书)提取细胞总RNA。采用Takara PrimeScript RT Master Mix RR036Q逆转录为cDNA。qPCR引物序列信息如文末序列表引物部分所示，以人GAPDH基因为内参基因，使用美国Bio-Rad公司CFX96荧光定量PCR仪进行PCR反应。实验中以Mock组为对照做归一化处理，使Mock组FXI mRNA表达量为1。

[0360] 2.3数据分析

[0361] PCR反应结束后，以参照基因作为标准并通过CFX96软件进行相对定量分析并通过GarphPad软件进行统计分析。如表1和图1所示，为dsRNA(裸核酸，无修饰)分子在HepG2细胞中的高通量筛选验证结果。

[0362] 表1：HepG2细胞中单剂量5nM高通量筛选结果

编号	FXI相对活性	平均误差±SEM
1	0.601	0.037
2	0.448	0.015
3	0.381	0.019
4	0.309	0.022
5	0.313	0.011
6	0.315	0.025
7	0.331	0.027
8	0.227	0.033
9	0.297	0.013
10	0.464	0.033
11	0.399	0.012
12	0.548	0.011
13	0.375	0.023
14	0.327	0.019
15	0.336	0.022
16	0.414	0.012
17	0.364	0.013
18	0.358	0.009
19	0.389	0.020
20	0.273	0.008
21	0.656	0.010
22	0.460	0.010
23	0.461	0.029
24	0.342	0.012
25	0.484	0.025
26	0.334	0.013
27	0.430	0.033
28	0.518	0.039
29	0.390	0.033
30	0.531	0.032
31	0.449	0.019
32	0.557	0.036
33	0.499	0.026
34	0.524	0.008
35	0.602	0.008

36	0.440	0.036
37	0.384	0.016
38	0.626	0.026
39	0.425	0.014
40	0.485	0.108
41	0.525	0.121
42	0.496	0.042
43	0.525	0.008
44	0.592	0.015
45	0.557	0.003
46	0.489	0.014
47	0.513	0.031
48	0.479	0.028
49	0.702	0.045
50	0.344	0.018
51	0.390	0.019
52	0.393	0.022
53	0.419	0.023
54	0.415	0.016
55	0.364	0.047
56	0.384	0.029
57	0.536	0.028
58	0.528	0.024
59	0.423	0.015
60	0.478	0.021
61	0.585	0.008
62	0.479	0.022
63	0.469	0.013
64	0.483	0.017
65	0.429	0.021
66	0.431	0.005
67	0.392	0.014
68	0.221	0.005
69	0.520	0.018
70	0.349	0.017
71	0.441	0.028
72	0.411	0.029
73	0.404	0.058
74	0.385	0.016
75	0.460	0.029
76	0.441	0.023
77	0.486	0.015
78	0.463	0.064
79	0.489	0.036
80	0.533	0.023
81	0.446	0.004
82	0.375	0.017
83	0.469	0.010
83	0.523	0.010
85	0.617	0.069
86	0.518	0.034

87	0.702	0.028
88	0.762	0.084
89	0.634	0.051
90	0.519	0.040
91	0.563	0.016
92	0.533	0.035
93	0.587	0.038
94	0.533	0.037
95	0.514	0.015
96	0.562	0.016
97	0.508	0.028
98	0.581	0.009
99	0.591	0.035
100	0.662	0.038
RB2	0.512	0.016
RB4	0.471	0.008
RB6	0.558	0.032
RB7	0.481	0.061
TJ632	0.484	0.011
TJ645	0.386	0.009
TJ772	0.485	0.017

[0363] 在HepG2细胞中进行的FXI dsRNA筛选发现了28条优选序列，保留了效果较好且序列同时靶向人和食蟹猴FXI的dsRNA分子作为候选序列。进一步，我们将多个候选阳参序列与我们的候选序列进行比较，表2和图2为候选序列和阳性对照序列在HepG2细胞中单剂量下筛选结果。

[0364] 表2：未修饰dsRNA在HepG2细胞中单剂量筛选

样品名称	FXI mRNA相对表达量（5nM）	平均误差（±SEM）	FXI mRNA相对表达量（1nM）	平均误差（±SEM）
3	0.201	0.024	0.400	0.027
4	0.244	0.017	0.389	0.032
5	0.236	0.008	0.301	0.049
6	0.234	0.016	0.359	0.011
7	0.266	0.020	0.434	0.034
8	0.153	0.011	0.290	0.026
9	0.167	0.004	0.346	0.017
13	0.282	0.011	0.423	0.019
14	0.225	0.028	0.340	0.037
15	0.250	0.020	0.448	0.027
16	0.253	0.013	0.503	0.005
17	0.746	0.028	0.465	0.012
18	0.224	0.003	0.465	0.010
19	0.276	0.003	0.466	0.004
20	0.320	0.006	0.375	0.006
24	0.194	0.009	0.297	0.102
26	0.190	0.046	0.402	0.031
50	0.229	0.019	0.352	0.031
51	0.239	0.007	0.496	0.009
52	0.312	0.031	0.492	0.032
53	0.251	0.016	0.435	0.018
54	0.268	0.015	0.439	0.026
55	0.327	0.014	0.481	0.016
56	0.335	0.012	0.544	0.026
68	0.251	0.028	0.382	0.020
69	0.398	0.015	0.406	0.024
70	0.226	0.007	0.350	0.005
82	0.246	0.007	0.430	0.008
RB2	0.254	0.008	0.412	0.018
RB4	0.297	0.009	0.433	0.011
RB6	0.475	0.030	0.560	0.035
RB7	0.331	0.008	0.400	0.007
TJ632	0.235	0.004	0.335	0.013
TJ645	0.307	0.012	0.363	0.005
TJ772	0.346	0.022	0.449	0.008

[0365] 结果可见，7条候选阳参中，TJ632表现出最优的效果，而我们的多条候选序列表现出优效或者等效阳参TJ632的效果，例如3、5、8、9、24、26、50、70、82号dsRNA等。

[0366] 实施例3、FXI-dsRNA的优化

[0367] 3.1抑制活性检测

[0368] 为进一步确认优选的dsRNA分子，我们分别对上述优选序列采用两种不同的修饰基序，对候选序列不同位置进行氟代和甲氧基修饰组合。

[0369] 具体修饰选自以下的任意种：

[0370] (1)修饰E(经E修饰的dsRNA以En进行指代，其中n为候选dsRNA分子的编号，例如3号dsRNA分子经E修饰后以E3进行指代)：

[0371] 正义序列：从5’开始第7、9、10、11位为2’-氟代修饰的核苷酸，其他位点为2’-O-甲基修饰的核苷酸，并且5’端第1及第2个磷酸酯键通过硫代形成硫代磷酸酯键；例如，以N代表任意核糖核苷酸，则正义序列的修饰为：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0372] 反义序列：从5’开始第2、6、14、16位为2’-氟代修饰的核苷酸(换言之，从反义序列与正义链互补区的3’末端开始的第2、6、14、16位为2’-氟代修饰的核苷酸)，其他位点为2’-O-甲基修饰的核苷酸，并且5’端及3’端的第1及第2个磷酸之间通过硫代形成硫代磷酸酯键；例如以N代表任意核糖核苷酸，则反义序列的修饰为：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0373] (2)修饰E-1(经E-1修饰的dsRNA以En-1进行指代，其中n为候选dsRNA分子的编号，例如3号dsRNA分子经E修饰后以E3-1进行指代)，

[0374] 修饰E-1与E1修饰的唯一区别在于E-1修饰的dsRNA反义链从5’端开始的第6位核苷酸为2’-O-甲基修饰的核苷酸而不是2′-氟代修饰，即，例如：

[0375] 正义序列的修饰为：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0376] 反义序列的修饰为：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0377] 在本申请的序列修饰中，s代表硫代磷酸酯键，m代表2′-O-甲基修饰，f代表2′-氟代修饰。

