(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119317632 A
(43)申请公布日 2025.01.14

(21)申请号 202380044985.5

(22)申请日 2023.04.14

(30)优先权数据
63/331,756 2022.04.15 US
63/397,320 2022.08.11 US
63/411,062 2022.09.28 US
63/454,299 2023.03.23 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.12.04

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2023/018742 2023.04.14

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/201095 EN 2023.10.19

(71)申请人 波涛生命科学有限公司
地址 新加坡

(72)发明人 陆根良 普拉桑特·莫尼安
奇克杜·沙克蒂·希瓦利拉
杰克·大卫·戈弗雷
伊安·钱德勒·哈丁
帕洛马·霍本·詹格兰德
汤姆·连堂·朴
纳扬塔拉·科塔里
苏布拉马尼安·马拉潘
钱德拉·瓦尔格赛
帕查穆图·坎德萨米 于辉
贾亚坎森·库马拉萨米 岩本直树
斯特凡尼·米歇尔·斯坦德利
清水护 蒂莫西·查尔斯·瑞安
吉加·德塞 安东尼·拉马蒂纳
米林达·阿米拉·库马拉·萨马拉维拉
刘玮 布雷特·施兰德

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227
专利代理师 张福誉 何欣

(51)Int.Cl.
C07H 21/02(2006.01)
A61K 31/712(2006.01)

权利要求书12页 说明书772页 附图37页

(54)发明名称

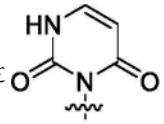
寡核苷酸组合物及其相关方法

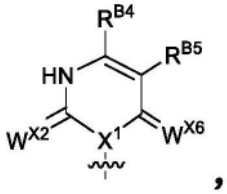
(57)摘要

本披露的特征在于有用的寡核苷酸组合物和与其相关的方法。本披露涵盖以下认识,即寡核苷酸的结构元件,诸如碱基序列、化学修饰(例如,糖、碱基和/或核苷酸间键联的修饰)或其模式,可以对寡核苷酸特性和活性具有显著影响。本披露还提供了治疗障碍的方法,针对该障碍,mRNA中腺苷的脱氨例如在有需要的受试者中产生治疗性结果。

CN 119317632 A

1.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地是核苷;并且其中:

(a)N_0的核碱基是BA,其中BA是,或者BA包含环BA或其互变异构体,其中环BA具有式BA-III-e的结构:



BA-III-e

其中:

X^1是-N(-)-或-C(-)=;

W^{X2}和W^{X6}中的每个独立地是O、S或Se;

R^{B4}是卤素、-CN、-NO_2或-L^{B4}-R^{B41},其中R^{B41}是R';

R^{B5}是卤素、-CN、-NO_2或-L^{B5}-R^{B51},其中R^{B51}是-R'、-N(R')$_2$、-OR'或-SR',

L^{B4}和L^{B5}中的每个独立地是L^B;

每个L^B独立地是共价键,或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-或-C(O)O-代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)N(R)$_2$或-SO_2R;并且

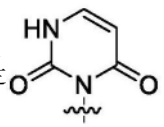
每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

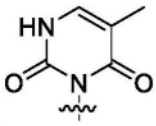
两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

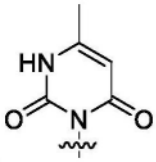
同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

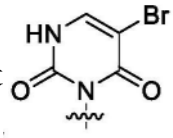
两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;并且

(b)N_0的糖包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

2.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是。

3.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是。

4.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是。

5.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是。

6.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中R^{B4}不是-H。

7.如权利要求2所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-OMe修饰的糖。

8.如权利要求2所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-MOE修饰的糖。

9.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个2'-F修饰的糖。

10.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰,其中当该寡核苷酸与该靶核酸比对时,N_0与该靶腺苷相反。

11.如权利要求10所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷是G至A突变。

12.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约10-200个(例如,约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200,10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。

13.如权利要求12所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与包含该靶腺苷的靶核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

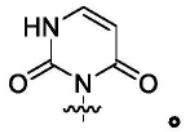
14.如权利要求13所述的寡核苷酸,其中该互补性为约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。

15.如权利要求13-14中任一项所述的寡核苷酸,其中除了在与靶腺苷相反的核苷处,该互补性为100%。

16.如上述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是BA,其中BA包含环BA

或其互变异构体,其中环BA具有式BA-III-e的结构。

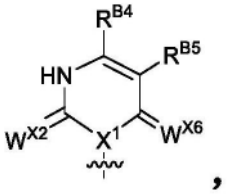
17.如上述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是BA,其中BA是



。

18.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度的第一结构域,和具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度的第二结构域。

19.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地是核苷,其中N_0的核碱基是BA,其中BA包含环BA或其互变异构体,其中环BA具有式BA-III-e的结构:



,

BA-III-e

其中:

X^1是-N(-)-或-C(-)=;

W^{X2}和W^{X6}中的每个独立地是O、S或Se;

R^{B4}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B4}-R^{B41}$,其中R^{B41}是R';

R^{B5}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是-R'、$-N(R')_2$、-OR'或-SR',

L^{B4}和L^{B5}中的每个独立地是L^B;

每个L^B独立地是共价键,或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、-C(O)S-或-C(O)O-代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、$-C(O)N(R)_2$或$-SO_2R$;并且

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

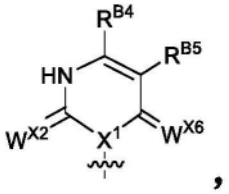
两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合

在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

20.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含核苷N_0,其中N_0的核碱基是BA,其中BA包含环BA或其互变异构体,其中环BA具有式BA-III-e的结构:



BA-III-e

其中:

X^1是-N(-)-或-C(-)=;

W^{X2}和W^{X6}中的每个独立地是O、S或Se;

R^{B4}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B4}-R^{B41}$,其中R^{B41}是R';

R^{B5}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是-R'、$-N(R')_2$、-OR'或-SR',

L^{B4}和L^{B5}中的每个独立地是L^B;

每个L^B独立地是共价键,或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、-C(O)S-或-C(O)O-代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、$-C(O)N(R)_2$或$-SO_2R$;并且

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

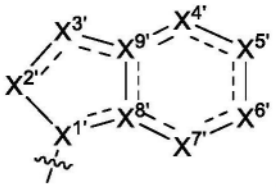
两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

21.如权利要求20所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_0与靶腺苷相反。

22.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地是核苷;并且其中N_0的核碱基是BA,其中BA包含环BA或其互变异构体,其中环BA具有式BA-VI的结构:



BA-VI

其中：

每个┅独立地是单键或双键；

$X^{1'}$是-N(-)-或-C(-)＝；

$X^{2'}$是-C($W^{X2'}$)-、-C($R^{B2'}$)＝、-C($OR^{B2'}$)＝、-N＝或任选地经取代的-CH＝或-CH_2-，其中$R^{B2'}$是卤素、-CN、-NO_2或-$L^{B2'}$-R'，并且$W^{X2'}$是O、S或Se；

$X^{3'}$是-N($R^{B3'}$)-、-N＝、-C($R^{B3'}$)＝或任选地经取代的-NH-或-CH＝，其中$R^{B3'}$是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B3'}$-R'；

$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)＝，-C($OR^{B4'}$)＝，-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)＝，-C($R^{B4'}$)$_2$-，-C($W^{X4'}$)-，-C(＝N$R^{B4'}$)-，-N($R^{B4'}$)-，-N＝或任选地经取代的-CH＝、-NH-或-CH_2-，其中每个$R^{B4'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$，或同一个原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成＝O、＝C(-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$)$_2$、＝N-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$、或任选地经取代的＝CH_2或＝NH，其中每个$R^{B41'}$独立地是-R'，并且$W^{X4'}$是O、S或Se；

$X^{5'}$是-C($R^{B5'}$)$_2$-，-N($R^{B5'}$)-，-C($R^{B5'}$)＝，-C($W^{X5'}$)-，-N＝或任选地经取代的-NH-、-CH_2-、或-CH＝，其中每个$R^{B5'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B5'}$-$R^{B51'}$，其中$R^{B51'}$是-R'、-N(R')$_2$、-OR'、或-SR'，并且$W^{X5'}$是O、S、或Se；

$X^{6'}$是-C($R^{B6'}$)＝，-C($OR^{B6'}$)＝，-C($R^{B6'}$)$_2$-，-C($W^{X6'}$)-，-C(-N($R^{B6'}$)$_2$)＝，-N＝或任选地经取代的-NH-、-CH_2-或-CH＝，其中每个$R^{B6'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$，或同一个原子上的两个$R^{B6'}$合在一起形成＝O、＝C(-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$)$_2$、＝N-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$、或任选地经取代的＝CH_2或＝NH，其中每个$R^{B61'}$独立地是R'，并且$W^{X6'}$是O、S或Se；

$X^{7'}$是-C($R^{B7'}$)＝，-C($OR^{B7'}$)＝，-C($R^{B7'}$)$_2$-，-C($W^{X7'}$)-，

-C(-N($R^{B7'}$)$_2$)＝，-N($R^{B7'}$)-，-N＝或任选地经取代的-NH-、-CH_2-或

-CH＝，其中每个$R^{B7'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$，或同一个原子上的两个$R^{B7'}$合在一起形成＝O、＝C(-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$)$_2$、＝N-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$、或任选地经取代的＝CH_2或＝NH，其中每个$R^{B71'}$独立地是R'，并且其中$W^{X7'}$是O、S或Se；

$X^{8'}$和$X^{9'}$中的每个独立地是C或N；

$L^{B2'}$、$L^{B3'}$、$L^{B4'}$、$L^{B5'}$、$L^{B6'}$和$L^{B7'}$中的每个独立地是L^{B}；并且

每个L^{B}独立地是共价键，或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链，其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-或-C(O)O-代替；

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环；

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)N(R)$_2$或-SO_2R；并且

每个R独立地是-H，或选自以下的任选地经取代的基团：C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪

族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

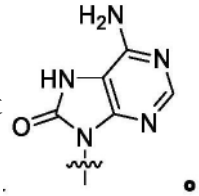
同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

23.如权利要求22所述的寡核苷酸,其中$X^{1'}$是-N(-)-。

24.如权利要求23所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C(O)-。

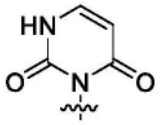
25.如权利要求24所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-NH-。

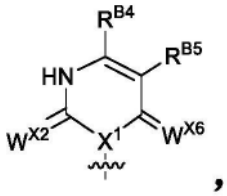
26.如权利要求22所述的寡核苷酸,其中$X^{1'}$是 。

27.如权利要求26所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-OMe修饰的糖。

28.如权利要求26所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-MOE修饰的糖。

29.如权利要求22所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_0与靶腺苷相反。

30.如权利要求22-29中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是BA,其中BA是  或者BA包含环BA或其互变异构体,其中环BA具有式BA-III-e的结构:



BA-III-e

其中:

X^1是-N(-)-或-C(-)=;

W^{X2}和W^{X6}中的每个独立地是O、S或Se;

R^{B4}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B4}-R^{B41}$,其中R^{B41}是R';

R^{B5}是卤素、-CN、$-NO_2$或$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是-R'、$-N(R')_2$、-OR'或-SR',

L^{B4}和L^{B5}中的每个独立地是L^B;

每个L^B独立地是共价键,或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、-C(O)S-或-C(O)O-代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)N(R)$_2$或-SO$_2$R;并且

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

31.如权利要求1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度的第一结构域,和具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度的第二结构域。

32.如权利要求1-31中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的糖,或者其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-F修饰。

33.如权利要求32所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-OMe修饰的糖,或者其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-OMe修饰。

34.如权利要求33所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9

或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-MOE修饰的糖。

35.如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-MOE修饰。

36.如权利要求33所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分离嵌段,其中每个2'-F嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,并且其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是糖而不是2'-F修饰的糖。

37.如权利要求36所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在2个或更多个2'-F嵌段。

38.如权利要求37所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在2个或更多个分离嵌段。

39.如权利要求38所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

40.如权利要求38所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

41.如权利要求38所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

42.如权利要求39所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。

43.如权利要求39所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧存在5个或更多个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个)核苷,并且在N_0的3'侧存在5个或更多个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个)核苷。

44.如权利要求39所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}和N_{-2}中的每个独立地是核苷,并且其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_0与靶腺苷相反。

45.如权利要求44所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

46.如权利要求45所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

47.如权利要求46所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修

饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

48.如权利要求47所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是G。

49.如权利要求47所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。

50.如权利要求44所述的寡核苷酸,其中N_2与N_1之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联、PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)或PN核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)。

51.如权利要求44所述的寡核苷酸,其中N_1与N_0之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联、PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)或PN核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)。

52.如权利要求44所述的寡核苷酸,其中N_0与N_{-1}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联、PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)或PN核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)。

53.如权利要求44所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联、PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)或PN核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)。

54.如权利要求39所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}$-3',其中$N_{-3}$独立地是核苷,并且$N_{-2}$与$N_{-3}$之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联、PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)或PN核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)。

55.如权利要求54所述的寡核苷酸,其中N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联或PS核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)。

56.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自PO键联、PN键联和PS键联。

57.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个PN键联。

58.如权利要求57所述的寡核苷酸,其中每个PN核苷酸间键联独立地是n001。

59.一种寡核苷酸,其中除了在经修饰的核苷酸间键联的位置处是具有-O^5-P^L(R^{CA})-O^3-的结构的键联之外,该寡核苷酸在其他方面与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸相同,其中:

P^L是P或P(=W);

W是O、S或W^N;

R^{CA}是或包含任选地经取代的或封端的手性助剂部分,

O^5是键合到糖的5'-碳的氧,并且

O^3是键合到糖的3'-碳的氧。

60.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。

61.一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是前述权利要求中任一项的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

62.一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是或包含环BA或环BA的互变异构体,其中

环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

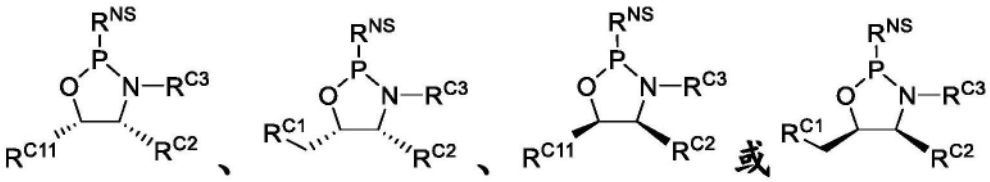
63.如权利要求61-62中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的糖是权利要求1-60中任一项的糖,其中该糖是任选地被保护的。

64.如权利要求61-62中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OR)N(R)$_2$的结构,其中R^{NS}是任选地被保护的核苷部分,并且每个R如本文所述。

65.如权利要求61-62中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)$_2$的结构。

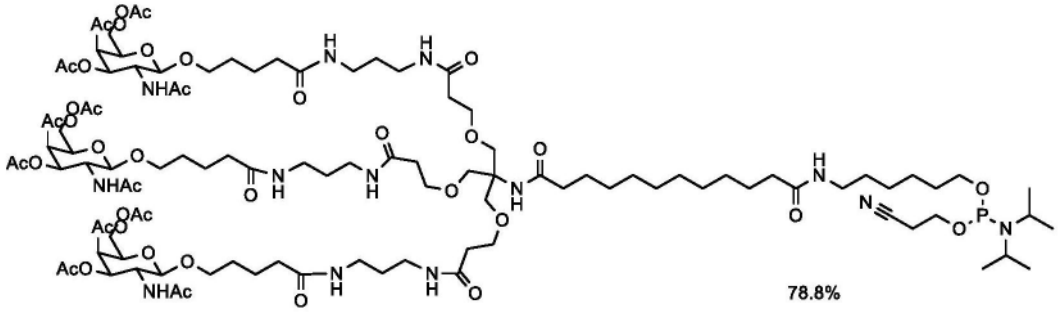
66.如权利要求61-64中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中磷键合到该手性助剂部分的氧和氮原子。

67.如权利要求61-64中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有



或其盐的结构。

68.一种亚磷酰胺,该亚磷酰胺具有



的结构。

69.一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的-OH基团与如权利要求61-68中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

70.一种药物组合物,该药物组合物包含或递送有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂。

71.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

72.如权利要求71所述的寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸中的每个独立地呈药学上可接受的盐形式。

73.如权利要求71-72中任一项所述的寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸是相同的。

74.如权利要求71-73中任一项所述的寡核苷酸,其中在该组合物中共享该多个寡核苷酸的共同构成的寡核苷酸中,该多个寡核苷酸的百分比为约或至少约$(DS)^{nc}$,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

75.如权利要求71-74中任一项所述的寡核苷酸,其中该组合物是药物组合物并且包含药学上可接受的载剂。

76.一种方法,该方法包括:

评估细胞、组织或动物中的药剂或其组合物,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官,和/或包含与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列;和

向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的用于预防或治疗该病症、障碍或疾病的药剂或组合物。

77.一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括:

将该寡核苷酸或组合物施用于包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的细胞或其群体。

78.一种用于修饰靶核酸中的靶腺苷的方法,该方法包括使该靶核酸与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触;或者