[0378] 此外，反义化合物ISIS-416858采用CN109797150A中公开的结构及修饰方式，即“5-10-5”的结构，侧翼各5个2′ -O-甲氧基乙基修饰核苷酸，中间10个脱氧核苷酸，以及全硫代、甲基胞嘧啶替代胞嘧啶。

[0379] 转染细胞为HepG2细胞，其合成、转染、定量PCR检测步骤同实施例2。表3和图3为相对空白对照组的靶基因表达水平的平均值(空白对照组的mRNA相对表达水平设为1)。

[0380] 表3：修饰dsRNA在HepG2细胞中的单剂量(1nM)筛选

样品名称	FXI mRNA相对表达量	平均误差（±SEM）
E3	0.355	0.020
E4	0.454	0.039
E5	0.439	0.025
E6	0.401	0.039
E8	0.329	0.019
E9	0.437	0.018
E13	0.343	0.006
E14	0.302	0.035
E15	0.345	0.021
E16	0.371	0.008
E18	0.420	0.018
E19	0.329	0.013
E20	0.427	0.011
E24	0.326	0.013
E26	0.301	0.016
E50	0.252	0.011
E51	0.369	0.023
E52	0.351	0.021
E53	0.371	0.043
E54	0.368	0.011
E55	0.618	0.053
E56	0.455	0.034
E68	0.450	0.008
E69	0.344	0.009
E70	0.375	0.013
E82	0.323	0.009
ERB2	0.353	0.005
ERB4	0.467	0.015
ERB6	0.514	0.040
ERB7	0.342	0.008
ETJ632	0.318	0.005
ETJ645	0.358	0.021
ETJ772	0.405	0.022
ISIS-416858	0.734	0.016

[0381] 可见，与经化学修饰后的阳性对照序列相比，我们的多条候选序列，如，E8、E14、E19、E24、E26、E50等序列依旧表现出等效或优效于最好的阳参ETJ632的结果。该结果再次证明，我们筛选得到的优选序列具有高效降低FXI基因核酸水平的潜能。

[0382] 实施例4GalNAc-dsRNA体外有效性检测

[0383] 将候选的修饰dsRNA进行GalNAc偶联形成GAL-dsRNA复合物，即对各dsRNA进行G修饰。

[0384] 所述G修饰是指将L96缀合至dsRNA正义序列3’末端，包括GE修饰及GE-1修饰，其中：

[0385] GE修饰如下所示，其中“-L96”表示使L96缀合至dsRNA正义序列3’末端：

[0386] 正义序列的修饰为：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；

[0387] 反义序列的修饰为：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0388] 经过GE修饰的dsRNA以GEn进行指代，其中n为候选dsRNA分子的编号，例如3号dsRNA分子经GE修饰后以GE3进行指代；

[0389] GE-1如下所示：

[0390] 正义序列的修饰为：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm-L96；

[0391] 反义序列的修饰为：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0392] 同样，其中“-L96”表示L96通过磷酸酯键缀合至dsRNA正义序列3’末端，经过GE-1修饰的dsRNA以GEn-1进行指代，其中n为候选dsRNA分子的编号，例如3号dsRNA分子经GE-1修饰后以GE3-1进行指代。

[0393] 我们进一步在HepG2细胞中验证了经G修饰的候选复合物的活性。

[0394] 4.1HepG2细胞中mRNA表达水平检测

[0395] 检测步骤同实施例2，以人GAPDH基因为内参基因，使用的检测引物如文末序列表引物部分所示。表4为使用G修饰的dsRNA处理的HepG2细胞中mRNA水平

相对未处理组的靶基因表达水平的平均值(未处理组的mRNA相对表达水平设为1)。其统计结果示于图4。

[0396] 表4部分GalNAc偶联dsRNA在HepG2细胞中的IC50数据

样品名称	IC_{50}（nM）
GE14	0.089
GE19	0.059
GE26	0.066
GE50	0.026
GE70	0.040
GE82	0.030

[0397] 可见，GalNAc偶联dsRNA在HepG2细胞中的IC50均低于0.1nM,再次证明候选序列对靶基因的高效抑制活性。

[0398] 实施例5体内有效性检测

[0399] 试验采用6～8周周龄的SPF级人源化FXI纯合子雄性小鼠(南模生物实验动物有限公司)，随机分组，每组6只，皮下单次注射给药，每组注射GE修饰的不同dsRNA，Blank组注射生理盐水。分别于给药后第7天和第13天采血，眼球后部放血收集血清用于FXI蛋白含量检测。

[0400] 具体给药剂量如表5所示。

[0401] 表5 3mpk单次给药方案

药物名称	给药剂量	人源化FXI小鼠
Blank	生理盐水	N=6，雄性
GE3	3mpk	
GE8		
GE14		
GE19		
GE24		
GE26		
GE50		
GE70		
GE82		

[0402] 5.1 FXI蛋白ELISA检测

[0403] 血清按1：500稀释后采用Abcam公司ab108834ELISA检测试剂盒检测各组血浆中残留FXI的含量，具体操作步骤参考ab108834ELISA检测说明书，通过酶标仪在450nm波长下检测吸光值，并用GraphPad软件进行分析，抑制率百分比是相对于

未给药处理组的一个相对结果，结果如表6所示，图5则显示了各组血浆中以空白对照组做归一化处理后的FXI蛋白相对表达水平。

[0404] 表6：3mpk单次给药后血浆中FXI蛋白的抑制率

药物名称	第 7 天 抑制率（%）	第 13 天 抑制率（%）
GE3	53.9	52.3
GE8	44.0	53.7
GE15	53.1	58.3
GE14	55.3	53.4
GE19	69.4	71.6
GE24	50.5	56.2
GE26	70.7	81.8
GE50	87.9	92.8
GE70	78.6	86.7
GE82	61.2	64.7

[0405] 可见，在3mpk单次给药中，候选的dsRNA分子给药组小鼠体内血浆中FXI的含量均显著低于空白对照组。在第13天时，GE26、GE50和GE70的抑制率高于80%以上，其中GE50表现出最高的抑制率92.8%。同时，在第13天时，所有给药组的抑制率均>50%。该结果证明我们针对FXI设计的多条dsRNA分子能够有效抑制肝脏中FXI蛋白的表达分泌，是一种潜在的靶向FXI基因的治疗药物。

[0406] 实施例6不同配体的体内药效评价实验

[0407] 我们进一步在候选dsRNA中验证了不同配体偶联物的效果。表7为dsRNA序列信息。其使用LN-E05修饰或GN-E05修饰，其中LN-E05修饰同实施例4的GE-1修饰，GN-E05修饰具体如下所示：

[0408] 正义序列的修饰为：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；

[0409] 反义序列的修饰为：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

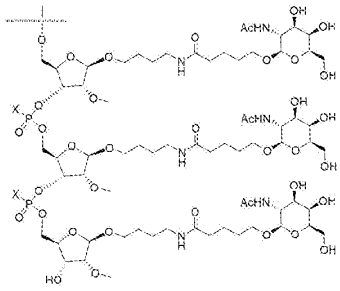
[0410] 即GN-E05修饰与LN-E05修饰的区别仅在于缀合于正义链3’端的L96配体被更换为配体1，配体1通过硫代磷酸酯键与正义链的3’末端连接。

[0411] 表7合成的寡聚核苷酸

dsRNA 序列	碱基序列	修饰基序	配体结构
LN50-E05	有义链：SEQ ID NO：58 反义链：SEQ ID NO：177	LN-E05	L96
GN50-E05		GN-E05	配体 1
LN26-E05	有义链：SEQ ID NO：34 反义链：SEQ ID NO：153	LN-E05	L96
GN26-E05		GN-E05	配体 1

[0412] 根据表7分组，各组按照3mpk皮下单次注射给药，分别于给药后不同时间点采血，血浆用于FXI蛋白含量检测。残留率百分比是相对于药前点的相对结果，结果如图6所示,在3mpk单次给药中，连接配体1的dsRNA对FXI蛋白的抑制率显著高于(使用配对T检验，$p<0.05$)连接L96的dsRNA。