一种用于使靶核酸中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括使该靶核酸与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触;或者

一种用于产生特定核酸的产物、或者恢复或增加特定核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该靶核酸包含靶腺苷,并且该特定核酸与该靶核酸的不同之处在于该特定核酸具有I或G而不是该靶腺苷;或者

一种用于降低靶核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该靶核酸包含靶腺苷;或者

一种用于调节系统中的蛋白质-蛋白质相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括使该编码RNA与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该经编辑的mRNA(“经编辑的蛋白质”)翻译,其中该经编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质的不同之处在于涉及该蛋白质-蛋白质相互作用的氨基酸残基;或者

一种用于调节系统中蛋白质与药剂的相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括使该编码RNA与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该经编辑的mRNA(“经编辑的蛋白质”)翻译,其中该经编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质的不同之处在于涉及该蛋白质-药剂相互作用的氨基酸残基;或者

一种用于调节系统中蛋白质与药剂的相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括向该系统施用如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该经编辑的mRNA(“经编辑的蛋白质”)翻译,其中该经编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质的不同之处在于涉及该蛋白质-药剂相互作用的氨基酸残

基;或者

一种用于调节系统中蛋白质与其伙伴蛋白之间的相互作用的方法,该方法包括向该系统施用如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该寡核苷酸或组合物能够编辑编码该蛋白质或其伙伴蛋白的核酸中的腺苷,并且经编辑的核酸编码与由未编辑的核酸编码的蛋白质不同的蛋白质,该不同之处在于涉及该蛋白质与其伙伴蛋白之间的相互作用的至少一个氨基酸残基;或者

一种用于调节系统中核酸和/或由其编码的产物的水平、结构和/或活性的方法,该方法包括使该核酸与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该核酸中的腺苷被编辑;或者

一种用于调节系统中核酸和/或由其编码的产物的水平、结构和/或活性的方法,该方法包括向该系统施用如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该核酸中的腺苷被编辑;或者

一种用于编辑免疫细胞中的转录物的方法,该方法包括向免疫细胞施用有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物;或者

一种用于向系统递送寡核苷酸的方法,该方法包括向该系统施用该寡核苷酸与另外的化学部分或其盐的缀合物;

一种用于提高寡核苷酸的编辑水平的方法,该方法包括掺入如前述权利要求中任一项或本披露所述的结构元件;或者

一种本披露中所述的化合物、寡核苷酸、组合物、核碱基、糖、核苷、核苷酸间键联或方法。

79.一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

80.如权利要求79所述的方法,其中病症、障碍或疾病与G至A突变相关联。

81.如权利要求81所述的方法,其中病症、障碍或疾病是肝脏病症、障碍或疾病。

82.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于改变mRNA剪接的用途,其中mRNA的靶腺苷被编辑;或者

如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于使蛋白质表达沉默的用途,其中编码该蛋白质的mRNA的靶腺苷被编辑;或者

如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于修复无义突变的用途,其中RNA的靶腺苷被编辑,使得该无义突变被修复;

如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于修复错义突变的用途,其中RNA的靶腺苷被编辑,使得该错义突变被修复;或者

如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑密码子中的靶腺苷的用途;或者

如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑上游ORF中的靶腺苷的用途。

83.一种说明书或示例实施例1-2597中任一项中所述的寡核苷酸、组合物、亚磷酰胺、化合物、药剂、方法或用途。

寡核苷酸组合物及其相关方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求2022年4月15日提交的美国临时申请号63/331,756、2022年8月11日提交的美国临时申请号63/397,320、2022年9月28日提交的美国临时申请号63/411,062、以及2023年3月23日提交的美国临时申请号63/454,299的优先权,其各自的全部内容通过援引并入本文。

背景技术

[0002] 寡核苷酸可用于多种应用,例如治疗、诊断和/或研究应用。例如,靶向多种基因的寡核苷酸可以用于治疗与这样的靶基因有关的病症、障碍或疾病。

发明内容

[0003] 尤其是,本披露提供了经设计的寡核苷酸及其组合物,这些寡核苷酸包含如本文所述的修饰(例如,对核碱基糖和/或核苷酸间键联的修饰,及其模式)。在一些实施例中,本披露的技术(化合物(例如,寡核苷酸)、组合物、方法等)(例如,寡核苷酸、寡核苷酸组合物、方法等)特别可用于编辑核酸,例如核酸中的定点编辑(例如,靶腺苷的编辑)。在一些实施例中,如本文所展示的,所提供的技术可以显著改善核酸编辑的效率,例如对一个或多个A残基的修饰,诸如将A转化成I。在一些实施例中,本披露提供了用于RNA中的编辑(例如,用于修饰A残基,例如将A转化成I)的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于转录物(例如,mRNA)中的编辑(例如,用于修饰A残基,例如将A转化成I)的技术。尤其是,所提供的技术提供了利用内源性蛋白如ADAR(作用于RNA的腺苷脱氨酶)蛋白(例如,ADAR1和/或ADAR2)来编辑核酸,例如修饰A(例如,作为G至A突变的结果)的益处。本领域技术人员将认识到,与需要递送外源性组分(例如,蛋白(例如,经工程化以结合寡核苷酸(和/或其与靶核酸的双链体)以提供所需活性的那些蛋白)、编码蛋白的核酸、病毒等)的那些技术相比,内源性蛋白的这样的利用可以避免许多挑战和/或提供多种益处。

[0004] 特别地,在一些实施例中,所提供的技术的寡核苷酸包含有用的糖修饰和/或其模式(例如,某些修饰的存在和/或不存在)、核碱基修饰和/或其模式(例如,某些修饰的存在和/或不存在)、核苷酸间键联修饰和/或立体化学和/或其模式[例如,手性键联磷的类型、修饰和/或构型(Rp或Sp)等]等,其当与本文所述的一种或多种其他结构元件(例如,另外的化学部分)组合时可以提供高活性和/或多种所需的特性,例如,高核酸编辑效率、高选择性、高稳定性、高细胞摄取、低免疫刺激、低毒性、改善的分布、改善的亲和力等。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸提供高稳定性,例如,当与具有用于腺苷编辑的高百分比的天然RNA糖的寡核苷酸相比时。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸提供高活性,例如腺苷编辑活性。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸提供高选择性,例如,在一些实施例中,所提供的寡核苷酸提供靶核酸中的靶腺苷相对于相同靶核酸中的其他腺苷的选择性修饰(例如,靶腺苷处的修饰是靶核酸中的另一腺苷或所有其他腺苷处的修饰的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20倍或更多倍)。

[0005] 尤其是,本披露提供了与参考寡核苷酸和组合物(例如,本文所述的或本领域报道的那些)相比具有改善的特性和/或活性的经设计的寡核苷酸和组合物。例如,在一些实施例中,如本文所展示的,所提供的寡核苷酸和组合物可以提供改善的稳定性、药代动力学特性、药效学特性和/或改善的活性(例如,用于A至I编辑)。本文描述了各种经设计的寡核苷酸和组合物。例如,在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸及其组合物,包括其手性控制的寡核苷酸组合物,其中这些寡核苷酸包含几个(例如,1、2、3、4、或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷,这些核苷在其5'-末端和3'-末端独立地包含糖修饰(例如,2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基(例如,2'-OMe、2'-MOE等),双环糖(例如,LNA糖、cEt糖等))。在一些实施例中,前几个(例如,1、2、3、4、或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷和/或最后几个(例如,1、2、3、4、或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷独立地包含糖修饰。在一些实施例中,前3个或更多个和后3个或更多个核苷独立地包含糖修饰。在一些实施例中,与这样的核苷键合的一个或多个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,诸如磷酰基胍核苷酸间键联,像n001。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是n001。在一些实施例中,它们均是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,寡核苷酸包含核苷N_0,该核苷N_0包含天然DNA糖(两个2'-H)、天然RNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,当寡核苷酸用于腺苷编辑时,N_0是与靶腺苷相反的核苷。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖(数字之前"+"或没有东西指示朝5'-方向计数(5'...$N_1N_0N_{-1}$...3'))是2'-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是DNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖("-"指示朝3'-方向计数(5'...$N_1N_0N_{-1}$...3'))是2'-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是DNA糖。在一些实施例中,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸在N_2与其5'-末端之间包含多个2'-F修饰的糖和多个2'-修饰的糖(例如,2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基,双环糖诸如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,寡核苷酸从N_2至其5'-末端(例如,当第二结构域的第一子结构域以N_2终止并包括N_2时,第一结构域和第一子结构域组合)包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)分离嵌段,其中2'-F嵌段中的每个核苷独立地包含2'-F修饰,分离嵌段中的每个核苷独立地不包含2'-F修饰,并且每个嵌段独立地包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)核苷。在一些实施例中,存在两个或更多个这样的2'-F嵌段和两个或更多个这样的分离嵌段。在一些实施例中,一个或多个或所有这样的分离嵌段独立地与两个2'-F嵌段键合。在一些实施例中,一个或多个或所有分离嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基或是双环糖,诸如LNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,一个或多个或所有分离嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,一个或多个或所有分离嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OMe或2'-MOE修饰。在一些实施例中,这样的2'-F和分离嵌段中的每一个独立地包含1、2、3、4或5个核苷。在一些实施例中,接近N_0的核苷,

例如N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等,不含大的2'-修饰,诸如2'-MOE。在一些实施例中,N_2、N_1、N_0、N_{-1}和N_{-2}的糖独立地是天然DNA糖、2'-F修饰的糖或2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_1、N_0、N_{-1}的糖各自是天然DNA糖。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。

[0006] 在一些实施例中,本披露提供了包含第一结构域和第二结构域的寡核苷酸,其中第一结构域包含一个或多个2′-F修饰,并且第二结构域包含一个或多个不具有2′-F修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个手性修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(a)第一结构域;和

(b)第二结构域,

其中第一结构域包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个包含2'-F修饰的糖和1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个各自独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2,-MOE、2'-O-L^B-4',其中L^B是任选地经取代的-CH_2-等);并且

第二结构域包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个各自独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2,-MOE、2'-O-L^B-4',其中L^B是任选地经取代的-CH_2-等)。

[0007] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(a)第一结构域;和

(b)第二结构域,

其中第一结构域的所有糖的约20%-80%(例如,约25%-80%、30%-80%、35%-80%、40%-80%、40%-70%、40%-60%、50%-80%、50%-75%、50%-60%、55%-80%、60%-80%、或约50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%)包含2'-F修饰,并且第一结构域的所有糖的约20%-70%(例如,约20%-60%、20%-50%、30%-60%、30%-50%、40%-50%、或约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%)独立地包含2'-OR修饰,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2,-MOE、2"-O-L^B-4',其中L^B是任选地经取代的-CH_2-等);并且

第二结构域包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个不含2′-F修饰的经修饰的糖,或第二结构域的所有糖的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%不含2′-F修饰。

[0008] 在一些实施例中,第二结构域包含如本文所述的第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10、1-5、1-3、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)各自独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2,-MOE、2'-O-LB-4',其中L^B是任选地经取代的-CH_2-等)。在一些实施例中,在第一子结构域中存在比2'-F修饰的糖更多的这样的糖。在一些实施例中,第二子结构域中的糖均不含任何2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖、天然RNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,在第二子结构域中存在三个核苷。在一些实施例中,当与靶标结合时,三个核苷中的第二核苷与靶腺苷相反。在一些实施例中,第

二核苷的糖不含如本文所述的任何2'-OR修饰(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,这样的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,1-10、1-5、1-3、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)各自独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2,-MOE、2'-O-LB-4',其中L^B是任选地经取代的-CH_2-等)。在一些实施例中,在第三子结构域中存在比2'-F修饰的糖更多的这样的糖。

[0009] 在一些实施例中,第二结构域包含至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个或更多个独立地包含2′-OR修饰的经修饰的糖,或第二结构域的所有糖的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是-$CH_2CH_2OCH_3$。如本文所述,根据本披露还可以利用其他糖修饰,任选地具有本文所述的碱基修饰和/或核苷酸间键联修饰。

[0010] 在一些实施例中,寡核苷酸包含或具有5'-第一结构域-第二结构域-3'结构。在一些实施例中,第二结构域包含或具有5'-第一子结构域-第二子结构域-第三子结构域-3'结构。在一些实施例中,寡核苷酸包含或具有5'-第一结构域-第一子结构域-第二子结构域-第三子结构域-3'结构。在一些实施例中,寡核苷酸缀合至另外的部分,例如如本文所述的各种另外的化学部分。在一些实施例中,寡核苷酸包含另外的部分,例如如本文所述的另外的部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含小分子部分、碳水化合物部分(例如,GalNAc部分)、核酸部分(例如,寡核苷酸部分、可以提供和/或调节一种或多种特性和/或活性等的核酸部分(例如,RNA酶H依赖性寡核苷酸、RNAi寡核苷酸、适体、gRNA等的部分))和/或肽部分。

[0011] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的碱基序列与包含靶腺苷的靶核酸的碱基序列基本上互补。在一些实施例中,当与靶核酸比对时,所提供的寡核苷酸包含一个或多个错配(非沃森-克里克碱基对)。在一些实施例中,当与靶核酸比对时,所提供的寡核苷酸包含一个或多个摆动(wobble)(例如,G-U、I-A、G-A、I-U、1-C等)。在一些实施例中,错配和/或摆动可帮助一种或多种蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)识别由所提供的寡核苷酸和靶核酸形成的双链体。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸与靶核酸形成双链体。在一些实施例中,ADAR蛋白识别并结合这样的双链体。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷位于所提供的寡核苷酸的中间,例如5′侧有5-50个核苷,而在其3′侧有1-50个核苷。在一些实施例中,5′侧具有比3′侧更多的核苷。在一些实施例中,5′侧具有比3′侧更少的核苷。在一些实施例中,5′侧具有与3′侧相同数目的核苷。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含表中所描述的寡核苷酸的15-40个(例如,15、20、25、30个等)连续碱基。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的碱基序列是或包含表中所描述的寡核苷酸的碱基序列。

[0012] 在一些实施例中,利用多种结构元件(例如,多种修饰、立体化学和其模式),本披露可用短寡核苷酸(例如,长度为约20-40、25-40、25-35、26-32、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35个核碱基的那些寡核苷酸)实现所需的特性和高活性。

[0013] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含经修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基促进对靶腺苷的修饰。在一些实施例中,与存在U时相比,与靶腺嘌呤相反的核碱基保持与酶例如ADAR的相互作用,而与靶腺嘌呤的相互作用不如与U强烈(例如,形成较

少的氢键)。在一些实施例中,相反的核碱基和/或其相关联的糖提供了一定的灵活性(例如,当与U相比时),以促进通过酶(例如,ADAR1、ADAR2等)对靶腺苷进行修饰。在一些实施例中,紧邻相反核碱基(靶腺嘌呤)的5’或3’的核碱基,例如I及其衍生物,增强了靶腺嘌呤的修饰。尤其是,本披露认识到,当所提供的寡核苷酸及其靶核酸的双链体与修饰酶(例如,ADAR1或ADAR2)相互作用时,这样的核碱基可导致比G更小的空间位阻。在一些实施例中,选择(例如,当几个腺苷残基是合适的靶标时)和/或设计(例如,通过利用本文所述的多种核碱基)寡核苷酸的碱基序列,使得可以减小或消除空间位阻(例如,没有G与靶A的相反核苷相邻)。

[0014] 根据本披露,多种核苷酸间键联可用于寡核苷酸中。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含两种或更多种类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少三种类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,键联含有与氧原子键合的键联磷原子,该氧原子不与骨架糖键合或者不是骨架糖的一部分(“PO键联”,例如天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,键联含有与硫原子键合的键联磷原子,该硫原子不与骨架糖键合或者不是骨架糖的一部分(“PS键联”,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,键联含有与氮原子键合的键联磷原子,该氮原子不与骨架糖键合或者不是骨架糖的一部分(“PN键联”,例如,n001)。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PS键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PO键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PS键联和一个或多个PO键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PS键联和一个或多个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PS键联、一个或多个PN键联和一个或多个PO键联。在一些实施例中,PS键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,每个PS键联独立地是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,PO键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个PO键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,PN键联是磷酰基胍键联。在一些实施例中,每个PN键联独立地是磷酰基胍键联。

[0015] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个PO键联、一个或多个PS键联和一个或多个PN键联。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个PO键联、一个或多个PS键联和/或一个或多个PN键联。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个PO键联。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第二子结构域的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第二子结构域的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是PS或PN键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个PO键联、一个或多个PS键联和/或一个或多个PN键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个PO键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个PS键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个PN键联。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个PO键联、一个或多个PS键联和一个或多个PN键联。在一些实施例中,第一结构域或寡核苷酸的第一核苷酸间键联是PN键联。在一些实施例中,第三子结构域或寡核苷酸的最后一个核苷酸间键联是PN键联。在一些实施例中,天然DNA糖与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,天然DNA糖与PN或PS核苷酸间键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结

构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中的每个天然DNA糖独立地与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,每个天然DNA糖独立地与PN或PS核苷酸间键联键合。在一些实施例中,天然RNA糖与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,天然RNA糖与PN或PS核苷酸间键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中的每个天然RNA糖独立地与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,每个天然RNA糖独立地与PN或PS核苷酸间键联键合。

[0016] 在一些实施例中,2'-F修饰的糖与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,2'-F修饰的糖与PN或PS核苷酸间键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中的每个2'-F修饰的糖独立地与经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,每个2'-F修饰的糖独立地与PN或PS核苷酸间键联键合。在一些实施例中,每个PO键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个PS键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PN键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PN键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PN键联独立地是磷酰基胍键联。在一些实施例中,每个PN键联独立地是磷酰基胍键联。在一些实施例中,一个或多个PN键联独立地是n001。在一些实施例中,每个PN键联独立地是n001。

[0017] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸提供经修饰的核苷酸间键联(即,不是天然磷酸酯键联的核苷酸间键联)。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,手性核苷酸间键联)的键联磷是手性的并且可以按不同的构型(Rp和Sp)存在。尤其是,本披露展示,经修饰的核苷酸间键联的掺入,特别是具有对键联磷中心的立体化学的控制(使得与立体随机寡核苷酸制备物相比,在这种控制中心处富集一种构型),可以显著改善特性(例如,稳定性)和/或活性(例如,腺苷修饰活性(例如,将腺苷转化成肌苷))。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有显著高于立体随机制备物的立体化学纯度。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是手性控制的。

[0018] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸包含一个或多个手性核苷酸间键联,其键联磷是手性的(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联,或所有核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%等),或所有核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个均是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸

酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,磷酰基胍核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个磷酰基胍核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n002。在一些实施例中,其是n006。在一些实施例中,其是n020。在一些实施例中,其是n004。在一些实施例中,其是n008。在一些实施例中,其是n025。在一些实施例中,其是n026。本文描述了各种经修饰的核苷酸间键联。键联磷可以是Rp或Sp。在一些实施例中,至少一个键联磷是Rp。在一些实施例中,至少一个键联磷是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%等),或所有手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个硫代磷酸酯核苷酸间键联,或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%等),或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少50%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少60%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少70%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少75%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少80%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少85%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少90%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少95%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少96%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少97%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少98%的所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联均是Sp。在一些实施例中,不超过3、4、5、6、7、8、9、或10个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过3个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过4个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过5个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过6个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过7个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过8个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过9个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过10个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联不用于其中大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或全部糖是天然

DNA和/或RNA和/或2'-F修饰的糖的部分中。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,一个或多个或大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有这样的核苷酸间键联独立地与糖键合,其可以改善稳定性。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,一个或多个或大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有这样的核苷酸间键联独立地与双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)键合。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,一个或多个或大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有这样的核苷酸间键联独立地与2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)键合。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

[0019] 在一些实施例中,在组合物中控制所提供的寡核苷酸的一个或多个手性键联磷的立体化学。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的组合物,其中多个寡核苷酸共享共同碱基序列,并且独立地在一个或多个手性核苷酸间键联("手性控制的核苷酸间键联")(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)处共享相同的键联磷构型(例如,对于手性键联磷,均是Rp或均是Sp)。在一些实施例中,它们在每个手性键联磷处共享相同的立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的构成。在一些实施例中,除核苷酸间键联之外,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,组合物中的所有寡核苷酸、或共享共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%共享该多个寡核苷酸的骨架手性中心模式。在一些实施例中,组合物中的所有寡核苷酸、或共享共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是该多个寡核苷酸。

[0020] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中组合物中所有寡核苷酸、或具有相同寡核苷酸碱基序列的所有寡核苷酸、或具有相同碱基序列以及糖和碱基修饰的所有寡核苷酸、或具有相同构成的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地在寡核苷酸的一个或多个手性核苷酸间键联(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)处共享相同的键联磷构型(例如,对于手性键联磷,均是Rp或均是Sp)。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中组合物中所有寡核苷酸、或具有相同寡核苷酸碱基序列的所有寡核苷酸、或具有相同碱基序列以及糖和碱基修饰的所有寡核苷酸、或具有相同构成的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是一种或多种形式的寡核苷酸(例如,酸形式、盐形式(例如,药学上可接受的盐形式;如本领域技术人员所理解的,在寡核苷酸是盐的情况下,寡核苷酸的相应酸或碱形式的其他盐形式)等)。

[0021] 在一些实施例中,如本文所展示的,手性控制的寡核苷酸组合物与相应的立体随机寡核苷酸组合物相比提供许多优点,例如更高的稳定性、活性等。在一些实施例中,据观察,手性控制的寡核苷酸组合物在采用ADAR蛋白的各种同种型(例如,ADAR1的p150和p110形式)时均提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I)活性,而相应的立体随机组合物仅在采用ADAR蛋白的某些同种型(例如,ADAR1的p150同种型)时才提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I)活性。

[0022] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含另外的部分,例如靶向部分、碳水化合物部分等。在一些实施例中,另外的部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体。在一些实施例中,另外的部分是或包含GalNAc或其衍生物。尤其是,另外的部分可以有利于向某些靶位置,例如细胞、组织、器官等(例如,包含与另外的部分相互作用的受体的位置)的递送。在一些实施例中,另外的部分有利于向肝的递送。

[0023] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物,特别是手性控制的寡核苷酸组合物的技术。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物是高纯度的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸在手性核苷酸间键联的键联磷处是至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%立体化学纯的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸立体选择性地制备并且基本上不含立体异构体。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学(例如,包含Rp和/或Sp中的一者或多者,其中每个手性键联磷独立地是Rp或Sp)模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同构成的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸。

[0024] 在一些实施例中,本披露描述了用于评估寡核苷酸及其组合物的有用技术。例如,本披露的多种技术可用于评估腺苷修饰。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,腺苷的修饰/编辑可以通过测序、质谱法、对经修饰的核酸(例如,其中靶核酸的腺苷被转化成肌苷)的产物(例如,RNA、蛋白等)的评估(例如,水平、活性等)等来评估,任选地考虑修饰系统(例如,体外系统、离体系统、细胞、组织、器官、生物体、受试者等)中存在的其他组分(例如,ADAR蛋白)。本领域技术人员将理解,提供靶核酸的腺苷修饰的寡核苷酸也可以提供经修饰的核酸(例如,其中靶腺苷被转化成I)及其一种或多种产物(例如,mRNA、蛋白等)。在实例中描述了某些有用的技术。

[0025] 如本文所述,可以多种形式提供/利用本披露的寡核苷酸和组合物。在一些实施例中,本披露提供了包含一种或多种形式的寡核苷酸的组合物,例如酸形式(例如,其中天然磷酸酯键联作为-O(P(O)(OH)-O-存在,硫代磷酸酯核苷酸间键联作为-O(P(O)(SH)-O-存在)、碱基形式、盐形式(例如,其中天然磷酸酯键联作为盐形式(例如,钠盐(-O(P(O)(O^-Na^-)-O-))存在,硫代磷酸酯键联作为盐形式(例如,钠盐(-O(P(O)(S^-Na^+)-O-))存在)等。如本领域技术人员所理解的,寡核苷酸可以以各种盐形式存在,包括药学上可接受的盐,并且在溶液(例如,各种水性缓冲系统)中,阳离子可以从阴离子解离。在一些实施例中,本披露

提供了药物组合物,该药物组合物包含所提供的寡核苷酸和/或其一种或多种药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载剂。在一些实施例中,药物组合物是手性控制的寡核苷酸组合物。

[0026] 所提供的技术可用于多种目的。例如,本领域技术人员将理解,所提供的技术可用于涉及腺苷修饰的许多目的,例如,校正G至A突变,调节某些核酸和/或由其编码的产物的水平(例如,通过引入A至G/I修饰来降低蛋白的水平),调节剪接,调节翻译(例如,通过引入A至G/I修饰来调节翻译起始和/或终止位点)等。

[0027] 在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗适合腺苷修饰(例如,将A转化成I或G)的病症、障碍或疾病的技术。如本领域技术人员所理解的,I可以执行G的一种或多种功能,例如碱基配对、翻译等。在一些实施例中,G至A突变可以通过A至I的转化来校正,使得可以产生G形式核酸的一种或多种产物,例如蛋白。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与突变相关联的病症、障碍或疾病的技术,这些技术包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的寡核苷酸或其组合物,该寡核苷酸或组合物可编辑突变。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的技术,这些技术包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的寡核苷酸或其组合物,该寡核苷酸或组合物可以修饰A。在一些实施例中,所提供的技术修饰转录物(例如,RNA转录物)中的A。在一些实施例中,A被转化成I。在一些实施例中,在翻译期间,蛋白合成机器将I读作G。在一些实施例中,A形式编码一种或多种与由其相应G形式编码的蛋白相比具有一种或多种更高的所需活性和/或一种或多种更好的所需特性的蛋白。在一些实施例中,A形式与其相应G形式相比提供更高水平的一种或多种具有一种或多种更高的所需活性和/或一种或多种更好的所需特性的蛋白。在一些实施例中,由A形式编码的产物在结构上与由其相应G形式编码的产物不同(例如,更长,在一些实施例中为全长蛋白)。在一些实施例中,A形式与其相应G形式相比提供在结构上相同的产物(例如,蛋白)。

[0028] 如本领域技术人员将理解的,许多病症、障碍或疾病与可以通过所提供的技术修饰的突变相关联并且可以使用所提供的技术来预防和/或治疗。例如,据报道,超过20,000种病症、障碍或疾病与G至A突变相关联,并且可以受益于A至I编辑。

[0029] 本申请通过援引将以下申请并入本文:2020年11月8日提交的美国临时申请号63/111,079、2021年4月14日提交的美国临时申请号63/175036、2021年5月13日提交的美国临时申请号63/188,415、2021年6月2日提交的美国临时申请号63/196,178、2021年9月26日提交的美国临时申请号63/248,520、以及WO 2021/071858和WO 2022/099159。

附图说明

[0030] 图1.所提供的包含各种长度的寡核苷酸的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N=2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸组合物处理48小时。具有不同长度(29-26聚体)的寡核苷酸的组合物可以提供不同水平的编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[0031] 图2.所提供的包括多种修饰的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基

因的编辑(N＝2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸处理48小时。在编辑区处或周围(例如,在N_0、N_1等处)包含各种修饰(例如,LNA糖)和在N_0与N_{-1}之间包含Rp或Sp硫代磷酸酯或磷酰基胍核苷酸间键联等的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[0032] 图3.所提供的包括多种修饰的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸组合物处理48小时。包含各种糖和/或碱基修饰(包括在N_0处)的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[0033] 图4.所提供的包括多种修饰的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸组合物处理48小时。包含各种糖和/或碱基修饰(包括在N_0和/或N_1处)的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[0034] 图5.所提供的包括多种修饰的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸组合物处理48小时。包含各种糖和/或碱基修饰(包括在N_0处)的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。通过Sanger测序定量NA编辑。

[0035] 图6.所提供的包括多种修饰的技术可以提供编辑。对于各种寡核苷酸组合物,证实了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。将原代肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定寡核苷酸组合物处理48小时。包含各种糖和/或碱基修饰(包括在N_0处)的寡核苷酸可以提供编辑。在一些实施例中,利用6元环糖。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[0036] 图7.所提供的技术可以在体内提供编辑。在各种组织类型(例如,心脏、肾、肺、脾、白色脂肪组织(WAT)、棕色脂肪组织(BAT)、肝脏)和各种细胞类型(例如,肝脏相关细胞,例如CD3+、EpCAM+、CD146+(LSEC)、F4/80+(M0)细胞)中证实了小鼠中UGP2转录物的编辑。对小鼠(N＝5/组)皮下给药100mg/kg的WV-50168或PBS(对照)。在7天之后,将动物安乐死并收集指定组织。另外,将肝脏消化成单细胞悬浮液,并且使用市售试剂盒分离指定的细胞。通过Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。

[0037] 图8.所提供的技术可以在体内提供编辑。在第0、2和4天,对小鼠给药10mg/kg的靶向NRF2或UGP2的指定寡核苷酸组合物。所有寡核苷酸都是GalNAc缀合的。在第7天,将动物处死并收集指定组织(例如,肝脏、肾)。在一些实施例中,所提供的技术可以提供靶转录物的编辑,其可以提供例如蛋白质-蛋白质相互作用的调节,其可以提供例如下游基因的基因表达的调节。通过Sanger测序定量RNA编辑。N＝5/组;误差条表示SEM。

[0038] 图9.所提供的技术可以提供体内基因激活的改变。在第0、2和4天,对小鼠给药10mg/kg的靶向NRF2或UGP2的指定寡核苷酸组合物。所有寡核苷酸都是GalNAc缀合的。在第7天,将动物处死并收集肝脏。在一些实施例中,所提供的技术可以提供靶转录物的编辑,其可以提供例如蛋白质-蛋白质相互作用的调节,其可以提供例如下游基因的基因表达的调

节。(a)所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节和/或基因表达的调节。经由qPCR分析Nrf2调节的基因NQO1和对照(HPRT1)的表达。(b)所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节和/或基因表达的调节。经由qPCR分析Nrf2调节的基因GSTM1和对照(HPRT1)的表达。N＝5/组;误差条表示SEM。

[0039] 图10.所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节。经由裸摄取以指定浓度(例如,5、1、0.2、0.04、0.008、0.0016uM)对原代小鼠肝细胞给药靶向NRF2的指定寡核苷酸组合物,持续48小时。所有寡核苷酸都是GalNAc缀合的。在一些实施例中,所提供的技术可以提供靶转录物的编辑,其可以提供例如蛋白质-蛋白质相互作用的调节,其可以提供例如下游基因的基因表达的调节。N＝2/组;误差条表示SEM。(a)所提供的寡核苷酸组合物可以提供靶NRF2转录物的编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。(b)所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节和/或基因表达的调节。通过qPCR测量Nrf2调节的基因NQO1的表达倍数变化。(c)所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节和/或基因表达的调节。通过qPCR测量Nrf2调节的基因SLC17a的表达倍数变化。

[0040] 图11.所提供的技术可以提供RNA表达的上调。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供了RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑,其可以提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏、RNA半衰期的改变和/或RNA表达的上调。经由裸摄取将人原代T细胞用10uM的指定寡核苷酸组合物处理48小时。通过qPCR定量RNA表达。N＝4/组;误差条表示SEM。

[0041] 图12.所提供的技术可以提供RNA表达的上调。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供了RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑,其可以提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏、RNA半衰期的改变和/或RNA表达的上调。经由裸摄取将人原代肝细胞用10uM的指定寡核苷酸组合物处理48小时。通过qPCR定量RNA表达。N＝4/组;误差条表示SEM。

[0042] 图13.所提供的技术可以提供RNA表达的上调。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供了RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑,其可以提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏、RNA半衰期的改变和/或RNA表达的上调。经由裸摄取将人原代肝细胞用10uM的指定寡核苷酸组合物处理48小时。通过qPCR定量RNA表达。N＝4/组;误差条表示SEM。

[0043] 图14.所提供的技术可以提供RNA表达的上调。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供了RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑,其可以提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏、RNA半衰期的改变和/或RNA表达的上调。经由裸摄取将人原代肝细胞用10uM的指定寡核苷酸组合物处理48小时。通过qPCR定量RNA表达。N＝4/组;误差条表示SEM。

[0044] 图15.所提供的技术可以提供靶转录物的编辑。证实了SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。在第0天铺板具有ZZ基因型的人患者iPSC衍生的肝细胞,并在第2天用不同浓度(每个寡核苷酸从左到右,5、1.25、0.31和0.08uM)的指定寡核苷酸(例如WV-46312、WV-49090、WV-49092)处理。培养基每2天更新一次(例如,在第4、6、8天)。在第10天收集RNA,并通过Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0045] 图16.所提供的技术可以提供靶转录物的编辑。证实了SERPINA1-Z等位基因的编辑(N＝2个生物学重复样)。在第0天铺板具有ZZ基因型的人患者iPSC衍生的肝细胞,并在第2天用不同浓度(例如,5、1.25、0.31和0.08uM)的指定寡核苷酸(左边的WV-46312、右边的WV-44515)处理。每2天更换一次培养基(例如,在第4、6、8天),并且每2天重新添加指定的寡核苷酸(例如,在第4、6、8天)。在第10天收集RNA,并通过Sanger测序定量RNA编辑。误差条表

示平均值的标准误差(SEM)。

[0046] 图17.所提供的技术可以在体内提供编辑。证实了来自SERPINA1PiZ等位基因的转录物的编辑。对七周龄的NSG-PiZ小鼠(JAX货号028842;每个治疗组N＝5)以每剂10mg/kg的剂量皮下给药指定的寡核苷酸组合物(例如WV-49090)。一组小鼠在第1周(第0、2、4天)接受负荷剂量,而其他组在第1周(第0天)接受单一剂量(无负荷剂量)。这些组随后每2周接受一次额外剂量(例如,在第2、4、6、8、10、12周期间)。对照组小鼠接受PBS。在治疗后第13周收集小鼠肝脏活检。从肝脏活检收集RNA,并通过Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。使用针对多重比较(图基(Tukey))进行调整的单向方差分析测试负荷剂量与无负荷剂量之间的编辑%差异(ns:不显著)。