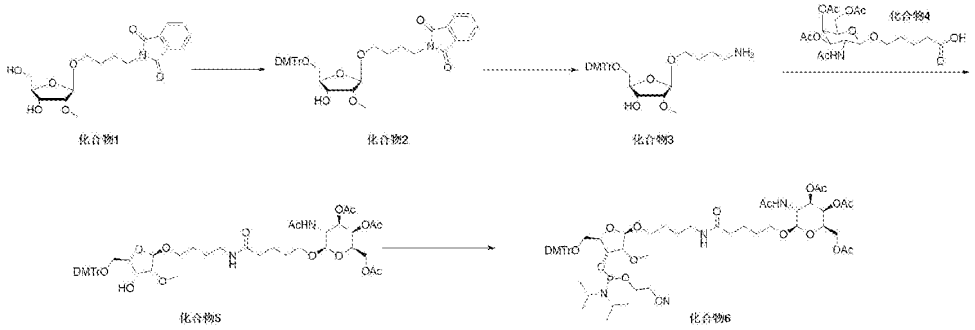
[0413] 配体1结构如式II所示：



（X=S⁻）（式II）；

[0414] 其中波浪线表示与dsRNA的有义链的3’端通过硫代磷酸酯键连接。式II的分子是由两个化合物6及一个化合物8通过本领域常规原料及合成方法制备形成的三价GalNac缀合物。其中化合物6和8的合成方法如下所示：

[0415] 1、化合物6的合成



[0416] ①化合物2的合成：

[0417] 于三颈烧瓶中加入1.2g化合物1和12mL吡啶。搅拌溶解后加入1.2g DMTrCl后，氮气保护下室温搅拌1小时。向反应混合物中慢慢加入甲醇(0.6mL)淬灭过量的DMTrCl，室温搅拌15min后，再加入303.5mg NaHCO3。浓缩后得到粗品，加入DCM/H2O，搅拌溶解，并用水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相并过滤。收集到的有机相在真空下浓缩得到化合物2的粗品，直接用于下一步反应。

[0418] ②化合物3的合成：

[0419] 向化合物2粗品中加入乙醇(24mL)，缓慢升温至50℃，搅拌溶解后再加入水合肼(0.75mL)，继续在50℃下搅拌过夜后，再降至室温，并在室温下继续搅拌半小时，此时逐渐析出大量白色固体。过滤，滤渣用乙醇洗涤。所得滤液减压浓缩，再复溶于DCM/H2O，分液，分出有机相，用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相并过滤。收集到的有机相在真空下浓缩得到化合物3粗品，直接用于下一步反应。

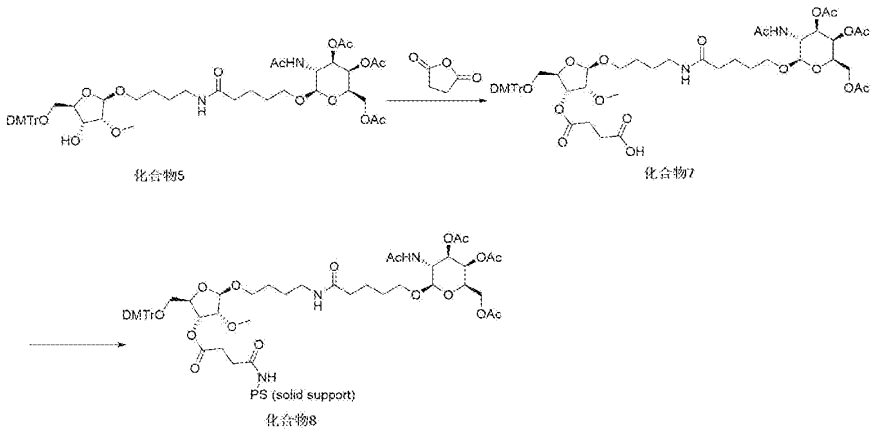
[0420] ③化合物5的合成：

[0421] 向化合物3粗品中依次加入0.9g化合物4、DCM(24mL)、0.84mL Et3N和2.3gHBTU，氮气保护下室温搅拌2小时。加入9mL水淬灭反应，分出有机相，用饱和食盐水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相并过滤。收集到的有机相在真空下浓缩并通过反相制备(75％ACN−H2O)纯化得到1.4g化合物5，三步收率44.2％。ESI−MS: m/z 1025.6[M^+OAc^-]$^-$。

[0422] ④化合物6的合成：

[0423] 将1.4g化合物5溶于DCM(14mL)中，置于0±2℃中冷却。加入524.7mg 2−氰乙基−N,N,N',N'−四异丙基亚磷酰二胺，随后加入81.3mg 1H−tetrazole。反应液先在0±2℃中搅拌15min后，再升至室温，继续搅拌2小时。将反应液在0±2℃中冷却，加入14mL 5％NaHCO3淬灭，分出有机相，在0±2℃中用饱和食盐水(1x 14mL)洗涤，无水硫酸钠干燥有机相并过滤。收集到的有机相在真空下浓缩，所得粗品复溶于DCM/MTBE,小心滴加至剧烈搅拌的正庚烷(hept.)溶液中，此时瓶壁和瓶底逐渐析出大量粘稠油状物，静置10min后，倾出上清液。粗品用EA:hept.＝10:1～2:1洗脱剂层析，浓缩及干燥后得560mg白色固体粉末，收率32％，磷谱纯度98.19％。ESI−MS:m/z 1225.4[M^+OAc^-]$^-$。

[0424] 2、化合物8的合成



[0425] ①化合物7的合成：

[0426] 将2g化合物5溶于DCM(20mL)，依次加入248.4mg丁二酸酐和0.69mL Et3N。最后加入25.3mg DMAP，室温搅拌16小时后，HPLC监测原料剩余较多，补加310.4mg丁二酸酐和0.69mL Et3N。最后加入25.3mg DMAP，继续室温搅拌36小时。将反应液在0±2℃中冷却，向反应中加入冰水，再加入DCM，最后加入40mL 1%HOAc水溶液，搅拌10min后分出有机相，依次用1%HOAc水溶液及水洗涤，无水硫酸钠干燥有机相并过滤。收集到的有机相在真空下浓缩，得到粗品。粗品用DCM:MeOH＝70:1～20:1洗脱剂层析，浓缩及干燥后得0.9g白色固体粉末，收率40.7%，丁二酸检测无残留，丁二酸酐残留为0.26%。ESI-MS:m/z 1065.7[$M^-H]^-$。

[0427] ②化合物8的合成：

[0428] 于三颈烧瓶中加入300mg的化合物7，72.7mg的DIPEA，106mg的HBTU和10mL的乙腈，在25℃下搅拌10分钟后，加入650mg的固相载体PS，在25℃下继续搅拌24小时。反应结束后过滤，滤饼用乙腈洗涤，收集滤饼在真空下浓缩除去溶剂得到850mg的固体。从中取700mg加入三颈烧瓶中，再加入1.74g的乙酸酐，4.15mg的DMAP，103mg的三乙胺和10mL的吡啶，在25℃下搅拌4小时。反应结束后过滤，滤饼依次用乙腈，甲醇和乙腈洗涤，收集滤饼在真空下浓缩除去溶剂得到750mg的化合物8。载量的测定值为254.82μmol/g。

[0429] 3、与配体1连接的寡核苷酸序列的制备

[0430] 将化合物8顺次与2个化合物6，或将3个化合物6顺次进行反应，通过常规的固相合成循环步骤(脱保护，偶联，氧化和加帽)，即可得到连接至固相载体的配体1的前体(或中间体)。进一步使用对应的2’-修饰单体进行固相合成循环反应。反应完毕后，通过氨解将整个合成的分子从固相载体上解离下来，即得到与配体1连接的寡核苷酸序列。

[0431] 实施例7不同修饰基序的体外、体内药效评价实验

[0432] 我们进一步在碱基序列同双链编号50号和双链编号26号的dsRNA中验证了不同修饰基序的的效果。具体使用的分子具体如表8所示。可见表8中的分子均在正义链3’末端通过硫代磷酸酯键连接配体1，同时反义链5’末端核苷酸使用了5’-vp修饰。