[0047] 图18.所提供的技术可以增加体内SERPINA1 mRNA水平。对七周龄的NSG-PiZ小鼠(JAX货号028842;每个治疗组N＝5)以每剂10mg/kg的剂量皮下给药指定的寡核苷酸组合物(例如WV-49090)。一组小鼠在第1周(第0、2、4天)接受负荷剂量,而其他组在第1周(第0天)接受单一剂量(无负荷剂量)。这些组随后每2周接受一次额外剂量(例如,在第2、4、6、8、10、12周期间)。在治疗后第13周收集小鼠肝脏活检。对照组小鼠接受PBS。从肝脏活检收集RNA,并使用qPCR定量相对SERPINA1 mRNA水平(SERPINA1/HPRT)。根据给药前(第0周)收集的小鼠肝脏活检确定相对SERPINA1 mRNA水平的基线测量。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。使用针对重复测量和多重比较进行调整的单向方差分析(邓尼特(Dunnett))测试相对SERPINA1 mRNA水平的差异(＊＊＊＊:P值＜0.001;ns:不显著)。

[0048] 图19.所提供的技术可以降低血清中突变型Z-AAT蛋白水平并增加野生型(M)AAT蛋白水平。对七周龄的NSG-PiZ小鼠(JAX货号028842;每个治疗组N＝5)以每剂10mg/kg的剂量皮下给药指定的寡核苷酸组合物(例如WV-49090)。一组小鼠在第1周(第0、2、4天)接受负荷剂量,而其他组在第1周(第0天)接受单一剂量(无负荷剂量)。这些组随后每2周接受一次额外剂量(例如,在第2、4、6、8、10、12周期间)。对照组小鼠接受PBS。在治疗后第13周从小鼠收集血清。Z(突变型)与M(野生型)AAT同种型的相对丰度通过液相色谱-质谱法(LC-MS)确定。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0049] 图20.通过各种所提供的寡核苷酸组合物进行编辑可以产生功能性野生型AAT蛋白。对七周龄的NSG-PiZ小鼠(JAX货号028842;每个治疗组N＝5)以每剂10mg/kg的剂量皮下给药指定的寡核苷酸组合物。一组小鼠在第1周(第0、2、4天)接受负荷剂量,而其他组在第1周(第0天)接受单一剂量。这些组随后每2周接受一次额外剂量(例如,在第2、4、6、8、10、12周期间)。对照组小鼠接受PBS。在给药前和治疗后第13周从小鼠收集血清。使用市售试剂盒在体外反应中确定血清中的相对弹性蛋白酶抑制活性。各时间点的治疗组从左至右依次为:PBS对照、WV-49090(第0、2、4天具有负荷剂量)、WV-49090(无负荷剂量)。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。使用针对多重比较(Bonferroni)进行调整的双向方差分析来测试接受指定寡核苷酸组合物的治疗组与PBS对照组的血清中弹性蛋白酶抑制活性的差异。(＊＊＊＊:P值＜0.001;ns:不显著)。

[0050] 图21.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中,并且经由裸摄取用指定浓度的靶向UGP2的指定寡核苷酸(AIMer)处理48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N＝3。

[0051] 图22.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中,并且经由裸摄取用指定浓度的靶向ACTB的指定寡核苷酸(AIMer)处理48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0052] 图23.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中,并且经由裸摄取用指定浓度的靶向SRSF1的指定寡核苷酸(AIMer)处理48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0053] 图24.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中。在第二天,将细胞用指定浓度的靶向UGP2的指定寡核苷酸(AIMer)转染48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0054] 图25.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中。在第二天,将细胞用指定浓度的靶向ACTB的指定寡核苷酸(AIMer)转染48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0055] 图26.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中。在第二天,将细胞用指定浓度的靶向SRSF1的指定寡核苷酸(AIMer)转染48小时。在处理之后,分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0056] 图27.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液中。将所得的裂解液超声处理并通过离心澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且以指定浓度添加靶向UGP2的指定寡核苷酸(AIMer)。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并使用Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0057] 图28.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液中。将所得的裂解液超声处理并通过离心澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且以指定浓度添加靶向ACTB的指定寡核苷酸(AIMer)。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并使用Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0058] 图29.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液中。将所得的裂解液超声处理并通过离心澄清。将裂解液铺板到

96孔热循环仪板中,并且以指定浓度添加靶向SRSF1的指定寡核苷酸(AIMer)。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并使用Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0059] 图30.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在添加寡核苷酸后的指定时间收集细胞并提取RNA。通过Sanger测序定量RNA编辑。使用混合效应模型来测试统计显著性。**:p<0.01,****:p<0.0001,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N=2。

[0060] 图31.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向SRSF1的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在添加寡核苷酸后的指定时间收集细胞并提取RNA。通过Sanger测序定量RNA编辑。使用混合效应模型来测试统计显著性。*:p<0.05,**:p<0.01,****:p<0.0001,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N=2。

[0061] 图32.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。使用单向方差分析来测试显著性。***:p<0.001,****:p<0.0001。误差条表示标准偏差。N=4。

[0062] 图33.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向SRSF1的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。使用单向方差分析来测试显著性。****p<0.0001。误差条表示标准偏差。N=4。

[0063] 图34.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向ACTB的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。使用单向方差分析来测试显著性。****p<0.0001。误差条表示标准偏差。N=4。

[0064] 图35.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在

处理后96小时,将细胞在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。与处理之后直接收集的细胞(例如,如图32中所述)相比,剩余的寡核苷酸的比例在Y轴上表示。使用单向方差分析来测试显著性。＊＊:p＜0.01,＊＊＊＊:p＜0.0001。误差条表示标准偏差。N＝4。

[0065] 图36.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向SRSF1的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在处理后96小时,将细胞在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。与处理之后直接收集的细胞(例如,如图33中所述)相比,剩余的寡核苷酸的比例在Y轴上表示。使用单向方差分析来测试显著性。＊＊＊:p＜0.001,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N＝4。

[0066] 图37.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向ACTB的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在处理后96小时,将细胞在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。与处理之后直接收集的细胞(例如,如图34中所述)相比,剩余的寡核苷酸的比例在Y轴上表示。使用单向方差分析来测试显著性。＊:p＜0.05,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N＝4。

[0067] 图38.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。对于裸编辑%(每个寡核苷酸的底部条):将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。将细胞用6μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理48小时。收集RNA并且使用Sanger测序定量编辑。对于无细胞编辑%(每个寡核苷酸的顶部条):将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液中。将所得的裂解液超声处理并通过离心澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且以指定浓度添加靶向UGP2的指定寡核苷酸(AIMer)。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并通过Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差。N＝2。

[0068] 图39.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中,并且用指定浓度的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N＝3。

[0069] 图40.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将Hep3B细胞铺板在96孔板中。在第二天,将细胞用指定浓度的靶向UGP2的指定寡核苷酸转染48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示标准偏差。N＝3。

[0070] 图41.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液中。将所得的裂解液超声处理并通过离心澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且以指定浓度添加靶向UGP2的指定寡核苷酸(AIMer)。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并使用Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差。N=3。

[0071] 图42.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在添加寡核苷酸后的指定时间收集细胞并提取RNA。通过Sanger测序定量RNA编辑。使用混合效应模型来测试统计显著性。*:$p<0.05$,****:$p<0.0001$,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N=2。

[0072] 图43.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。使用单向方差分析来测试显著性。****:$p<0.0001$。误差条表示标准偏差。N=4。

[0073] 图44.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2的AIMer处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在处理后96小时,将细胞在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量寡核苷酸(AIMer)浓度。与处理之后直接收集的细胞(例如,如图43中所述)相比,剩余的寡核苷酸的比例在Y轴上表示。使用单向方差分析来测试显著性。****:$p<0.0001$,ns:不显著。误差条表示标准偏差。N=4。

[0074] 图45.所提供的技术可以提供体内RNA表达的上调。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供了RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑,其可以提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏、RNA半衰期的改变、RNA表达的上调和/或蛋白水平的上调。在第0、2和4天,对转基因hADAR小鼠皮下给药10mgk的靶向FGF21转录物的3"UTR中的ARE位点的指定寡核苷酸组合物(每个治疗组N=5)。参考组的小鼠接受PBS。在第0天(给药前)和第7天(给药后)收集血清。在第7天收集小鼠肝脏活检。通过Sanger测序定量肝脏活检中的FGF21 mRNA编辑(a)。通过qPCR定量肝脏活检中的FGF21mRNA水平。将定量的FGF21 mRNA水平相对于相应的HPRT mRNA水平(如也通过qPCR定量)归一化,并且确定该归一化FGF21 mRNA水平相对于施用PBS的小鼠的平均归一化FGF21 mRNA水平的倍数变化(b)。通过ELISA定量血清中的FGF21蛋白水平(c)。误差条表示平均值的标准差。

[0075] 图46.所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节。在裸条件下,对原

代人肝细胞给药增加浓度(例如,0.0016、0.008、0.04、0.2、1、5uM)的靶向NRF2转录物的指定寡核苷酸(AIMer)(每组N=2)。在48h后收集RNA。(a)所提供的寡核苷酸组合物可以提供靶NRF2转录物的编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。实线表示绘制数据的非线性回归拟合。虚线表示绘制数据的非线性回归拟合的95%置信区间。(b)所提供的技术可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节和/或基因表达的调节。通过qPCR测量Nrf2调节的基因SLC17A11的表达倍数变化。对于每种寡核苷酸,水平条从上到下表示在5、1、0.2、0.04、0.008和0.0016uM的浓度下处理后测量的SLC7A11mRNA表达的倍数变化。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

[0076] 图47.所提供的技术可以提供编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核碱基提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些糖提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核苷提供更高水平的编辑。设计并评估包含各种核碱基(例如,天然核碱基、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G等)、糖(例如,天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、sm11、sm12、sm15、sm17等)、键联(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用ACTB 5'-CAG-3'质粒和ADAR-p110质粒转染。在24h之后,将细胞用指定寡核苷酸转染。在48h后收获细胞,并且收集RNA并转录成cDNA。通过Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差(SD)。N=2。

[0077] 图48.所提供的技术可以提供编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核碱基提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些糖提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核苷提供更高水平的编辑。设计并评估包含各种核碱基(例如,天然核碱基、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G等)、糖(例如,天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、sm11、sm12、sm15、sm17等)、键联(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用ACTB 5'-GAG-3'质粒和ADAR-p110质粒转染。在24h之后,将细胞用指定寡核苷酸转染。在48h后收获细胞,并且收集RNA并转录成cDNA。通过Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差(SD)。N=2。

[0078] 图49.所提供的技术可以提供编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核碱基提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些糖提供更高水平的编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核苷提供更高水平的编辑。设计并评估包含各种核碱基(例如,天然核碱基、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G等)、糖(例如,天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、sm11、sm12、sm15、sm17等)、键联(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用ACTB 5'-TAG-3'质粒和ADAR-p110质粒转染。在24h之后,将细胞用指定寡核苷酸转染。在48h后收获细胞,并且收集RNA并转录成cDNA。通过Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差(SD)。N=2。

[0079] 图50.所提供的技术可以提供编辑。在一些实施例中,与其他相比,N_0处的某些核

碱基提供更高水平的编辑和/或选择性。在一些实施例中,与其他相比,N_0处的某些糖提供更高水平的编辑和/或选择性。在一些实施例中,与其他相比,N_0处的某些核苷提供更高水平的编辑和/或选择性。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核碱基提供更高水平的编辑和/或选择性。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些糖提供更高水平的编辑和/或选择性。在一些实施例中,与其他相比,N_{-1}处的某些核苷提供更高水平的编辑和/或选择性。设计并评估包含各种核碱基(例如,天然核碱基、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G等)、糖(例如,天然DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、sm11、sm12、sm15、sm17等)、键联(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将HEK293T细胞用ACTB 5'-AAG-3'质粒和ADAR-p110质粒转染。在24h之后,将细胞用指定寡核苷酸转染。在48h后收获细胞,并且收集RNA并转录成cDNA。通过Sanger测序定量编辑。误差条表示标准偏差(SD)。N=2。

[0080] 图51.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如碱基修饰(例如,3nU)、键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。以裸方式对原代小鼠肝细胞给药3uM(a)或0.3uM(b)的指定寡核苷酸。在72h后收获细胞,并且收集RNA并转录成cDNA。通过Sanger测序定量编辑。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。N=2。*指示数据不存在。

[0081] 图52.所提供的技术可以提供编辑。设计并评估包含各种修饰诸如键联修饰(例如,PS、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学及其模式的寡核苷酸。将靶向KEAP1或NRF2转录物的指定寡核苷酸以25nM转染到iPSC衍生的星形胶质细胞中(a)或以25nM转染到SF8628人胶质瘤细胞中(b)或以10uM裸引入原代人肝细胞中(c)。包括靶向ACTB转录物的WV-37317作为对照。在孵育48h之后收集RNA。通过Sanger测序定量RNA编辑。误差条表示平均值的标准误差(SEM)。

具体实施方式

[0082] 通过参考某些实施例的以下详细描述,可以更容易地理解本披露的技术。

定义

[0083] 如本文所用,除非另外指明,否则应当应用下列定义。出于此披露的目的,化学元素根据以下来鉴定:Periodic Table of the Elements[元素周期表],CAS版本,Handbook of Chemistry and Physics[化学与物理手册],第75版。另外,有机化学的一般原理描述于:"Organic Chemistry[有机化学]",Thomas Sorrell,University Science Books[大学科学书籍],索萨利托:1999以及"March′s Advanced Organic Chemistry[马奇高级有机化学]",第5版,编辑:Smith,M.B.和March,J.,John Wiley&Sons[约翰威利父子公司],纽约:2001中。

[0084] 如本文在本披露中使用的,除非上下文另有明确说明,否则(i)术语"一个(a)"或"一种(an)"可以理解为是指"至少一个";(ii)术语"或"可以理解为"和/或";(iii)术语"包含(comprising、comprise)","包括(including)"(无论是否与"不限于"一起使用)和"包括(include)"(无论是否与"不限于"一起使用)可以理解为涵盖逐项列出的组分或步骤,无论是单独显示还是与一个或多个其他组分或步骤一起显示;(iv)术语"另一个"可以理解为是

指至少一个另外的/第二的一个或多个;(v)术语“约”和“大约”可以理解为允许标准差,如本领域普通技术人员将理解的那样;和(vi)提供范围的情况下,包括端点。

[0085] 除非另有说明,否则寡核苷酸及其元件(例如,碱基序列、糖修饰、核苷酸间键联、键联磷立体化学、其模式等)的描述是从5′至3′进行的。如本领域的技术人员将理解,在一些实施例中,寡核苷酸可以作为盐形式,特别是药学上可接受的盐形式(例如,钠盐)提供和/或使用。如本领域技术人员也将理解的,在一些实施例中,组合物中的单一寡核苷酸可被认为具有相同的构成和/或结构,即使在这样的组合物(例如,液体组合物)中,特别地,这样的寡核苷酸在特定时间可能处于不同的一种或多种盐形式(并且例如在液体组合物中时,其可以溶解并且寡核苷酸链可以阴离子形式存在)。例如,本领域技术人员将理解,在给定的pH下,沿着寡核苷酸链的单个核苷酸间键联可以呈酸(H)形式,或呈多种可能的盐形式之一(例如,钠盐或不同阳离子的盐,取决于制备物或组合物中可能存在哪些离子),并且将会理解,只要它们的酸形式(例如,用H^+代替所有阳离子,如果有的话)具有相同的构成和/或结构,这样的单一寡核苷酸可以适当地认为具有相同的构成和/或结构。

[0086] 脂肪族:如本文所用,“脂肪族”意指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元(但非芳族)的直链(即非支链)或支链的经取代或未取代的烃链,或完全饱和或含有一个或多个不饱和单元(但非芳族)的经取代或未取代的单环、双环或多环烃环,或其组合。在一些实施例中,脂肪族基团含有1-50个脂肪族碳原子。在一些实施例中,脂肪族基团含有1-20个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-10个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-9个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-8个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-7个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-6个脂肪族碳原子。在仍其他实施例中,脂肪族基团含有1-5个脂肪族碳原子,并且在又其他实施例中,脂肪族基团含有1、2、3或4个脂肪族碳原子。合适的脂肪族基团包括但不限于直链或支链的经取代或未取代的烷基、烯基、炔基及其杂合物,如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)烯基。

[0087] 烯基:如本文所用,术语“烯基”是指如本文所定义的具有一个或多个双键的脂肪族基团。

[0088] 烷基:如本文所用,术语“烷基”以其本领域中的一般含义给出,并且可以包括饱和脂肪族基团,包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族基)、经烷基取代的环烷基和经环烷基取代的烷基。在一些实施例中,烷基具有1-100个碳原子。在某些实施例中,直链或支链烷基的骨架中具有约1-20个碳原子(例如,直链是C_1-C_{20},支链是C_2-C_{20}),替代性地具有约1-10个碳原子。在一些实施例中,环烷基环在这样的环为单环、双环或多环时在其环结构中具有约3-10个碳原子,替代性地在环结构中具有约5、6或7个碳。在一些实施例中,烷基基团可以是低级烷基基团,其中低级烷基基团包含1-4个碳原子(例如,直链低级烷基是C_1-C_4)。

[0089] 炔基:如本文所用,术语“炔基”是指如本文所定义的具有一个或多个三键的脂肪族基团。

[0090] 类似物:术语“类似物”包括在结构上与参考化学部分或部分类别不同但能执行这样的参考化学部分或部分类别的至少一种功能的任何化学部分。作为非限制性实例,核苷酸类似物在结构上与核苷酸不同,但能执行核苷酸的至少一种功能;核碱基类似物在结构上与核碱基不同,但能执行核碱基的至少一种功能;等等。

[0091] 动物:如本文所用,术语“动物”是指动物界的任何成员。在一些实施例中,“动物”是指处于任何发育阶段的人。在一些实施例中,“动物”是指处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施例中,非人类动物是哺乳动物(例如,啮齿类动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施例中,动物包括但不限于哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类和/或蠕虫。在一些实施例中,动物可是转基因动物、经基因工程化的动物和/或克隆体。

[0092] 芳基:如本文所用,单独使用或作为较大部分如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”的一部分使用的术语“芳基”是指总共具有五个至三十个环成员的单环、双环或多环环系,其中体系中的至少一个环是芳族的。在一些实施例中,芳基为总共具有五个至十四个环成员的单环、双环或多环环系,其中体系中的至少一个环是芳族的,并且其中体系中的各环含有3至7个环成员。在一些实施例中,每个单环单元是芳族的。在一些实施例中,芳基是联芳基。术语“芳基”与术语“芳基环”可互换使用。在本披露的某些实施例中,“芳基”是指包括但不限于苯基、联苯基、萘基、联萘基、蒽基等的芳族环系,其可具有一个或多个取代基。如本文所用,还包括在术语“芳基”的范围内的是其中芳族环与一个或多个非芳族环稠合的基团,如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘啶基、啡啶基或四氢萘基等。

[0093] 特征性部分:如本文所用,术语“特征性部分”在最广泛的意义上是指下述物质部分:其存在(或不存在)与该物质的特定特征、属性或活性的存在(或不存在)相关。在一些实施例中,物质的特征性部分是在该物质中和在共享特定特征、属性或活性的相关物质中发现,而未在不共享特定特征、属性或活性的那些物质中发现的部分。在某些实施例中,特征性部分与完整物质共享至少一个功能特性。例如,在一些实施例中,蛋白或多肽的“特征性部分”是含有氨基酸的连续区段或氨基酸的连续区段的集合的部分,这些氨基酸区段一起是蛋白或多肽特有的。在一些实施例中,每个这样的连续区段通常含有至少2、5、10、15、20、50或更多个氨基酸。通常,物质的特征性部分(例如,蛋白、抗体等的特征性部分)是这样的部分,其除了上文指定的序列和/或结构同一性之外,还与相关的完整物质共享至少一种功能特性。在一些实施例中,特征性部分可以是生物活性的。

[0094] 手性控制:如本文所用,“手性控制”是指控制寡核苷酸内的手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学标识。如本文所用,手性核苷酸间键联是其键联磷为手性的核苷酸间键联。在一些实施例中,通过寡核苷酸的糖和碱基部分中不存在的手性元件实现控制,例如,在一些实施例中,通过在寡核苷酸制备期间使用一种或多种手性助剂实现控制,这些手性助剂通常是寡核苷酸制备期间使用的手性亚磷酰胺的一部分。与手性控制形成对比,本领域普通技术人员将认识到,如果使用常规寡核苷酸合成来形成手性核苷酸间键联,则不使用手性助剂的这样的常规寡核苷酸合成不能控制手性核苷酸间键联处的立体化学。在一些实施例中,控制寡核苷酸内每个手性核苷酸间键联中的每个手性键联磷的立体化学标识。

[0095] 手性控制的寡核苷酸组合物:如本文所用,术语“手性控制的寡核苷酸组合物”、“手性控制的核酸组合物”等是指包含多个寡核苷酸(或核酸)的组合物,该多个寡核苷酸(或核酸)共享共同碱基序列,其中该多个寡核苷酸(或核酸)在一个或多个手性核苷酸间键联(手性控制的或立体限定的核苷酸间键联,其手性键联磷在组合物中呈Rp或Sp(“立体限定的”),而非如同非手性控制的核苷酸间键联一样的随机Rp和Sp混合物)处共享相同的键

联磷立体化学。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物包含共享以下的多个寡核苷酸(或核酸):1)共同碱基序列,2)共同骨架键联模式,以及3)共同骨架磷修饰模式,其中该多个寡核苷酸(或核酸)在一个或多个手性核苷酸间键联(手性控制的或立体限定的核苷酸间键联,其手性键联磷在组合物中呈Rp或Sp("立体限定的"),而非如同非手性控制的核苷酸间键联一样的随机Rp和Sp混合物)处共享相同的键联磷立体化学。与非手性控制的寡核苷酸组合物中的随机水平相比,手性控制的寡核苷酸组合物中该多个寡核苷酸(或核酸)的水平是预定的/控制的或富集的(例如,通过手性控制的寡核苷酸制备以立体选择性地形成一个或多个手性核苷酸间键联)。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物中的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物中共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架磷修饰模式的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,水平为组合物中的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列(例如,多个寡核苷酸或一种寡核苷酸类型的碱基序列)的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架磷修饰模式的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列、共同碱基修饰模式、共同糖修饰模式、共同核苷酸间键联类型模式、和/或共同核苷酸间键联修饰模式的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)。在一些实施例中,该多个寡核苷酸在约1-50个(例如,约1-10、1-20、5-10、5-20、10-15、10-20、10-25、10-30,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20,或至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个)手性核苷酸间键联处共享相同的立体化学。在一些实施例中,该多个寡核苷酸在约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)的手性核苷酸间键联处共享相同的立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)共享相同的糖和/或核碱基修饰模式。在一些实施例

中,多个寡核苷酸(或核酸)是相同寡核苷酸的多种形式(例如,相同寡核苷酸的酸和/或多种盐)。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)具有相同的构成。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)的水平为组合物中的与多个寡核苷酸(或核酸)具有相同构成的所有寡核苷酸(或核酸)的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性控制的核苷酸间键联,并且组合物是完全手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)在结构上相同。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,典型地至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的非对映纯度。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少95%的非对映纯度。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少96%的非对映纯度。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少97%的非对映纯度。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少98%的非对映纯度。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少99%的非对映纯度。在一些实施例中,水平的百分比为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为如本披露所述的非对映纯度(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更高),并且nc为如本披露所述的手性键联磷的数目(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,水平的百分比为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为如本披露所述的非对映纯度(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更高),并且nc为如本披露所述的手性控制的核苷酸间键联的数目(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,水平的百分比为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为95%-100%。例如,当DS为99%并且nc为10时,该百分比为或至少为90%($(99\%)^{10}\approx0.90=90\%$)。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的水平表示为每个手性键联磷的非对映纯度的乘积。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的水平表示为寡核苷酸中每个手性控制的核苷酸间键联链的非对映纯度的乘积。在一些实施例中,连接寡核苷酸(或核酸)中的两个核苷的核苷酸间键联的非对映纯度由连接相同的两个核苷的二聚体的核苷酸间键联的非对映纯度表示,其中使用可比较的条件,在一些情况下,相同的合成循环条件制备二聚体(例如,对于寡核苷酸.....NxNy.....中Nx与Ny之间的键联,二聚体是NxNy)。在一些实施例中,不是所有的手性核苷酸间键联都是手性控制的核苷酸间键联,并且组合物是部分地手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,如在立体随机寡核苷酸组合物(例如,如本领域技术人员所理解的,来自传统寡核苷酸合成,例如亚磷酰胺方法)中通常观察到的,非手性控制的核苷酸间键联具有小于约80%、75%、70%、65%、60%、55%或约50%的非对映纯度。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)具有相同的类型。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物包含非随机水平或控制水平的各个寡核苷酸类型或核酸类型。例如,在一些实施例中,手

性控制的寡核苷酸组合物包含一种且不超过一种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物包含超过一种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物包含多种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物是一种寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物,该组合物包含非随机水平或控制水平的该寡核苷酸类型的多个寡核苷酸。

[0096] 可比较的:术语“可比较的”在本文中用于描述两组(或更多组)彼此充分相似的条件或环境,以允许比较所获得的结果或观察到的现象。在一些实施例中,可比较的条件或环境的组的特征在于多个基本上相同的特征和一个或少数变化的特征。本领域普通技术人员将理解,当由足够数量和类型的基本上相同的特征表征时,条件的组彼此是可比较的,以保证合理的结论,即在不同组的条件或环境下获得的结果或观察到的现象的差异是由那些变化的特征的变化引起或指示的。

[0097] 环脂肪族:术语“环脂肪族(cycloaliphatic)”、“碳环(carbocycle)”、“碳环基(carbocyclyl)”、“碳环基团(carbocyclic radical)”和“碳环(carbocyclic ring)”可互换使用,并且如本文所用,是指除非另有说明否则具有3至30个环成员的如本文所述的饱和或部分不饱和但非芳族的环状脂肪族单环、双环或多环环系。环脂肪族基团包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环庚烯基、环辛基、环辛烯基、降莰基、金刚烷基和环辛二烯基。在一些实施例中,环脂肪族基团具有3-6个碳。在一些实施例中,环脂肪族基团是饱和的并且是环烷基。术语“环脂肪族”还可包括与一个或多个芳族或非芳族环稠合的脂肪族环,如十氢萘基或四氢萘基。在一些实施例中,环脂肪族基团是双环的。在一些实施例中,环脂肪族基团是三环的。在一些实施例中,环脂肪族基团是多环的。在一些实施例中,“环脂肪族”是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但非芳族的C_3-C_6单环烃或C_8-C_{10}双环或多环烃,其具有附接至分子的其余部分的单一连接点,或是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但非芳族的C_9-C_{16}多环烃,其具有附接至分子的其余部分的单一连接点。

[0098] 杂脂肪族:如本文所用,术语“杂脂肪族”以它在本领域中的普通含义给出,并且是指其中一个或多个碳原子独立地被一个或多个杂原子(例如,氧、氮、硫、硅、磷等)代替的如本文所述的脂肪族基团。在一些实施例中,选自C、CH、CH_2及CH_3的一个或多个单元独立地被一个或多个杂原子(包括其经氧化和/或取代形式)代替。在一些实施例中,杂脂肪族基团是杂烷基。在一些实施例中,杂脂肪族基团是杂烯基。

[0099] 杂烷基:如本文所用,术语“杂烷基”以它在本领域中的普通含义给出,并且是指其中一个或多个碳原子独立地被一个或多个杂原子(例如,氧、氮、硫、硅、磷等)代替的如本文所述的烷基。杂烷基的实例包括但不限于烷氧基、聚(乙二醇)-、经烷基取代的氨基、四氢呋喃基、哌啶基、吗啉基等。

[0100] 杂芳基:如本文所用,单独使用或作为较大部分例如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”的一部分使用的术语“杂芳基”和“杂芳-”是指总共具有五个至三十个环成员的单环、双环或多环环系,其中系统中的至少一个环是芳族且至少一个芳族环原子为杂原子。在一些实施例中,杂芳基是具有5至10个环原子的基团(即,单环、双环或多环),在一些实施例中具有5、6、9或10个环原子。在一些实施例中,每个单环单元是芳族的。在一些实施例中,杂芳基具有在环状阵列中共享的6、10或14个π电子;并且除碳原子外,还具有一至五个杂原子。杂芳

基包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡唑基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吲嗪基、嘌呤基、萘啶基和蝶啶基。在一些实施例中,杂芳基是杂联芳基,如联吡啶基等。如本文所用,术语"杂芳基"和"杂芳-"还包括其中杂芳族环与一个或多个芳基环、环脂肪族环或杂环基环稠合的基团,其中附接基团或附接点在杂芳族环上。非限制性实例包括吲哚基、异吲哚基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吲唑基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹唑啉基、喹喔啉基、4H-喹嗪基、咔唑基、吖啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、以及吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮。杂芳基可以是单环的、双环的或多环的。术语"杂芳基"可以与术语"杂芳基环"、"杂芳基基团"或"杂芳族基"互换使用,这些术语中的任一者包括任选地经取代的环。术语"杂芳烷基"是指被杂芳基取代的烷基,其中烷基部分和杂芳基部分独立地任选地经取代。

[0101] 杂原子:如本文所用,术语"杂原子"意指不是碳或氢的原子。在一些实施例中,杂原子是硼、氧、硫、氮、磷或硅(包括氮、硫、磷或硅的氧化形式;氮(例如,季铵化形式、亚胺基团中的形式等)、磷、硫、氧的带电形式;等等)。在一些实施例中,杂原子是硅、磷、氧、硫或氮。在一些实施例中,杂原子是硅、氧、硫或氮。在一些实施例中,杂原子是氧、硫或氮。

[0102] 杂环:如本文所用,术语"杂环(heterocycle)"、"杂环基(heterocyclyl)"、"杂环基团(heterocyclic radical)"和"杂环(heterocyclic ring)"如本文所用可互换使用,并且是指饱和或部分不饱和且具有一个或多个杂原子环原子的单环、双环或多环部分(例如,3-30元)。在一些实施例中,杂环基是稳定的5元至7元单环或7元至10元双环杂环部分,其是饱和或部分不饱和的且除碳原子外具有一个或多个、优选地一至四个如以上所定义的杂原子。当关于杂环的环原子使用时,术语"氮"包括经取代的氮。作为实例,在具有0-3个选自氧、硫和氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可以是N(如在3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或$^{+}$NR(如在经N-取代的吡咯烷基中)。杂环可以在产生稳定结构的任何杂原子或碳原子处与其侧基附接,并且任何环原子可以任选地经取代。这样的饱和或部分不饱和的杂环基团的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶基、吡咯啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二噁烷基、二氧戊环基、二氮杂䓬基、氧氮杂䓬基、硫氮杂䓬基、吗啉基和奎宁环基。术语"杂环(heterocycle)"、"杂环基(heterocyclyl)"、"杂环基环(heterocyclyl ring)"、"杂环基团(heterocyclic group)"、"杂环部分(heterocyclic moiety)"和"杂环基团(heterocyclic radical)"在本文中可互换使用,并且还包括其中杂环基环与一个或多个芳基、杂芳基或环脂肪族环稠合的基团,如吲哚啉基、3H-吲哚基、苯并二氢吡喃基、菲啶基或四氢喹啉基。杂环基可以是单环的、双环的或多环的。术语"杂环基烷基"是指被杂环基取代的烷基,其中烷基部分和杂环基部分独立地任选地经取代。

[0103] 同一性:如本文所用,术语"同一性"是指聚合分子之间,例如核酸分子(例如,寡核苷酸、DNA、RNA等)之间和/或多肽分子之间的整体相关性。在一些实施例中,如果聚合分子的序列是至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%相同的,则认为它们彼此"基本上相同"。例如,两个核酸或多肽序列的同一性百分比的计算可以通过为了最佳比较目的而对两个序列进行比对来进行(例如,可以在第一序列和第二序列中的一个或两个中引入缺口以实现最佳比对,并且出于比较目的,

可以忽略不相同的序列)。在某些实施例中,为了比较目的而比对的序列的长度为参考序列长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少是95%或基本上100%。然后比较相应位置的核苷酸。当第一序列中的一个位置被与第二序列中相应位置相同的残基(例如,核苷酸或氨基酸)占据时,则分子在该位置是相同的。考虑到缺口的数目和每个缺口的长度(这需要引入以实现两个序列的最佳比对),两个序列之间的同一性百分比为序列共享的相同位置的数目的函数。可以使用数学算法完成序列的比较和两个序列之间的百分比同一性的确定。例如,可以使用Meyers和Miller算法(CABIOS,1989,4:11-17)确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比,该算法已被并入ALIGN程序(2.0版)。在一些示例性实施例中,使用ALIGN程序进行的核酸序列比较使用PAM120权重残差表、缺口长度罚分12和缺口罚分4。替代性地,可以使用NWSgapdna.CMP矩阵,使用GCG软件包中的GAP程序确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0104] 核苷酸间键联:如本文所用,短语“核苷酸间键联”通常是指连接寡核苷酸或核酸的核苷单元的键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸二酯键联,如在天然存在的DNA和RNA分子中广泛发现的(天然磷酸酯键联(-OP(=O)(OH)O-),如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在)。在一些实施例中,核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联(不是天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,核苷酸间键联是“经修饰的核苷酸间键联”,其中磷酸二酯键联的至少一个氧原子或-OH被不同的有机或无机部分代替。在一些实施例中,这样的有机或无机部分选自=S、=Se、=NR′、-SR′、-SeR′、$-N(R')_2$、$B(R')_3$、-S-、-Se-和-N(R′)-,其中每个R′独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸三酯键联、硫代磷酸酯键联(或硫代磷酸酯二酯键联,即-OP(=O)(SH)O-,如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在),或硫代磷酸三酯键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是例如PNA(肽核酸)或PMO(二氨基磷酸酯吗啉基寡聚物)键联之一。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联(例如,某些所提供的寡核苷酸中的n001)。本领域普通技术人员理解,由于键联中存在酸或碱部分,核苷酸间键联可以在给定pH下作为阴离子或阳离子存在。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是命名为s、s1、s2、s3、s4、s5、s6、s7、s8、s9、s10、s11、s12、s13、s14、s15、s16、s17和s18的经修饰的核苷酸间键联,如WO 2017/210647中所述。