[0433] 表8：合成的寡聚核苷酸

dsRNA 编号	碱基序列	化学修饰
GN50-E20VP	有义链：SEQ ID NO：58 反义链：SEQ ID NO：177	GN-E20VP
GN50-E04VP		GN-E04VP
GN50-E05VP		GN-E05VP
GN50-E05		GN-E05
GN26-E20VP	有义链：SEQ ID NO：34 反义链：SEQ ID NO：153	GN-E20VP
GN26-E04VP		GN-E04VP
GN26-E05VP		GN-E05VP
GN26-E05		GN-E05

[0434] 表8中各修饰基序如下所示：

[0435] GN-E20VP：

[0436] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0437] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0438] GN-E04VP：

[0439] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0440] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

[0441] GN-E05VP：

[0442] 正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1

[0443] 反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[0444] GN-E05修饰同实施例6，其与GN-E05VP修饰的差异仅在于GN-E05在反义链5’末端没有乙烯基磷酸酯修饰。

[0445] 7.1不同修饰基序体外药效评价

[0446] 首先，我们在体外HepG2细胞水平验证了表8中不同修饰方式对药效的影响，实验方法参照实施例4。表4为各处理组mRNA水平相对未处理组的靶基因表达水平的平均值(未处理组的mRNA相对表达水平设为1)。体外试验为不同批次的独立重复结果，其统计结果示于表9、表10。

[0447] 表9 5VP修饰dsRNA在HepG2细胞中的IC50数据

样品名称	IC_{50}（nM）
GN26-E05	0.117
GN26-E05VP	0.041
GE50-E05	0.034
GN50-E05VP	0.026

[0448] 表10不同基序修饰dsRNA在HepG2细胞中的IC50数据

样品名称	IC_{50}（nM）
GN26-E04VP	0.167
GN26-E05VP	0.099
GN26-E20VP	0.044

[0449] 体外结果如表9、图7所示,可见5-VP的修饰有助于药效的进一步提高。同时，在配体和碱基序列均相同的情况下，GN-E05VP、GN-E20VP的修饰基序显著优于GN-E04VP(表10所示)，进一步地，GN-E20VP的修饰基序亦显著优于GN-E05VP。

[0450] 7.2不同修饰基序体内药效评价

[0451] 试验方案参照实施例5，参照表8中的各组按照1mpk皮下单次注射给药具有不同修饰的50号dsRNA。分别于给药后第7、14、21、28天采血，血浆用于FXI蛋白含量检测。残留率百分比是相对于药前点的相对结果，结果如表11、图8所示。

[0452] 表11：1mpk单次给药后血浆中FXI蛋白的残留率

药物名称	第7天 残留率（%）	第14天 残留率（%）	第28天 残留率（%）
GN50-E05	16.3	11.9	20.4
GN50-E04VP	14.0	10.1	14.9
GN50-E05VP	10.7	7.7	12.2
GN50-E20VP	9.4	6.6	9.1

[0453] 从修饰后的50号的分子结果可见，在1mpk单次给药中，dsRNA碱基序列相同的情况下，E05VP、E20VP修饰基序优于E04VP(P＜0.05)，且E20VP进一步优于E05VP(P＜0.05)。同时，结果显示5’-VP修饰有助于药效的进一步提高。

[0454] 进一步我们在体内也比较了26号分子不同修饰基序(如表8所示)的药效。分别于给药后第7、14天采血，血浆用于FXI蛋白含量检测。残留率百分比是相对于药前点的相对结果，结果如表12所示。

[0455] 表12：1mpk单次给药后血浆中FXI蛋白的残留率

药物名称	第7天 残留率（%）	第14天 残留率（%）
GN26-E04VP	20.6	24.7
GN26-E05VP	17.2	18.0
GN26-E20VP	12.4	14.0

[0456] 在26号分子上再一次证明了E05VP、E20VP药效优于E04VP，且E20VP基序药效是其中最优的。此外，5’-VP的修饰有助于药效的进一步提高。

[0457] 本申请以上实施例中使用的序列示于如下序列表中。应当理解，以下序列仅为本申请实施方案的示例性序列，而非对本申请方案的任何限制。以下序列表中的核酸序列可表示DNA序列或RNA序列，当其表示RNA序列时，其中的“T”代表尿苷。并且，在RNA的语境下，如非特别说明“T”和“U”均指代尿嘧啶或尿苷。

[0458] 序列表：

dsRNA编号	正义序列(5'->3')	正义序列编号	反义序列(5'->3')	反义序列编号
1	CCGATGGTTTACTTGTGTCCT	SEQ ID NO：1	AGGACACAAGTAAACCATCGGGT	SEQ ID NO：120
2	CTTTCAAGCAATGCTCACACC	SEQ ID NO：2	GGTGTGAGCATTGCTTGAAAGAA	SEQ ID NO：121
3	GCAATGCTCACACCAAATAAG	SEQ ID NO：3	CTTATTTGGTGTGAGCATTGCTT	SEQ ID NO：122
3’	GCAATGCTCACACCAAATAAT	SEQ ID NO：4	ATTATTTGGTGTGAGCATTGCTT	SEQ ID NO：123
4	CAATGCTCACACCAAATAAGC	SEQ ID NO：5	GCTTATTTGGTGTGAGCATTGCT	SEQ ID NO：124
4’	CAATGCTCACACCAAATAAGT	SEQ ID NO：6	ACTTATTTGGTGTGAGCATTGCT	SEQ ID NO：125
5	ACCAAATAAGCGCTTGCAACA	SEQ ID NO：7	TGTTGCAAGCGCTTATTTGGTGT	SEQ ID NO：126
6	CCAAATAAGCGCTTGCAACAA	SEQ ID NO：8	TTGTTGCAAGCGCTTATTTGGTG	SEQ ID NO：127
7	CAAAGACATTTATGTGGACCT	SEQ ID NO：9	AGGTCCACATAAATGTCTTTGTT	SEQ ID NO：128
8	AGGGCATAAACTATAACAGCT	SEQ ID NO：10	AGCTGTTATAGTTTATGCCCTTC	SEQ ID NO：129
9	GGGCATAAACTATAACAGCTC	SEQ ID NO：11	GAGCTGTTATAGTTTATGCCCTT	SEQ ID NO：130
9’	GGGCATAAACTATAACAGCTT	SEQ ID NO：12	AAGCTGTTATAGTTTATGCCCTT	SEQ ID NO：131
10	ATGCCAAGAAAGATGCACGGA	SEQ ID NO：13	TCCGTGCATCTTTCTTGGCATTC	SEQ ID NO：132
11	ACTTTTTCACGTACGCCACAA	SEQ ID NO：14	TTGTGGCGTACGTGAAAAAGTGG	SEQ ID NO：133
12	ATTTCCTACACAAGCTCATTC	SEQ ID NO：15	GAATGAGCTTGTGTAGGAAATGG	SEQ ID NO：134
13	TGCTCACACCAAATAAGCGCT	SEQ ID NO：16	AGCGCTTATTTGGTGTGAGCATT	SEQ ID NO：135
14	AAATAAGCGCTTGCAACAAAG	SEQ ID NO：17	CTTTGTTGCAAGCGCTTATTTGG	SEQ ID NO：136
14’	AAATAAGCGCTTGCAACAAAT	SEQ ID NO：18	ATTTGTTGCAAGCGCTTATTTGG	SEQ ID NO：137
15	CATGAAGGGCATAAACTATAA	SEQ ID NO：19	TTATAGTTTATGCCCTTCATGTC	SEQ ID NO：138
16	GAAGGGCATAAACTATAACAG	SEQ ID NO：20	CTGTTATAGTTTATGCCCTTCAT	SEQ ID NO：139
16’	GAAGGGCATAAACTATAACAT	SEQ ID NO：21	ATGTTATAGTTTATGCCCTTCAT	SEQ ID NO：140
17	AAGGGCATAAACTATAACAGC	SEQ ID NO：22	GCTGTTATAGTTTATGCCCTTCA	SEQ ID NO：141
18	GGCATAAACTATAACAGCTCA	SEQ ID NO：23	TGAGCTGTTATAGTTTATGCCCT	SEQ ID NO：142
19	AAGAAAGATGCACGGATGACG	SEQ ID NO：24	CGTCATCCGTGCATCTTTCTTGG	SEQ ID NO：143
20	CTGCCACTTTTTCACGTACGC	SEQ ID NO：25	GCGTACGTGAAAAAGTGGCAGTG	SEQ ID NO：144