[0105] 体外:如本文所用,术语“体外”是指在人工环境中发生的事件,例如在试管或反应容器中,在细胞培养物中等,而不是在生物体(例如,动物、植物和/或微生物)内。

[0106] 体内:如本文所用,术语“体内”是指在生物体(例如,动物、植物和/或微生物)内发生的事件。

[0107] 键联磷:如本文所定义,短语“键联磷”用于指示所提及的特定磷原子是存在于核苷酸间键联中的磷原子,该磷原子对应于如天然存在的DNA和RNA中存在的磷酸二酯核苷酸间键联的磷原子。在一些实施例中,键联磷原子位于经修饰的核苷酸间键联中,其中磷酸二酯键联的每个氧原子任选地且独立地被有机或无机部分代替。在一些实施例中,键联磷原子是手性的(例如,如在硫代磷酸酯核苷酸间键联中)。在一些实施例中,键联磷原子是非手性的(例如,如在天然磷酸酯键联中)。

[0108] 经修饰的核碱基:术语“经修饰的核碱基”、“经修饰的碱基”等是指与核碱基化学

上不同但能执行核碱基的至少一种功能的化学部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是包含修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基能够具有核碱基的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,在寡核苷酸的情况下,经修饰的核碱基是指不是A、T、C、G或U的核碱基。

[0109] 经修饰的核苷:术语“经修饰的核苷”是指衍生自天然核苷或在化学上类似于天然核苷但包含使其与天然核苷有区别的化学修饰的部分。经修饰的核苷的非限制性实例包括在碱基和/或糖处包含修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例包括在糖处具有2′修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例还包括无碱基核苷(其缺乏核碱基)。在一些实施例中,经修饰的核苷能够具有核苷的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成部分。

[0110] 经修饰的核苷酸:术语“经修饰的核苷酸”包括在结构上与天然核苷酸不同但能执行天然核苷酸的至少一种功能的任何化学部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸包含在糖、碱基和/或核苷酸间键联处的修饰。在一些实施例中,经修饰的核苷酸包含经修饰的糖、经修饰的核碱基、和/或经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸能够具有核苷酸的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成亚基。

[0111] 经修饰的糖:术语“经修饰的糖”是指可以代替糖的部分。经修饰的糖模仿糖的空间排列、电子特性、或一些其他物理化学特性。在一些实施例中,如本披露中所述,经修饰的糖是经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。有用的2′-修饰的实例在本领域中被广泛使用并在本文中描述。在一些实施例中,2’-修饰是2’-F。在一些实施例中,2’-修饰是2’-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OMe。在一些实施例中,2′-修饰是2′-MOE。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖(例如,LNA、BNA等中使用的糖)。在一些实施例中,在寡核苷酸的情况下,经修饰的糖是并非典型地在天然RNA或DNA中发现的核糖或脱氧核糖的糖。

[0112] 核酸:如本文所用,术语“核酸”包括任何核苷酸及其聚合物。如本文所用,术语“多核苷酸”是指任何长度的核苷酸(核糖核苷酸(RNA)或脱氧核糖核苷酸(DNA)或其组合)的聚合形式。这些术语是指分子的一级结构,并且包括双链和单链DNA,以及双链和单链RNA。这些术语包括作为等效物的RNA或DNA的类似物,其包含经修饰的核苷酸和/或经修饰的多核苷酸(如但不限于甲基化、被保护和/或封端的核苷酸或多核苷酸)。这些术语涵盖多核糖核苷酸或寡核糖核苷酸(RNA)和多脱氧核糖核苷酸或寡脱氧核糖核苷酸(DNA);衍生自核碱基和/或经修饰的核碱基的N-糖苷或C-糖苷的RNA或DNA;衍生自糖和/或经修饰的糖的核酸;以及衍生自磷酸酯桥和/或经修饰的核苷酸间键联的核酸。该术语涵盖含有核碱基、经修饰的核碱基、糖、经修饰的糖、磷酸酯桥或经修饰的核苷酸间键联的任何组合的核酸。实例包括且不限于含有核糖部分的核酸、含有脱氧核糖部分的核酸、含有核糖部分和脱氧核糖部分的核酸、含有核糖部分和经修饰的核糖部分的核酸。除非另有说明,否则前缀“多(poly-)”是指含有2至约10,000个核苷酸单体单元的核酸,并且其中前缀“寡(oligo-)”是指含有2至约200个核苷酸单体单元的核酸。

[0113] 核碱基:术语“核碱基”是指核酸中参与氢键合的部分,该氢键合以序列特异性方

式将一条核酸链与另一条互补链结合。最常见的天然存在的核碱基是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)。在一些实施例中,天然存在的核碱基是经修饰的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,天然存在的核碱基是甲基化的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,核碱基包含杂芳基环,其中环原子是氮,并且当在核苷中时,氮与糖部分键合。在一些实施例中,核碱基包含杂环,其中环原子是氮,并且当在核苷中时,氮与糖部分键合。在一些实施例中,核碱基是"经修饰的核碱基",即除腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)之外的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,经修饰的核碱基是A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,经修饰的核碱基是甲基化的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,经修饰的核碱基模拟核碱基的空间排列、电子特性或一些其他物理化学特性,并保留氢键合的以序列特异性方式将一条核酸链与另一条核酸链结合的特性。在一些实施例中,经修饰的核碱基可与所有五种天然存在的碱基(尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、或鸟嘌呤)配对,而基本上不影响解链行为、被细胞内酶识别、或寡核苷酸双链体的活性。如本文所用,术语"核碱基"还涵盖用于代替天然的核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物,如经修饰的核碱基和核碱基类似物。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。在一些实施例中,"核碱基"是指在寡核苷酸或核酸中的核碱基单元(例如,在寡核苷酸或核酸中的A、T、C、G或U)。

[0114] 核苷:术语"核苷"是指其中核碱基或经修饰的核碱基与糖或经修饰的糖共价结合的部分。在一些实施例中,核苷是天然核苷,例如腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷或脱氧胞苷。在一些实施例中,核苷是经修饰的核苷,例如选自腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷和脱氧胞苷的经取代的天然核苷。在一些实施例中,核苷是经修饰的核苷,例如选自腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷和脱氧胞苷的天然核苷的经取代的互变异构体。在一些实施例中,"核苷"是指寡核苷酸或核酸中的核苷单元。

[0115] 核苷酸:如本文所用,术语"核苷酸"是指多核苷酸的单体单元,其由核碱基、糖和一个或多个核苷酸间键联(例如,天然DNA和RNA中的磷酸酯键联)组成。天然存在的碱基[鸟嘌呤(G)、腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)]是嘌呤或嘧啶的衍生物,但应当理解也包括天然存在的和非天然存在的碱基类似物。天然存在的糖是戊糖(五碳糖),即脱氧核糖(其形成DNA)或核糖(其形成RNA),但应当理解,也包括天然存在的和非天然存在的糖类似物。将核苷酸经由核苷酸间键联进行连接以形成核酸、或多核苷酸。许多核苷酸间键联是本领域已知的(如但不限于磷酸酯、硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯等)。人工核酸包括PNA(肽核酸)、磷酸三酯、硫代磷酸酯、H-膦酸酯、氨基磷酸酯、硼烷磷酸酯、甲基膦酸酯、膦酰乙酸酯(phosphonoacetate)、硫代膦酰乙酸酯,以及天然核酸的磷酸酯骨架的其他变体,如本文所述的那些。在一些实施例中,天然核苷酸包含天然存在的碱基、糖和核苷酸间键联。如本文所用,术语"核苷酸"还涵盖用于代替天然核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物,如经修饰的核苷酸和核苷酸类似物。在一些实施例中,"核苷酸"是指寡核苷酸或核酸中的核苷酸单元。

[0116] 寡核苷酸:术语"寡核苷酸"是指核苷酸的聚合物或寡聚物,并且可以包含天然和

非天然核碱基、糖和核苷酸间键联的任何组合。

[0117] 寡核苷酸可以是单链或双链的。单链寡核苷酸可以具有双链区域(由单链寡核苷酸的两个部分形成),并且包含两个寡核苷酸链的双链寡核苷酸可以具有单链区域,例如其中两个寡核苷酸链彼此不互补的区域。示例寡核苷酸包括但不限于结构基因、包含控制区和终止区的基因、自我复制系统(如病毒DNA或质粒DNA)、单链和双链RNAi试剂和其他RNA干扰试剂(RNAi剂或iRNA剂)、shRNA、反义寡核苷酸、核酶、微RNA、微RNA模拟物、supermir、适体、antimir、antagomir、U1衔接子、形成三链体的寡核苷酸、G-四链体寡核苷酸、RNA激活子、免疫刺激性寡核苷酸和诱饵寡核苷酸。

[0118] 本披露的寡核苷酸可以具有多种长度。在特定的实施例中,寡核苷酸的长度可以为约2至约200个核苷。在多个相关实施例中,(单链的、双链的、或三链的)寡核苷酸的长度范围可以从约4至约10个核苷、从约10至约50个核苷、从约20至约50个核苷、从约15至约30个核苷、从约20至约30个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约9至约39个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约25至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约26至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约27至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约28至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约29至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约30至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约31至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约32至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约25至约60个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约25至约50个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约25至约40个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为从约30至约40个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少4个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少5个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少6个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少7个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少8个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少9个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少10个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少11个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少12个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少15个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少15个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少16个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少17个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少18个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少19个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少20个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少25个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少26个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少27个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少28个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少29个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少30个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少31个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少32个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少33个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少34个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少35个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少36个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少37个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少38个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少39个核苷。在一

些实施例中,寡核苷酸的长度为至少40个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为25个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为26个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为27个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为28个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为29个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为30个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为31个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为32个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为33个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为34个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为35个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为36个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为37个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为38个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为39个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为40个核苷。在一些实施例中,在寡核苷酸长度中计数的每个核苷独立地包含核碱基,该核碱基包含具有至少一个氮环原子的环。在一些实施例中,寡核苷酸长度中计数的每个核苷独立地包含A、T、C、G或U,或任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

[0119] 寡核苷酸类型:如本文所用,短语“寡核苷酸类型”用于定义具有特定碱基序列、骨架键联模式(即,核苷酸间键联类型(例如,磷酸酯、硫代磷酸酯、硫代磷酸三酯等)的模式)、骨架手性中心模式[即,键联磷立体化学模式(Rp/Sp)]以及骨架磷修饰模式的寡核苷酸。在一些实施例中,共同的指定“类型”的寡核苷酸彼此在结构上相同。

[0120] 本领域技术人员将理解,本披露的合成方法在合成寡核苷酸链期间提供一定程度的控制,使得可以提前设计和/或选择寡核苷酸链的每个核苷酸单元以在键联磷处具有特定的立体化学和/或在键联磷处具有特定的修饰、和/或具有特定的碱基、和/或具有特定的糖。在一些实施例中,提前设计和/或选择寡核苷酸链以在键联磷处具有立体中心的特定组合。在一些实施例中,设计和/或确定寡核苷酸链以在键联磷处具有修饰的特定组合。在一些实施例中,设计和/或选择寡核苷酸链以具有碱基的特定组合。在一些实施例中,设计和/或选择寡核苷酸链以具有一个或多个以上结构特征的特定组合。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸分子或由其组成的组合物(例如,手性控制的寡核苷酸组合物)。在一些实施例中,所有这样的分子属于同一类型(即,在结构上彼此相同)。然而,在一些实施例中,所提供的组合物包含多个不同类型的寡核苷酸(通常以预定的相对量)。

[0121] 任选地经取代的:如本文所述,本披露的化合物(例如,寡核苷酸)可以含有任选地经取代的部分和/或经取代的部分。通常,术语“经取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,均意指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基代替。除非另外指明,否则“任选地经取代的”基团可以在该基团的每个可取代位置处具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的超过一个位置可以被选自指定群组的超过一个取代基取代时,在每一位置处的取代基可以相同或不同。在一些实施例中,任选地经取代的基团是未经取代的。本披露所设想的取代基的组合优选是导致形成稳定的或化学上可行的化合物的组合。如本文所用,术语“稳定”是指如下化合物,在出于本文所披露的一个或多个目的而经历其生产、检测以及在某些实施例中经历其回收、纯化和使用的条件时,它们基本上不发生改变。某些取代基描述如下。

[0122] 在可取代原子(例如,合适的碳原子)上的合适的单价取代基独立地是卤素;-$(CH_2)_{0-4}R^o$;-$(CH_2)_{0-4}OR^o$;-$O(CH_2)_{0-4}R^o$、-O-$(CH_2)_{0-4}C(O)OR^o$;-$(CH_2)_{0-4}CH(OR^o)_2$;-$(CH_2)_{0-4}Ph$,其可以被R^o取代;-$(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$,其可以被$R^o$取代;-CH=CHPh,其可以被$R^o$取代;-$(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$-吡啶基,其可以被$R^o$取代;-$NO_2$;-CN;-$N_3$;-$(CH_2)_{0-4}N(R^o)_2$;-$(CH_2)_{0-4}N(R^o)C$

(O)R^o;-N(R^o)C(S)R^o;-$(CH_2)_{0-4}$N(R^o)C(O)NR^o_2;-N(R^o)C(S)NR^o_2;-$(CH_2)_{0-4}$N(R^o)C(O)OR^o;-N(R^o)N(R^o)C(O)R^o;-N(R^o)N(R^o)C(O)NR^o_2;-N(R^o)N(R^o)C(O)OR^o;-$(CH_2)_{0-4}$C(O)R^o;-C(S)R^o;-$(CH_2)_{0-4}$C(O)OR^o;-$(CH_2)_{0-4}$C(O)SR^o;-$(CH_2)_{0-4}$C(O)$OSiR^o_3$;-$(CH_2)_{0-4}$OC(O)R^o;-OC(O)$(CH_2)_{0-4}SR^o$,-SC(S)SR^o;-$(CH_2)_{0-4}$SC(O)R^o;-$(CH_2)_{0-4}$C(O)NR^o_2;-C(S)NR^o_2;-C(S)SR^o;-$(CH_2)_{0-4}$OC(O)NR^o_2;-C(O)N(OR^o)R^o;-C(O)C(O)R^o;-C(O)CH_2C(O)R^o;-C(NOR^o)R^o;-$(CH_2)_{0-4}$SSR^o;-$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2R^o$;-$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2OR^o$;-$(CH_2)_{0-4}$OS(O)$_2R^o$;-S(O)$_2NR^o_2$;-$(CH_2)_{0-4}$S(O)R^o;-N(R^o)S(O)$_2NR^o_2$;-N(R^o)S(O)$_2R^o$;-N(OR^o)R^o;-C(NH)NR^o_2;-Si(R^o)$_3$;-OSi(R^o)$_3$;-B(R^o)$_2$;-OB(R^o)$_2$;-OB(OR^o)$_2$;-P(R^o)$_2$;-P(OR^o)$_2$;-P(R^o)(OR^o);-OP(R^o)$_2$;-OP(OR^o)$_2$;-OP(R^o)(OR^o);-P(O)(R^o)$_2$;-P(O)(OR^o)$_2$;-OP(O)(R^o)$_2$;-OP(O)(OR^o)$_2$;-OP(O)(OR^o)(SR^o);-SP(O)(R^o)$_2$;-SP(O)(OR^o)$_2$;-N(R^o)P(O)(R^o)$_2$;-N(R^o)P(O)(OR^o)$_2$;-P(R^o)$_2$[B(R^o)$_3$];-P(OR^o)$_2$[B(R^o)$_3$];-OP(R^o)$_2$[B(R^o)$_3$];-OP(OR^o)$_2$[B(R^o)$_3$];-(C_{1-4}直链或支链亚烷基)O-N(R^o)$_2$;或-(C_{1-4}直链或支链亚烷基)C(O)O-N(R^o)$_2$,其中每个R^o可以如本文所定义取代且独立地是氢;C_{1-20}脂肪族;具有1-5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的C_{1-20}杂脂肪族;-CH_2-(C_{6-14}芳基);-O$(CH_2)_{0-1}$(C_{6-14}芳基);--CH_2-(5-14元杂芳基环);具有0-5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的5-20元单环、双环或多环的饱和环、部分不饱和环或芳基环;或者不管上述定义,两个独立出现的R^o与一个或多个居于它们之间的原子合在一起形成具有0-5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的5-20元单环、双环或多环的饱和环、部分不饱和环或芳基环,其可以如下文所定义取代。