20'	CTGCCACTTTTTCACGTACGT	SEQ ID NO: 26	ACGTACGTGAAAAAGTGGCAGTG	SEQ ID NO: 145
21	AGCACCCTTATTAAGAATTGC	SEQ ID NO: 27	GCAATTCTTAATAAGGGTGCTTT	SEQ ID NO: 146
22	GTTTCTGGTGAATGTGTGACT	SEQ ID NO: 28	AGTCACACATTCACCAGAAACTG	SEQ ID NO: 147
23	GGAGGGGACATTACTACGGTC	SEQ ID NO: 29	GACCGTAGTAATGTCCCCTCCTT	SEQ ID NO: 148
24	ACTGCCAAGAGTGAATAGGAC	SEQ ID NO: 30	GTCCTATTCACTCTTGGCAGTGT	SEQ ID NO: 149
24'	ACTGCCAAGAGTGAATAGGAT	SEQ ID NO: 31	ATCCTATTCACTCTTGGCAGTGT	SEQ ID NO: 150
25	TTTCAAGCAATGCTCACACCA	SEQ ID NO: 32	TGGTGTGAGCATTGCTTGAAAGA	SEQ ID NO: 151
26	TCACACCAAATAAGCGCTTGC	SEQ ID NO: 33	GCAAGCGCTTATTTGGTGTGAGC	SEQ ID NO: 152
26'	TCACACCAAATAAGCGCTTGT	SEQ ID NO: 34	ACAAGCGCTTATTTGGTGTGAGC	SEQ ID NO: 153
27	ACATGAAGGGCATAAACTATA	SEQ ID NO: 35	TATAGTTTATGCCCTTCATGTCT	SEQ ID NO: 154
28	TGAAGGGCATAAACTATAACA	SEQ ID NO: 36	TGTTATAGTTTATGCCCTTCATG	SEQ ID NO: 155
29	GTTGCCAAGAGTGCTCAAGAA	SEQ ID NO: 37	TTCTTGAGCACTCTTGGCAACTG	SEQ ID NO: 156
30	GCACCCTTATTAAGAATTGCA	SEQ ID NO: 38	TGCAATTCTTAATAAGGGTGCTT	SEQ ID NO: 157
31	ACAAGGTCTTTTCAGGATGAT	SEQ ID NO: 39	ATCATCCTGAAAAGACCTTGTTG	SEQ ID NO: 158
32	ACACAAGCTCATTCAGAGGAG	SEQ ID NO: 40	CTCCTCTGAATGAGCTTGTGTAG	SEQ ID NO: 159
33	GTCCACTGCCACTTTTTCACG	SEQ ID NO: 41	CGTGAAAAAGTGGCAGTGGACGT	SEQ ID NO: 160
34	GAAAAGCACCCTTATTAAGAA	SEQ ID NO: 42	TTCTTAATAAGGGTGCTTTTCTT	SEQ ID NO: 161
35	AAAAGCACCCTTATTAAGAAT	SEQ ID NO: 43	ATTCTTAATAAGGGTGCTTTTCT	SEQ ID NO: 162
36	TCCACTGCCACTTTTTCACGT	SEQ ID NO: 44	ACGTGAAAAAGTGGCAGTGGACG	SEQ ID NO: 163
37	CACTGCCACTTTTTCACGTAC	SEQ ID NO: 45	GTACGTGAAAAAGTGGCAGTGGA	SEQ ID NO: 164
38	TTTCCTACACAAGCTCATTCA	SEQ ID NO: 46	TGAATGAGCTTGTGTAGGAAATG	SEQ ID NO: 165
39	CCACTGCCACTTTTTCACGTA	SEQ ID NO: 47	TACGTGAAAAAGTGGCAGTGGAC	SEQ ID NO: 166
40	GATGCACGGATGACGTCCACT	SEQ ID NO: 48	AGTGGACGTCATCCGTGCATCTT	SEQ ID NO: 167
41	CTGAGAGTGGATTGCCCAGTA	SEQ ID NO: 49	TACTGGGCAATCCACTCTCAGAT	SEQ ID NO: 168
42	AGAAAGATGCACGGATGACGT	SEQ ID NO: 50	ACGTCATCCGTGCATCTTTCTTG	SEQ ID NO: 169
43	GAAAGATGCACGGATGACGTC	SEQ ID NO: 51	GACGTCATCCGTGCATCTTTCTT	SEQ ID NO: 170
44	AGATGCACGGATGACGTCCAC	SEQ ID NO: 52	GTGGACGTCATCCGTGCATCTTT	SEQ ID NO: 171
45	GAAACTGTGCACCAATGCCGT	SEQ ID	ACGGCATTGGTGCACAGTTTCTG	SEQ ID N

		NO: 53		O: 172
46	TCCGCTGCCAGTTTTTTACCT	SEQ ID NO: 54	AGGTAAAAAACTGGCAGCGGACG	SEQ ID NO: 173
47	AGTTTTTTACCTATACCCCAG	SEQ ID NO: 55	CTGGGGTATAGGTAAAAAACTGG	SEQ ID NO: 174
48	GTTTTTTACCTATACCCCAGC	SEQ ID NO: 56	GCTGGGGTATAGGTAAAAAACTG	SEQ ID NO: 175
49	TTTTTTACCTATACCCCAGCC	SEQ ID NO: 57	GGCTGGGGTATAGGTAAAAAACT	SEQ ID NO: 176
50	AAGTGTTACTTAAAGCTTTCT	SEQ ID NO: 58	AGAAAGCTTTAAGTAACACTTGC	SEQ ID NO: 177
51	AGCTTTCTTCAAACGGATCTC	SEQ ID NO: 59	GAGATCCGTTTGAAGAAAGCTTT	SEQ ID NO: 178
51'	AGCTTTCTTCAAACGGATCTT	SEQ ID NO: 60	AAGATCCGTTTGAAGAAAGCTTT	SEQ ID NO: 179
52	ACGGATCTCCAACTAAAATAC	SEQ ID NO: 61	GTATTTTAGTTGGAGATCCGTTT	SEQ ID NO: 180
52'	ACGGATCTCCAACTAAAATAT	SEQ ID NO: 62	ATATTTTAGTTGGAGATCCGTTT	SEQ ID NO: 181
53	AACTAAAATACTTCACGGGAG	SEQ ID NO: 63	CTCCCGTGAAGTATTTTAGTTGG	SEQ ID NO: 182
54	CTTTGTCTCCTTAAAACATCT	SEQ ID NO: 64	AGATGTTTTAAGGAGACAAAGAT	SEQ ID NO: 183
55	TTGCCCAGTACACGCATTAAA	SEQ ID NO: 65	TTTAATGCGTGTACTGGGCAATC	SEQ ID NO: 184
56	CCAGTACACGCATTAAAAAGA	SEQ ID NO: 66	TCTTTTTAATGCGTGTACTGGGC	SEQ ID NO: 185
57	CAGTACACGCATTAAAAAGAG	SEQ ID NO: 67	CTCTTTTTAATGCGTGTACTGGG	SEQ ID NO: 186
58	TCAGTCTACAAAGCTGCAGGC	SEQ ID NO: 68	GCCTGCAGCTTTGTAGACTGAAA	SEQ ID NO: 187
59	TAAGCCAACAAGGTCTTTTCA	SEQ ID NO: 69	TGAAAAGACCTTGTTGGCTTACT	SEQ ID NO: 188
60	AAGCCAACAAGGTCTTTTCAG	SEQ ID NO: 70	CTGAAAAGACCTTGTTGGCTTAC	SEQ ID NO: 189
61	GAGGGGACATTACTACGGTCT	SEQ ID NO: 71	AGACCGTAGTAATGTCCCCTCCT	SEQ ID NO: 190
62	GGGGACATTACTACGGTCTTC	SEQ ID NO: 72	GAAGACCGTAGTAATGTCCCCTC	SEQ ID NO: 191
63	GACATTACTACGGTCTTCACA	SEQ ID NO: 73	TGTGAAGACCGTAGTAATGTCCC	SEQ ID NO: 192
64	TCTTCACTTTCACGGCGGAAT	SEQ ID NO: 74	ATTCCGCCGTGAAAGTGAAGAGT	SEQ ID NO: 193
65	CTTCACTTTCACGGCGGAATC	SEQ ID NO: 75	GATTCCGCCGTGAAAGTGAAGAG	SEQ ID NO: 194
66	TTCACTTTCACGGCGGAATCA	SEQ ID NO: 76	TGATTCCGCCGTGAAAGTGAAGA	SEQ ID NO: 195
67	GATCCCACCCGATGGTTTACT	SEQ ID NO: 77	AGTAAACCATCGGGTGGGATCCT	SEQ ID NO: 196
68	CCAAGAGTGAATAGGACAGCA	SEQ ID NO: 78	TGCTGTCCTATTCACTCTTGGCA	SEQ ID NO: 197
69	ATAGGACAGCAGCGATTTCTG	SEQ ID NO: 79	CAGAAATCGCTGCTGTCCTATTC	SEQ ID NO: 198
69'	ATAGGACAGCAGCGATTTCTT	SEQ ID NO: 80	AAGAAATCGCTGCTGTCCTATTC	SEQ ID NO: 199

70	CACCAAATAAGCGCTTGCAAC	SEQ ID NO: 81	GTTGCAAGCGCTTATTTGGTGTG	SEQ ID NO: 200
70'	CACCAAATAAGCGCTTGCAAT	SEQ ID NO: 82	ATTGCAAGCGCTTATTTGGTGTG	SEQ ID NO: 201
71	AAAGATGCACGGATGACGTCC	SEQ ID NO: 83	GGACGTCATCCGTGCATCTTTCT	SEQ ID NO: 202
72	GATACACATTAAGGTTGTGTA	SEQ ID NO: 84	TACACAACCTTAATGTGTATCCA	SEQ ID NO: 203
73	ATTGCCCAGTACACGCATTAA	SEQ ID NO: 85	TTAATGCGTGTACTGGGCAATCC	SEQ ID NO: 204
74	AAAGCTCTTTCTGGTTTCAGT	SEQ ID NO: 86	ACTGAAACCAGAAAGAGCTTTGC	SEQ ID NO: 205
75	TGAAGGAGGGGACATTACTAC	SEQ ID NO: 87	GTAGTAATGTCCCCTCCTTCAAA	SEQ ID NO: 206
76	CATTACTACGGTCTTCACACC	SEQ ID NO: 88	GGTGTGAAGACCGTAGTAATGTC	SEQ ID NO: 207
77	CACACCAAGCGCCAAGTACTG	SEQ ID NO: 89	CAGTACTTGGCGCTTGGTGTGAA	SEQ ID NO: 208
78	CTCTTCACTTTCACGGCGGAA	SEQ ID NO: 90	TTCCGCCGTGAAAGTGAAGAGTA	SEQ ID NO: 209
79	TCACTTTCACGGCGGAATCAC	SEQ ID NO: 91	GTGATTCCGCCGTGAAAGTGAAG	SEQ ID NO: 210
80	TCCCACCCGATGGTTTACTTG	SEQ ID NO: 92	CAAGTAAACCATCGGGTGGGATC	SEQ ID NO: 211
81	AGAGTGAATAGGACAGCAGCG	SEQ ID NO: 93	CGCTGCTGTCCTATTCACTCTTG	SEQ ID NO: 212
82	AGTGAATAGGACAGCAGCGAT	SEQ ID NO: 94	ATCGCTGCTGTCCTATTCACTCT	SEQ ID NO: 213
84	AATAGGACAGCAGCGATTTCT	SEQ ID NO: 95	AGAAATCGCTGCTGTCCTATTCA	SEQ ID NO: 214
83	GCATAAACTATAACAGCTCAG	SEQ ID NO: 96	CTGAGCTGTTATAGTTTATGCCC	SEQ ID NO: 215
85	GGAAGAAAAGCACCCTTATTA	SEQ ID NO: 97	TAATAAGGGTGCTTTTCTTCCTC	SEQ ID NO: 216
86	GAAGAAAAGCACCCTTATTAA	SEQ ID NO: 98	TTAATAAGGGTGCTTTTCTTCCT	SEQ ID NO: 217
87	TTTTTCACGTACGCCACAAGG	SEQ ID NO: 99	CCTTGTGGCGTACGTGAAAAAGT	SEQ ID NO: 218
88	TTTTCACGTACGCCACAAGGC	SEQ ID NO: 100	GCCTTGTGGCGTACGTGAAAAAG	SEQ ID NO: 219
89	AGAAAAGCACCCTTATTAAGA	SEQ ID NO: 101	TCTTAATAAGGGTGCTTTTCTTC	SEQ ID NO: 220
90	ATTGCAGCAAGTAAGCCAACA	SEQ ID NO: 102	TGTTGGCTTACTTGCTGCAATTC	SEQ ID NO: 221
91	TCTCCTTAAAACATCTGAGAG	SEQ ID NO: 103	CTCTCAGATGTTTTAAGGAGACA	SEQ ID NO: 222
92	GACTCAGTTGTTGAAGGACAC	SEQ ID NO: 104	GTGTCCTTCAACAACTGAGTCAC	SEQ ID NO: 223
93	TTGAAGGAGGGGACATTACTA	SEQ ID NO: 105	TAGTAATGTCCCCTCCTTCAAAG	SEQ ID NO: 224
94	ACTCTTCACTTTCACGGCGGA	SEQ ID NO: 106	TCCGCCGTGAAAGTGAAGAGTAA	SEQ ID NO: 225
95	GGACAGCAGCGATTTCTGGGT	SEQ ID NO: 107	ACCCAGAAATCGCTGCTGTCCTA	SEQ ID NO: 226
96	CATAAACTATAACAGCTCAGT	SEQ ID	ACTGAGCTGTTATAGTTTATGCC	SEQ ID N