[0123] R^o(或两个独立出现的R^o与居于它们之间的原子合在一起形成的环)上的合适单价取代基独立地是卤素、-$(CH_2)_{0-2}R^•$、-(卤代$R^•$)、-$(CH_2)_{0-2}$OH、-$(CH_2)_{0-2}OR^•$、-$(CH_2)_{0-2}$CH($OR^•$)$_2$;-O(卤代$R^•$)、-CN、-N_3、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)$R^•$、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)OH、-$(CH_2)_{0-2}$C(O)$OR^•$、-$(CH_2)_{0-2}SR^•$、-$(CH_2)_{0-2}$SH、-$(CH_2)_{0-2}NH_2$、-$(CH_2)_{0-2}NHR^•$、-$(CH_2)_{0-2}NR^•_2$、-NO_2、-$SiR^•_3$、-$OSiR^•_3$、-C(O)$SR^•$、-(C_{1-4}直链或支链亚烷基)C(O)$OR^•$或-$SSR^•$,其中每个$R^•$是未经取代的或在前面有"卤代"的情况下仅被一个或多个卤素取代,并且独立地选自C_{1-4}脂肪族基,-CH_2Ph,-O$(CH_2)_{0-1}$Ph,和具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。在R^o的饱和碳原子上的合适的二价取代基包括=O及=S。

[0124] 例如在合适的碳原子上的合适的二价取代基独立地是以下这些:=O、=S、=NNR^*_2、=NNHC(O)R^*、=NNHC(O)OR^*、=NNHS(O)$_2R^*$、=NR^*、=NOR^*、-O(C(R^*_2))$_{2-3}$O-、或-S(C(R^*_2))$_{2-3}$S-,其中每个独立出现的R^*选自氢,可以如下文所定义经取代的C_{1-6}脂肪族基,以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。与"任选地经取代的"基团的邻位可取代碳结合的合适的二价取代基包括:-O(CR^*_2)$_{2-3}$O-,其中每个独立出现的R^*选自氢、可以如下文所定义地被取代的C_{1-6}脂肪族,以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环和芳基环。

[0125] R^*的脂肪族基团上的合适取代基独立地是卤素、-$R^•$、-(卤代$R^•$)、-OH、-$OR^•$、-O(卤代$R^•$)、-CN、-C(O)OH、-C(O)$OR^•$、-NH_2、-$NHR^•$、-$NR^•_2$或-NO_2,其中每个$R^•$是未经取代的或在前面有"卤代"的情况下仅被一个或多个卤素取代,并且独立地是C_{1-4}脂肪族基,-CH_2Ph,-O$(CH_2)_{0-1}$Ph,或具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0126] 在一些实施例中，可取代氮上的合适取代基独立地是$-R^{\dagger}$、$-NR^{\dagger}_2$、$-C(O)R^{\dagger}$、$-C(O)OR^{\dagger}$、$-C(O)C(O)R^{\dagger}$、$-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$、$-S(O)_2R^{\dagger}$、$-S(O)_2NR^{\dagger}_2$、$-C(S)NR^{\dagger}_2$、$-C(NH)NR^{\dagger}_2$或$-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$；其中每个$R^{\dagger}$独立地是氢，可按以下定义经取代的$C_{1-6}$脂肪族基，未取代的-OPh或具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环，或尽管有上述定义，但两个独立出现的$R^{\dagger}$及其一个或多个居于它们之间的原子一起形成未取代的具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3-12元饱和的、部分不饱和的或芳基的单环或双环。

[0127] $R^{\dagger}$的脂肪族基团上的合适取代基独立地是卤素、-$R^{\bullet}$、-(卤代$R^{\bullet}$)、-OH、-$OR^{\bullet}$、-O(卤代$R^{\bullet}$)、-CN、-C(O)OH、-C(O)$OR^{\bullet}$、-NH_2、-$NHR^{\bullet}$、-$NR^{\bullet}_2$或-NO_2，其中每个$R^{\bullet}$是未经取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代，并且独立地是C_{1-4}脂肪族基，-CH_2Ph，-$O(CH_2)_{0-1}Ph$，或具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0128] P-修饰：如本文所用，术语“P-修饰”是指在键联磷处除立体化学修饰以外的任何修饰。在一些实施例中，P-修饰包含添加、取代或移除与键联磷共价附接的侧基部分。

[0129] 部分不饱和的：如本文使用，术语“部分不饱和的”是指包括至少一个双键或三键的环部分。术语“部分不饱和的”意在涵盖具有多个不饱和的位点的环，但是如在此定义的不意在包括芳基或杂芳基部分。

[0130] 药物组合物：如本文所用，术语“药物组合物”是指与一种或多种药学上可接受的载剂一起配制的活性剂。在一些实施例中，活性剂以适合于在治疗方案中施用的单位剂量存在，其显示当施用于相关群体时实现预定的治疗效果的统计学显著概率。在一些实施例中，药物组合物能以固体或液体形式被特别配制以进行施用，包括适用于以下的那些：口服施用，例如，浸液(drench)(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如，针对口腔、舌下和全身吸收的那些)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、糊剂(应用于舌)；肠胃外施用，例如，作为例如无菌溶液或悬浮液或持续释放的配制品通过皮下、肌内、静脉内或硬膜外注射；局部应用，例如，作为乳膏剂、软膏剂、或控制释放贴剂或喷雾剂应用于皮肤、肺或口腔；阴道内或直肠内，例如作为阴道栓剂、乳膏剂或泡沫剂；舌下；眼部；透皮；或经鼻、肺以及应用于其他粘膜表面。

[0131] 药学上可接受的：如本文所用，短语“药学上可接受的”是指在合理医学判断的范围内适合于与人和动物的组织接触使用而无过多毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症，与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0132] 药学上可接受的载剂：如本文所用，术语“药学上可接受的载剂”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂包封材料，其涉及将主题化合物从一个器官(或身体的一部分)携带或运输到另一个器官或身体的一部分。在与配制品的其他成分相容并且对患者无害的意义上，每种载剂必须是“可接受的”。可充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例包括：糖，如乳糖、葡萄糖和蔗糖；淀粉，如玉米淀粉和马铃薯淀粉；纤维素及其衍生物，如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸纤维素；粉状黄芪胶；麦芽；明胶；滑石；赋形剂，如可可脂和栓剂蜡；油，如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油；二醇，如丙二醇；多元醇，如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇；酯，如油酸乙酯和月桂酸乙酯；琼脂；缓冲剂，如氢氧化镁和氢氧化铝；海藻酸；无热原水；等渗

盐水;林格氏溶液;乙醇;pH缓冲溶液;聚酯、聚碳酸酯和/或聚酸酐;以及在药物配制品中采用的其他无毒相容的物质。

[0133] 药学上可接受的盐:如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指适合于在制药环境中使用的这样的化合物的盐,即,在合理医学判断的范围内,适合于与人和低等动物的组织接触使用而无不当毒性、刺激、过敏反应等并且与合理的效益/风险比相称的盐。药学上可接受的盐是本领域公知的。例如,S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences[药物科学杂志],66:1-19(1977)中详细地描述了药学上可接受的盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐包括但不限于无毒的酸加成盐,其是使用无机酸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸或使用有机酸如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸或通过使用本领域中所使用的其他方法如离子交换形成的具有氨基的盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐包括但不限于己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡糖酸盐、半硫酸盐(hemisulfate)、庚酸盐、己酸盐、氢碘化物、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐(lactobionate)、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。在一些实施例中,所提供的化合物(例如,寡核苷酸)包含一个或多个酸性基团,并且药学上可接受的盐是碱金属盐、碱土金属盐或铵盐(例如,$N(R)_3$的铵盐,其中每个R在本披露中被独立地定义和描述)。代表性碱金属或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钾盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钙盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐适当地包括使用平衡离子(如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、具有从1至6个碳原子的烷基、磺酸根以及芳基磺酸根)形成的无毒铵、季铵以及胺阳离子。在一些实施例中,所提供的化合物包含多于一个酸性基团,例如,寡核苷酸可以包含两个或更多个酸性基团(例如,天然磷酸酯键联和/或经修饰的核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的化合物的药学上可接受的盐(或者通常,盐)包含两个或更多个阳离子,该两个或更多个阳离子可以是相同的或不同的。在一些实施例中,在药学上可接受的盐(或通常,盐)中,酸性基团中的所有可电离的氢(例如,在pKa不超过约11、10、9、8、7、6、5、4、3、或2;在一些实施例中,不超过约7;在一些实施例中,不超过约6;在一些实施例中,不超过约5;在一些实施例中,不超过约4;在一些实施例中,不超过约3的水溶液中)被阳离子取代。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯和磷酸酯基团独立地以其盐形式存在(例如,如果是钠盐,则分别是-O-P(O)(SNa)-O-和-O-P(O)(ONa)-O-)。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键联独立地以其盐形式存在(例如,如果是钠盐,则分别是-O-P(O)(SNa)-O-和-O-P(O)(ONa)-O-)。在一些实施例中,药学上可接受的盐是寡核苷酸的钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是寡核苷酸的钠盐,其中每个酸性磷酸酯和经修饰的磷酸酯基团(例如,硫代磷酸酯,磷酸酯等)(如果有的话)以盐形式存在(所有均以钠盐)。

[0134] 预定的:“预定的”意指有意选择的或非随机的或控制的,例如与随机出现、随机或在无控制的情况下达成相反。阅读本说明书的本领域普通技术人员将理解,本披露提供了

以下技术,这些技术允许对将并入寡核苷酸组合物中的特定化学特征和/或立体化学特征进行选择且进一步允许具有这类化学特征和/或立体化学特征的寡核苷酸组合物的控制制备。这样的所提供的组合物是如本文所述的“预定的”。因为某些寡核苷酸通过不进行控制以有意产生特定化学特征和/或立体化学特征的过程而偶然产生,所以可能含有这些寡核苷酸的组合物不是“预定的”组合物。在一些实施例中,预定的组合物是可有意地复制(例如,通过对经控制的过程的重复)的组合物。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的预定水平意指组合物中该多个寡核苷酸的绝对量和/或相对量(比率、百分比等)是经控制的。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的预定水平通过手性控制的寡核苷酸制备而获得。

[0135] 保护基:如本文所用,术语“保护基”是本领域熟知的并且包括在Protecting Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基]T.W.Greene和P.G.M.Wuts,第3版,John Wiley&Sons[约翰威利父子公司],1999(其全部内容通过援引并入本文)中详细描述的那些。还包括那些特别适用于核苷和核苷酸化学的保护基,这些保护基在由Serge L.Beaucage等人在2012年6月编辑的Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry[核酸化学实验室指南]中描述,将章节2的全部内容通过援引并入本文。合适的氨基保护基包括氨基甲酸甲酯、氨基甲酸乙酯、氨基甲酸9-芴基甲酯(Fmoc)、氨基甲酸9-(2-磺基)芴基甲酯、氨基甲酸9-(2,7-二溴)芴基甲酯、氨基甲酸2,7-二叔丁酯-[9-(10,10-二氧代-10,10,10,10-四氢噻吨基)]甲酯(DBD-Tmoc)、氨基甲酸4-甲氧基苯甲酰甲酯(Phenoc)、氨基甲酸2,2,2-三氯乙酯(Troc)、氨基甲酸2-三甲基甲硅烷基乙酯(Teoc)、氨基甲酸2-苯基乙酯(hZ)、氨基甲酸1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙酯(Adpoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-卤代乙酯、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2-二溴乙酯(DB-t-BOC)、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙酯(TCBOC)、氨基甲酸1-甲基-1-(4-联苯基)乙酯(Bpoc)、氨基甲酸1-(3,5-二叔丁基苯基)-1-甲基乙酯(t-Bumeoc)、氨基甲酸2-(2′-和4′-吡啶基)乙酯(Pyoc)、氨基甲酸2-(N,N-二环己基甲酰胺基)乙酯、氨基甲酸叔丁酯(BOC)、氨基甲酸1-金刚烷基酯(Adoc)、氨基甲酸乙烯基酯(Voc)、氨基甲酸烯丙基酯(Alloc)、氨基甲酸1-异丙基烯丙基酯(Ipaoc)、氨基甲酸肉桂基酯(Coc)、氨基甲酸4-硝基肉桂基酯(Noc)、氨基甲酸8-喹啉基酯、氨基甲酸N-羟基哌啶基酯、氨基甲酸烷基二硫酯、氨基甲酸苄基酯(Cbz)、氨基甲酸对甲氧基苄基酯(Moz)、氨基甲酸对硝基苄基酯、氨基甲酸对溴苄基酯、氨基甲酸对氯苄基酯、氨基甲酸2,4-二氯苄基酯、氨基甲酸4-甲基亚磺酰基苄基酯(Msz)、氨基甲酸9-蒽基甲基酯、氨基甲酸二苯基甲基酯、氨基甲酸2-甲基硫代乙基酯、氨基甲酸2-甲基磺酰基乙基酯、氨基甲酸2-(对甲苯磺酰基)乙基酯、氨基甲酸[2-(1,3-二噻烷基)]甲基酯(Dmoc)、氨基甲酸4-甲基苯硫基酯(Mtpc)、氨基甲酸2,4-二甲基苯硫基酯(Bmpc)、氨基甲酸2-膦酰基乙酯(Peoc)、氨基甲酸2-三苯基膦酰异丙酯(Ppoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-氰乙基酯、氨基甲酸间氯对酰氧基苄基酯、氨基甲酸对(二羟基硼基)苄基酯、氨基甲酸5-苯并异噁唑基甲基酯、氨基甲酸2-(三氟甲基)-6-色酮基甲基酯(Tcroc)、氨基甲酸间硝基苯基酯、氨基甲酸3,5-二甲氧基苄基酯、氨基甲酸邻硝基苄基酯、氨基甲酸3,4-二甲氧基-6-硝基苄基酯、氨基甲酸苯基(邻硝基苯基)甲基酯、吩噻嗪基-(10)-羰基衍生物、N′-对甲苯磺酰基氨基羰基衍生物、N′-苯基氨基硫代羰基衍生物、氨基甲酸叔戊酯、硫代氨基甲酸S-苄基酯、氨基甲酸对氰基苄基酯、氨基甲酸环丁基酯、氨基甲酸环己基酯、氨基甲酸环戊基酯、氨基甲酸环丙基甲基酯、氨基甲酸对癸氧基

苄基酯、氨基甲酸2,2-二甲氧基羰基乙烯基酯、氨基甲酸邻-(N,N-二甲基甲酰胺基)苄基酯、氨基甲酸1,1-二甲基-3-(N,N-二甲基甲酰胺基)丙基酯、氨基甲酸1,1-二甲基丙炔基酯、氨基甲酸二(2-吡啶基)甲基酯、氨基甲酸2-呋喃基甲基酯、氨基甲酸2-碘乙基酯、氨基甲酸异冰片基酯、氨基甲酸异丁基酯、氨基甲酸异烟酯、氨基甲酸对(对′-甲氧基苯基偶氮)苄基酯、氨基甲酸1-甲基环丁基酯、氨基甲酸1-甲基环己基酯、氨基甲酸1-甲基-1-环丙基甲基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(3,5-二甲氧基苯基)乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(对苯基偶氮基苯基)乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-苯基乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(4-吡啶基)乙基酯、氨基甲酸苯基酯、氨基甲酸对(苯偶氮基)苄基酯、氨基甲酸2,4,6-三叔丁基苯基酯、氨基甲酸4-(三甲基铵)苄基酯、氨基甲酸2,4,6-三甲基苄基酯、甲酰胺、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、苯乙酰胺、3-苯基丙酰胺、吡啶酰胺、3-吡啶基甲酰胺、N-苯甲酰基苯基丙氨酰基衍生物、苯甲酰胺、对苯基苯甲酰胺、邻硝基苯基乙酰胺、邻硝基苯氧基乙酰胺、乙酰乙酰胺、(N′-二硫代苄氧基羰基氨基)乙酰胺、3-(对羟基苯基)丙酰胺、3-(邻硝基苯基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻硝基苯氧基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻苯基偶氮基苯氧基)丙酰胺、4-氯丁酰胺、3-甲基-3-硝基丁酰胺、邻硝基肉桂酰胺、N-乙酰基蛋氨酸衍生物、邻硝基苯甲酰胺、邻(苯甲酰基氧基甲基)苯甲酰胺、4,5-二苯基-3-噁唑啉-2-酮、N-邻苯二甲酰亚胺、N-二噻丁二酰亚胺(Dts)、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1,4,4-四甲基二甲硅烷基氮杂环戊烷加合物(STABASE)、5-取代的1,3-二甲基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、5-取代的1,3-二苄基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、1-取代的3,5-二硝基-4-吡啶酮、N-甲胺、N-烯丙胺、N-[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲胺(SEM)、N-3-乙酰氧基丙胺、N-(1-异丙基-4-硝基-2-氧代-3-吡咯啉-3-基)胺、季铵盐、N-苄基胺、N-二(4-甲氧基苯基)甲胺、N-5-二苯并环庚胺、N-三苯基甲胺(Tr)、N-[(4-甲氧基苯基)二苯基甲基]胺(MMTr)、N-9-苯基芴基胺(PhF)、N-2,7-二氯-9-芴基亚甲胺、N-二茂铁基甲基氨基(Fcm)、N-2-吡啶甲基氨基N′-氧化物、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-亚苄基胺、N-对甲氧基亚苄基胺、N-二苯基亚甲基胺、N-[(2-吡啶基)均三甲苯基]亚甲基胺、N-(N′,N′-二甲氨基亚甲基)胺、N,N′-异亚丙基二胺、N-对硝基亚苄基胺、N-亚水杨基胺、N-5-氯亚水杨基胺、N-(5-氯-2-羟基苯基)苯亚甲基胺、N-环亚己基胺、N-(5,5-二甲基-3-氧代-1-环己烯基)胺、N-硼烷衍生物、N-二苯基硼酸衍生物、N-[苯基(五羰基铬-或钨)羰基]胺、N-铜螯合物、N-锌螯合物、N-硝基胺、N-亚硝基胺、胺N-氧化物、二苯基膦酰胺(dpp)、二甲基硫代膦酰胺(Mpt)、二苯基硫代膦酰胺(Ppt)、二烷基氨基磷酸酯、二苄基氨基磷酸酯、二苯基氨基磷酸酯、苯亚磺酰胺、邻硝基苯亚磺酰胺(Nps)、2,4-二硝基苯亚磺酰胺、五氯苯亚磺酰胺、2-硝基-4-甲氧基苯亚磺酰胺、三苯基甲基亚磺酰胺、3-硝基吡啶亚磺酰胺(Npys)、对甲苯磺酰胺(Ts)、苯磺酰胺、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mtr)、2,4,6-三甲氧基苯磺酰胺(Mtb)、2,6-二甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Pme)、2,3,5,6-四甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mte)、4-甲氧基苯磺酰胺(Mbs)、2,4,6-三甲基苯磺酰胺(Mts)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯磺酰胺(iMds)、2,2,5,7,8-五甲基苯并二氢吡喃-6-磺酰胺(Pmc)、甲磺酰胺(Ms)、β-三甲基甲硅烷基乙磺酰胺(SES)、9-蒽磺酰胺、4-(4′,8′-二甲氧基萘基甲基)苯磺酰胺(DNMBS)、苄基磺酰胺、三氟甲基磺酰胺和苯甲酰甲基磺酰胺。