		NO：108		O：227
97	AACTATAACAGCTCAGTTGCC	SEQ ID NO：109	GGCAACTGAGCTGTTATAGTTTA	SEQ ID NO：228
98	AAGAAAAGCACCCTTATTAAG	SEQ ID NO：110	CTTAATAAGGGTGCTTTTCTTCC	SEQ ID NO：229
99	AGCAAGTAAGCCAACAAGGTC	SEQ ID NO：111	GACCTTGTTGGCTTACTTGCTGC	SEQ ID NO：230
100	GCAAGTAAGCCAACAAGGTCT	SEQ ID NO：112	AGACCTTGTTGGCTTACTTGCTG	SEQ ID NO：231
RB2	GGGTATTCTTTCAAGCAAT	SEQ ID NO：113	ATTGCTTGAAAGAATACCCAG	SEQ ID NO：232
RB4	GCTCAAGAATGCCAAGAAA	SEQ ID NO：114	TTTCTTGGCATTCTTGAGCAC	SEQ ID NO：233
RB6	GAATCTCAAAGAAATCTTT	SEQ ID NO：115	AAAGATTTCTTTGAGATTCTT	SEQ ID NO：234
RB7	ATTTCTGGGTATTCTTTCA	SEQ ID NO：116	TGAAAGAATACCCAGAAATCG	SEQ ID NO：235
TJ632	AAGCAATGCTCACACCAAA	SEQ ID NO：117	TTTGGTGTGAGCATTGCTTGA	SEQ ID NO：236
TJ645	CTTGCAACAAAGACATTTA	SEQ ID NO：118	TAAATGTCTTTGTTGCAAGCG	SEQ ID NO：237
TJ772	GGATATTGTTGCTGCAAAA	SEQ ID NO：119	TTTTGCAGCAACAATATCCAG	SEQ ID NO：238
ISIS-416858	-	-	ACGGCATTGGTGCACAGTTT	SEQ ID NO：239
qPCR引物				
引物名称	上游引物序列	上游引物序列号	下游引物序列	下游引物序列号
人-GAPDH	GATTTGGTCGTATTGGGCGC	SEQ ID NO：240	TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC	SEQ ID NO：241
人-FXI	TCACTTTCACGGCGGAATCA	SEQ ID NO：242	TCCGTGCATCTTTCTTGGCA	SEQ ID NO：243
参比序列：FXI mRNA序列				
NM_000128.4	gaccatttcctacacaagctcattcagaggaggatgaagaccattttggaggaagaaaagcacccttattaagaattgcagcaagtaagccaacaaggtcttttcaggatgattttcttatatcaagtggtacatttcattttatttacttcagtttctggtgaatgtgtgactcagttgttgaaggacacctgctttgaaggaggggacattactacggtcttcacaccaagcgccaagtactgccaggtagtctgcacttaccacccaagatgtttactcttcactttcacggcggaatcaccatctgaggatcccacccgatggtttacttgtgtcctgaaagacagtgttacagaaacactgccaagagtgaataggacagcagcgatttctgggtattctttcaagcaatgctcacaccaaataagcgcttgcaacaaagacatttatgtggacctagacatgaagggcataaactataacagctcagttgccaagagtgctcaagaatgccaagaaagatgcacggatgacgtccactgccacttttcacgtacgccacaaggcagtttcccagcctggagcatcgtaacatttgtctactgaagcacacccaaacagggacaccaaccagaataacgaagctcgataaagtggtgtctggattttcactgaaatcctgtgcacttttctaatctggcttgtattagggacattttccctaatacggtgtttgcagacagcaacatcgacagtgtcatggctcccgatgcttttgtctgtggccgaatctgcactcatcatcccggttgcttgtttttacctttctttcccaggaatggcccaaagaaatctcaaagaaatctttgtctccttaaaacatctgagagtggattgcccagtacacgcattaaaaagagcaaagctctttctggtttcagtctacaaagctgcaggcacagcatccacagtgttctgccattcttcattttaccatgacactgatttcttgggagaagaactggatattgttgctgcaaaaagtcacgaggcctgccagaaactgtgcaccaatgccgtccgctgccagttttttacctatacccccagcccaagcatcctgcaacgaagggaagggcaagtgttacttaaagctttcttcaaacggatctccaactaaaatacttcacgggagaggaggcatctctggatacacattaaggttgtgtaaaatggataatgagtgtaccaccaaaatcaagcccaggatcgttggaggaactgcgtctgttcgtggtgagtggccgtggcaggtgaccctgcacacaacctcacccactcagagacacctgtgtggaggctccatcattggaaaccagtggatattaacagccgctcactgtttctatggggtagagtcacctaagattttgcgtgtctacagtggcatttttaaatcaatctgaaataaaagaggacacatctttctttggggttcaagaaataataatccatgatcagtataaaatggcagaaagcgggtatgatattgccttgttgaaactggaaaccacagtgaattacacagattctcaacgacccatatgcctgccttccaaaggagatagaaatgtaatatacactgattgctgggtgactggatgggggtacagaaaactaagagacaaaatacaaaatactctccagaaagccaagatacccttagtgaccaacgaagagtgccagaagagatacagaggacataaaataa	SEQ ID NO：244

	cccataagatgatctgtgccggctacagggaaggagggaaggacgcttgcaagggagattcgggaggccctct gtcctgcaaacacaatgaggtctggcatctggtaggcatcacgagctggggcgaaggctgtgctcaaagggag cggccaggtgtttacaccaacgtggtcgagtacgtggactggattctggagaaaactcaagcagtgtgaatgggt tcccagggccattggagtccctgaaggacccaggatttgctgggagagggtgttgagttcactgtgccagcatg cttcctccacagtaacacgctgaaggggcttggtgtttgtaagaaaatgctagaagaaaacaaactgtcacaagtt gttatgtccaaaactcccgttctatgatcgttgtagtttgtttgagcattcagtctctttgtttttgatcacgcttctatgga gtccaagaattaccataaggcaatatttctgaagattactatataggcagatatagcagaaaataaccaagtagtgg cagtggggatcaggcagaagaactggtaaaagaagccaccataaatagatttgttcgatgaaagatgaaaactg gaagaaaggagaacaaagacagtcttcaccattttgcaggaatctacactctgcctatgtgaacacatttcttttgta aagaaagaaattgattgcatttaatggcagattttcagaatagtcaggaattcttgtcatttccattttaaaatatatatta aaaaaaatcagttcgagtagacacgagctaagagtgaatgtgaagataacagaatttctgtgtggaagaggattac aagcagcaatttacctggaagtgatacctlagggcaatcttgaagatacactttcctgaaaaatgatttgtgatgga ttgtatatttatttaaaatatcttgggaggggaggctgatggagatagggagcatgctcaaacctccctaagacaag ctgctgctgtgactatgggctcccaaagagctagatcgtatatttatttgacaaaaatcaccatagactgcatccata ctacagagaaaaaacaattagggcgcaaatggatagttacagtaaagtcttcagcaagcagctgcctgtattctaa gcactgggatttctgtttcgtgcaaatatttatctcattattgttgtgatctagttcaataacctagaatttgaattgtcac cacatagctttcaatctgtgccaacaactatacaatlcatcaaglgtg	

权利要求书

[权利要求 1] 一种通过RNAi抑制细胞中因子11(FXI)基因表达的核酸分子，其包含彼此互补的正义序列和反义序列或由彼此互补的正义序列和反义序列组成，且所述反义序列包含与FXI基因mRNA互补的多核苷酸序列，其中，

当所述反义序列与所述FXI基因mRNA以最大互补率杂交时，由所述反义序列和FXI基因mRNA序列中互补配对的碱基对组成互补区1；

当所述反义序列与所述正义序列以最大互补率杂交时，由所述反义序列和所述正义序列中互补配对的碱基对组成互补区2；

其中互补区1与互补区2具有至少18、19或20个相同的碱基对，

所述互补区1的碱基对数量为18至30bp，并且所述互补区1包含FXI基因mRNA序列中：

418至437位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

1141至1160位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸；

363至382位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

372至391位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

411至430位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

421至440位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

422至441位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

425至444位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

465至484位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

470至489位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

471至490位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、

518至537位的核苷酸或其中的连续18或19个核苷酸、或

其中FXI基因mRNA序列中核苷酸的位点编号为参比序列SEQ ID NO：244中对应核苷酸的编号。

[权利要求 2] 根据权利要求1的核酸分子，其中所述互补区1的碱基对数量为20、21、22或23bp。

[权利要求 3] 根据权利要求1或2的核酸分子，其中所述互补区2的碱基对数量为21bp。

[权利要求 4] 根据权利要求1至3中任一项所述的核酸分子，其中所述互补区1与互补区2具有20或21个相同的碱基对。

[权利要求 5] 根据权利要求1至4任一项所述的核酸分子，其中所述正义序列长度为21nt，所述反义序列长度为23nt。

[权利要求 6] 根据权利要求1至5中任一项所述的核酸分子，其中所述正义序列和/或反义序列在所述互补区2之外还包含1至2个突出端核苷酸。

[权利要求 7] 根据权利要求6所述的核酸分子，其中所述突出端核苷酸为2个且位于反义序列中，与所述互补区2的5’末端相邻，所述正义序列不包含突出端核苷酸。

[权利要求 8] 根据权利要求1至7中任一项所述的核酸分子，其中反义序列在互补区1以外的区域仅包含0、1或2个核苷酸，正义序列在互补区2以外仅包含0、1或2个核苷酸。

[权利要求 9] 根据权利要求1至8中任一项所述的核酸分子，其中互补区2的3’末端为AU碱基对。

[权利要求 10] 根据权利要求1至9中任一项所述的核酸分子，其中所述FXI基因为人FXI基因或食蟹猴FXI基因。

[权利要求 11] 根据权利要求10的核酸分子，其中所述mRNA包含如SEQ ID NO：244所示的多核苷酸序列。

[权利要求 12] 根据权利要求1至11中任一项所述的核酸分子，其中所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：153、177、152、122、123、126、129、130、131、136、137、138、143、149、150、200、201或213所示的多核苷酸序列。

[权利要求 13] 根据权利要求1至12中任一项所述的核酸分子，其中：

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：34所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：153所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：58所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：177所示的多核苷酸序列；所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：33所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：152所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：3所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：122所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：4所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：123所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：7所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：126所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：10所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：129所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：11所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：130所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：12所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：131所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：17所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：136所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：18所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：137所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：19所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：138所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：24所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：143所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：30所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：149所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：31所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：150所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：81所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：200所示的多核苷酸序列；

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：82所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：201所示的多核苷酸序列；或

所述正义序列包含或为如SEQ ID NO：94所示的多核苷酸序列，且所述反义序列包含或为如SEQ ID NO：213所示的多核苷酸序列。

[权利要求 14] 根据权利要求1至13中任一项所述的核酸分子，其为dsRNA或shRNA。

[权利要求 15] 根据权利要求14的核酸分子，其为siRNA。

[权利要求 16] 根据权利要求1至15中任一项所述的核酸分子，其中一个或多个核苷酸经过化学修饰。

[权利要求 17] 根据权利要求1至16中任一项所述的核酸分子，其中所述化学修饰选自如下的任一种或多种：

锁核酸修饰、开环或非锁核酸修饰、2′-甲氧基乙基修饰、2′-O-甲基修饰、2′-O-烯丙基修饰、2’-C-烷基修饰、2′-C-烯丙基修饰、2′-氟代修饰、2′-脱氧修饰、硫代磷酸酯键修饰、2’-氨基-修饰、吗啉基修饰、氨基磷酸酯修饰、甲基膦酸酯修饰、四氢吡喃修饰、1,5-脱水己糖醇修饰、5’-乙烯基磷酸酯修饰、以及环己烯基修饰；

优选地，所述核酸分子正义链的7、9-12位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰，进一步优选地，其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰；

优选地，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰和/或反义链2、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰；进一步优选地，其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰；

优选地，所述核酸分子正义链的7、9-11位核苷酸包含2′-氟代修饰，反义链2、6、14、16位核苷酸包含2′-氟代修饰；进一步优选地，其余核苷酸包含2′-O-甲基修饰；

优选地，所述核酸分子包含选自如下任一种基序：

(1)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm，

(2)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm，和

(3)正义序列：NmNmNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmNfNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmNmNm，

其中，Nm表示经2’-O-甲基修饰的核糖核苷酸，Nf表示经2’-氟代修饰的核糖核苷酸；

进一步优选地，在正义序列5’的第一个和第二核苷酸之间，以及第二个和第三个核苷酸之间，倒数第一个和第二个之间，以及倒数第二个和第三个之间包括至少一个硫代磷酸酯修饰；在反义序列5’的第一个和第二核苷酸之间，第二个和第三个核苷酸之间，倒数第一个和第二个之间，以及倒数第二个和第三个之间包括至少一个硫代磷酸酯修饰。

[权利要求 18] 根据权利要求17所述的核酸分子，其中所述核酸分子包含选自如下任一种基序：

(1)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(2)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(3)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(4)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(5)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；和

(6)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmsNmsNm，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(7)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(8)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(9)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms，反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

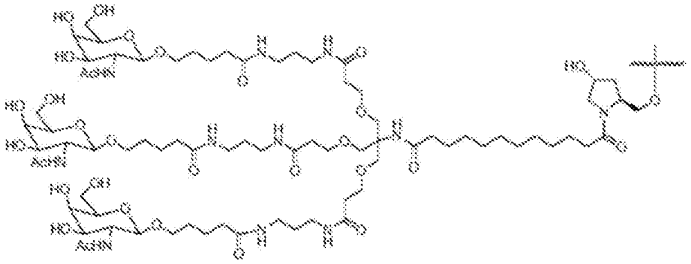
其中，Nm表示经2’-O-甲基修饰的核糖核苷酸，Nf表示经2’-氟代修饰的核糖核苷酸，s表示硫代磷酸酯修饰。

[权利要求 19] 根据权利要求1至18中任一项所述的核酸分子，其连接至少一个去唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)配体。

[权利要求 20] 根据权利要求19的核酸分子，所述ASGPR配体连接于所述正义序列的5’末端或3’末端。

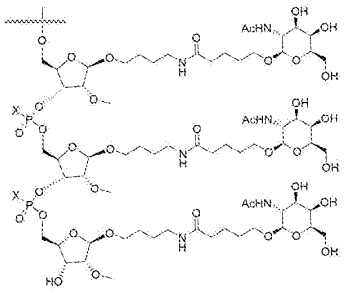
[权利要求 21] 根据权利要求19或20的核酸分子，所述ASGPR配体是通过二价或三价支链结构连接的一个或多个GalNAc衍生物。

[权利要求 22] 根据权利要求21的核酸分子，其中所述GalNac衍生物为L96或配体1，所述L96的结构如下所示：



（式I）；

所述配体1结构如下所示：



（X=S⁻或O⁻）（式II）；

其中式I和式II中的〰分别代表与所述核酸分子的正义序列或反义序列的3’端连接；优选地，通过磷酸二酯键或硫代磷酸二酯键与3’羟基连接；

进一步优选地，所述核酸分子具有如下任一的修饰基序：

(1)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(2)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms−配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(3)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(4)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms−配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(5)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNm−L96；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

(6)正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；反义序列：NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[权利要求 23] 根据权利要求1-22的核酸分子，所述核酸分子包含在反义链5’端的磷酸酯或磷酸酯模拟物修饰；优选地，所述5’磷酸酯模拟物为5’-VP修饰；

进一步优选地，所述核酸分子具有如下任一的修饰基序：

GN-E20VP：

正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；

反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

GN-E04VP：

正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；

反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNfNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm；

GN-E05VP：

正义序列：NmsNmsNmNmNmNmNfNmNfNfNfNmNmNmNmNmNmNmNmNms-配体1；

反义序列：vp-NmsNfsNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNmNfNmNfNmNmNmNmNmsNmsNm。

[权利要求 24] 第二核酸分子，其在细胞中可转录为dsRNA或shRNA前体，所述dsRNA或shRNA为根据权利要求1-23任一项的核酸分子。

[权利要求 25] 病毒颗粒，其包含根据权利要求24的第二核酸分子的多核苷酸序列。

[权利要求 26] 细胞，其包含根据权利要求24的第二核酸分子的多核苷酸序列。

[权利要求 27] 将根据权利要求1至23中任一项所述的核酸分子或其盐用于抑制因子11的表达的用途。

[权利要求 28] 将根据权利要求1至23中任一项所述的核酸分子或其盐用于制备抑制受试者体内FXI表达的药物的用途。

[权利要求 29] 药物组合物，所述组合物包含权利要求1至23中任一项所述的核酸分子或其盐、根据权利要求24的第二核酸分子、根据权利要求25的的病毒颗粒、或根据权利要求26的细胞。

[权利要求 30] 将根据权利要求1至23中任一项所述的核酸分子或其盐、根据权利要求24的第二核酸分子、根据权利要求25的的病毒颗粒、或根据权利要求26的细胞或根据权利要求29所述的药物组合物用于制备预防或治疗受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱的药物的用途，所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种。

[权利要求 31] 治疗或预防受试者的血栓栓塞性并发症或凝血紊乱的方法，其中所述血栓栓塞性并发症优选自深静脉血栓形成、肺栓塞、心肌梗塞和中风中的一种或多种，所述方法包含向有需要的受试者施用有效量的根据权利要求1至23中任一项所述的核酸分子或其盐、根据权利要求24的第二核酸分子、根据权利要求25的病毒颗粒、根据权利要求26的细胞或根据权利要求29所述的药物组合物。