[0136] 适当保护的羧酸进一步包括但不限于甲硅烷基-、烷基-、烯基-、芳基-、和芳基烷基-保护的羧酸。合适的甲硅烷基基团的实例包括三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基联苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基等。合适的烷基基团的实例

包括甲基、苄基、对甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、三苯甲基、叔丁基、四氢吡喃-2-基。合适的烯基的实例包括烯丙基。合适的芳基的实例包括任选地经取代的苯基、联苯基、或萘基。合适的芳基烷基的实例包括任选地经取代的苄基(例如,对甲氧基苄基(MPM)、3,4-二甲氧基苄基、邻硝基苄基、对硝基苄基、对卤代苄基、2,6-二氯苄基、对氰基苄基),以及2-吡啶甲基和4-吡啶甲基。

[0137] 合适的羟基保护基包括甲基、甲氧基甲基(MOM)、甲基硫代甲基(MTM)、叔丁基硫代甲基、(苯基二甲基甲硅烷基)甲氧基甲基(SMOM)、苄氧基甲基(BOM)、对甲氧基苄氧基甲基(PMBM)、(4-甲氧基苯氧基)甲基(对-AOM)、愈创木酚甲基(GUM)、叔丁氧基甲基、4-戊烯基氧基甲基(POM)、甲硅烷氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、二(2-氯乙氧基)甲基、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEMOR)、四氢吡喃基(THP)、3-溴四氢吡喃基、四氢噻喃基、1-甲氧基环己基、4-甲氧基四氢吡喃基(MTHP)、4-甲氧基四氢噻喃基、4-甲氧基四氢噻喃基S,S-二氧化物、1-[(2-氯代-4-甲基)苯基]-4-甲氧基哌啶-4-基(CTMP)、1,4-二噁烷-2-基、四氢呋喃基、四氢噻吩基(tetrahydrothiofuranyl)、2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢-7,8,8-三甲基-4,7-桥亚甲基苯并呋喃-2-基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、1-甲基-1-甲氧基乙基、1-甲基-1-苄氧基乙基、1-甲基-1-苄氧基-2-氟乙基、2,2,2-三氯乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、2-(苯基氢硒基)乙基、叔丁基、烯丙基、对氯苯基、对甲氧基苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、对甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、邻硝基苄基、对硝基苄基、对卤代苄基、2,6-二氯苄基、对氰基苄基、对苯基苄基、2-吡啶甲基、4-吡啶甲基、3-甲基-2-吡啶甲基N-氧化基、二苯基甲基、p,p′-二硝基二苯甲基、5-二苯并环庚基、三苯基甲基、α-萘基二苯基甲基、对甲氧基苯基二苯基甲基、二(对甲氧基苯基)苯基甲基、三(对甲氧基苯基)甲基、4-(4′-溴苯酰基氧基苯基)二苯基甲基、4,4′,4″-三(4,5-二氯邻苯二甲酰亚胺基苯基)甲基、4,4′,4″-三(乙酰丙酰基氧基苯基)甲基、4,4′,4″-三(苯甲酰基氧基苯基)甲基、3-(咪唑-1-基)二(4′,4″-二甲氧基苯基)甲基、1,1-二(4-甲氧基苯基)-1′-芘基甲基、9-蒽基、9-(9-苯基)吨基、9-(9-苯基-10-氧代)蒽基、1,3-苯并二硫烷-2-基、苯并异噻唑基S,S-二氧化基、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TES)、三异丙基甲硅烷基(TIPS)、二甲基异丙基甲硅烷基(IPDMS)、二乙基异丙基甲硅烷基(DEIPS)、二甲基叔己基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、三苄基甲硅烷基、三对二甲苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、二苯基甲基甲硅烷基(DPMS)、叔丁基甲氧基苯基甲硅烷基(TBMPS)、甲酸酯、苯甲酰甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯(乙酰丙酸酯)、4,4-(亚乙基二硫代)戊酸酯(乙酰丙酰基二硫代乙缩醛)、新戊酸酯、金刚酸酯(adamantoate)、巴豆酸酯、4-甲氧基巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(菜酸酯(mesitoate))、烷基甲基碳酸酯、9-芴基甲基碳酸酯(Fmoc)、烷基乙基碳酸酯、烷基2,2,2-三氯乙基碳酸酯(Troc)、2-(三甲基甲硅烷基)乙基碳酸酯(TMSEC)、2-(苯基磺酰基)乙基碳酸酯(Psec)、2-(三苯基磷鎓基)乙基碳酸酯(Peoc)、烷基异丁基碳酸酯、烷基乙烯基碳酸酯、烷基烯丙基碳酸酯、烷基对硝基苯基碳酸酯、烷基苄基碳酸酯、烷基对甲氧基苄基碳酸酯、烷基3,4-二甲氧基苄基碳酸酯、烷基邻硝基苄基碳酸酯、烷基对硝基苄基碳酸酯、烷基S-苄基硫代碳酸酯、4-乙氧基-1-萘基碳酸酯、二硫代碳酸甲酯、2-碘苯甲酸酯、4-叠氮基丁酸酯、4-硝基-4-甲基戊酸酯、邻-(二溴

甲基)苯甲酸酯、2-甲酰基苯磺酸酯、2-(甲硫基甲氧基)乙基、4-(甲硫基甲氧基)丁酸酯、2-(甲硫基甲氧基甲基)苯甲酸酯、2,6-二氯-4-甲基苯氧基乙酸酯、2,6-二氯-4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基乙酸酯、2,4-二(1,1-二甲基丙基)苯氧基乙酸酯、氯二苯基乙酸酯、异丁酸酯、单琥珀酸酯、(E)-2-甲基-2-丁烯酸酯、对-(甲氧基羰基)苯甲酸酯、α-萘甲酸酯、硝酸酯、烷基N,N,N′,N′-四甲基二氨基磷酸酯、烷基N-苯基氨基甲酸酯、硼酸酯、二甲基硫膦基、烷基2,4-二硝基苯基次磺酸酯、硫酸酯、甲磺酸酯(methanesulfonate、mesylate)、苄基磺酸酯以及甲苯磺酸酯(Ts)。为了保护1,2-二醇或1,3-二醇,保护基包括亚甲基缩醛、亚乙基缩醛、1-叔丁基亚乙基缩酮、1-苯基亚乙基缩酮、(4-甲氧基苯基)亚乙基缩醛、2,2,2-三氯亚乙基缩醛、缩丙酮、亚环戊基缩酮、亚环己基缩酮、亚环庚基缩酮、亚苄基缩醛、对-甲氧基亚苄基缩醛、2,4-二甲氧基亚苄基缩酮、3,4-二甲氧基亚苄基缩醛、2-硝基亚苄基缩醛、甲氧基亚甲基缩醛、乙氧基亚甲基缩醛、二甲氧基亚甲基原酸酯、1-甲氧基亚乙基原酸酯、1-乙氧基亚乙基原酸酯、1,2-二甲氧基亚乙基原酸酯、α-甲氧基亚苄基原酸酯、1-(N,N-二甲基氨基)亚乙基衍生物、α-(N,N’-二甲基氨基)亚苄基衍生物、2-氧杂亚环戊基原酸酯、二-叔丁基亚甲硅烷基基团(DTBS)、1,3-(1,1,3,3-四异丙基二硅氧烷亚基)衍生物(TIPDS)、四-叔丁氧基二硅氧烷-1,3-二亚基衍生物(TBDS)、碳酸酯、环硼酸酯、乙基硼酸酯、和苯基硼酸酯。

[0138] 在一些实施例中,羟基保护基是乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、联苯基甲基、对硝基苄基、三苯基甲基(三苯甲基)、4,4′-二甲氧基三苯甲基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基联苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-芴基甲基碳酸酯、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、三氟甲磺酸酯、三苯甲基、单甲氧基三苯甲基(MMTr)、4,4′-二甲氧基三苯甲基(DMTr)和4,4′,4″-三甲氧基三苯甲基(TMTr)、2-氰基乙基(CE或Cne)、2-(三甲基甲硅烷基)乙基(TSE)、2-(2-硝基苯基)乙基、2-(4-氰基苯基)乙基、2-(4-硝基苯基)乙基(NPE)、2-(4-硝基苯基磺酰基)乙基、3,5-二氯苯基、2,4-二甲基苯基、2-硝基苯基、4-硝基苯基、2,4,6-三甲基苯基、2-(2-硝基苯基)乙基、丁基硫代羰基、4,4′,4″-三(苯甲酰基氧基)三苯甲基、联苯基氨基甲酰基、乙酰丙酰基、2-(二溴甲基)苯甲酰基(Dbmb)、2-(异丙基硫代甲氧基甲基)苯甲酰基(Ptmt)、9-苯基氧杂蒽-9-基(苯基呫吨基(pixyl))或9-(对甲氧基苯基)黄嘌呤-9-基(MOX)。在一些实施例中,羟基保护基各自独立地选自乙酰基、苄基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基联苯基甲硅烷基和4,4′-二甲氧基三苯甲基。在一些实施例中,羟基保护基选自下组,该组由以下组成:三苯甲基、单甲氧基三苯甲基和4,4′-二甲氧基三苯甲基。在一些实施例中,磷键联保护基是在整个寡核苷酸合成中与磷键联(例如,核苷酸间键联)附接的基团。在一些实施例中,保护基与硫代磷酸酯基团的硫原子附接。在一些实施例中,保护基与核苷酸间硫代磷酸酯键联的氧原子附接。在一些实施例中,保护基与核苷酸间磷酸酯键联的氧原子附接。在一些实施例中,保护基是2-氰基乙基(CE或Cne)、2-三甲基甲硅烷基乙基、2-硝基乙基、2-磺酰基乙基、甲基、苄基、邻硝基苄基、2-(对硝基苯基)乙基(NPE或Npe)、2-苯基乙基、3-(N-叔丁基甲酰胺基)-1-丙基、4-氧代戊基、4-甲硫基-1-丁基、2-氰基-1,1-二甲基乙基、4-N-甲基氨基丁基、3-(2-吡啶基)-1-丙基、2-[N-甲基-N-(2-吡啶基)]氨基乙

基、2-(N-甲酰基,N-甲基)氨基乙基、或4-[N-甲基-N-(2,2,2-三氟乙酰基)氨基]丁基。

[0139] 受试者:如本文所用,术语“受试者”或“测试受试者”是指任何生物体,根据本披露向该生物体施用化合物(例如,寡核苷酸)或组合物,例如用于实验、诊断、预防和/或治疗目的。典型的受试者包括动物(例如,哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物、和人;昆虫;蠕虫;等)和植物。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者可能患有和/或易患疾病、障碍和/或病症。

[0140] 基本上:如本文所用,术语“基本上”是指展示出一个所感兴趣的特征或特性的总体的或接近总体的范围或程度的定性的状态。与第二序列基本上相同或互补的碱基序列与第二序列不完全相同或互补,但与第二序列大部分或几乎相同或互补。在一些实施例中,具有与另一寡核苷酸或核酸基本上互补的序列的寡核苷酸以与具有完全互补序列的寡核苷酸类似的方式与该寡核苷酸或核酸形成双链体。此外,生物和/或化学领域的普通技术人员应当理解的是生物学和化学现象(如果有的话)很少会达到完成和/或进行到完成或实现或避免绝对的结果。因此,术语“基本上”被用在此处用来获得在许多生物学和/或化学现象中潜在地缺少的内在的完全性。

[0141] 糖:术语“糖”是指呈封闭和/或开放形式的单糖或多糖。在一些实施例中,糖是单糖。在一些实施例中,糖是多糖。糖包括但不限于核糖、脱氧核糖、戊呋喃糖、戊吡喃糖和己吡喃糖部分。如本文所用,术语“糖”还涵盖用于代替常规糖分子的结构类似物,诸如乙二醇、形成核酸类似物的骨架的聚合物、乙二醇核酸(“GNA”)等。如本文所用,术语“糖”还涵盖用于代替天然的核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物,诸如经修饰的糖和核苷酸糖。在一些实施例中,糖是RNA或DNA糖(核糖或脱氧核糖)。在一些实施例中,糖是经修饰的核糖或脱氧核糖,例如2′-修饰的,5′-修饰的等。如本文所述,在一些实施例中,当用于寡核苷酸和/或核酸时,经修饰的糖可以提供一种或多种所需的特性、活性等。在一些实施例中,糖是任选地经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,“糖”是指寡核苷酸或核酸中的糖单元。

[0142] 易患:“易患”疾病、障碍和/或病症的个体是比一般公众成员具有更高的发展疾病、障碍和/或病症的风险的个体。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体有患该疾病、障碍和/或病症的倾向。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体可以未被诊断出患有该疾病、障碍和/或病症。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体可以表现出该疾病、障碍和/或病症的症状。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体可以不表现出该疾病、障碍和/或病症的症状。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体将会发展出该疾病、障碍和/或病症。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体将不会发展出该疾病、障碍和/或病症。

[0143] 治疗剂:如本文所用,术语“治疗剂”通常是指当施用于受试者时引起期望的作用(例如,期望的生物学、临床或药理作用)的任何药剂。在一些实施例中,如果药剂在整个合适群体中表现出统计学上显著的作用,则认为该药剂是治疗剂。在一些实施例中,合适的人群是患有和/或易患疾病、障碍或病症的受试者的群体。在一些实施例中,合适的群体是模型生物体的群体。在一些实施例中,可以通过一项或多项标准来定义合适的群体,这些标准如为年龄组、性别、遗传背景、在接受疗法之前预先存在的临床病症。在一些实施例中,当以有效量向受试者施用时,治疗剂是减轻以下,改善以下,缓解以下,抑制以下,预防以下,延迟以下的发作,降低以下的严重性和/或降低以下的发生率的物质:受试者中的疾病、障碍

和/或病症的一种或多种症状或特征。在一些实施例中，“治疗剂”是在可以被销售施用于人之前已经或需要被政府机构批准的药剂。在一些实施例中，“治疗剂”是需要药物处方才能施用于人的药剂。在一些实施例中，治疗剂是所提供的化合物，例如所提供的寡核苷酸。

[0144] 治疗有效量：如本文所用，术语“治疗有效量”意指当作为治疗方案的一部分施用时引发所希望的生物反应的物质（例如，治疗剂、组合物和/或配制品）的量。在一些实施例中，物质的治疗有效量是当施用于患有或易患疾病、障碍和/或病症的受试者时，足以治疗、诊断、预防、和/或延迟疾病、障碍和/或病症的发作的量。如本领域的普通技术人员将理解，物质的有效量可以取决于以下这类因素而变化：如所需的生物学终点、待递送的物质、靶细胞或组织等。例如，用于治疗疾病、障碍、和/或病症的配制品中化合物的有效量是缓解、改善、减轻、抑制、预防、延迟疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的发作，降低疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的严重程度，和/或降低疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的发生率的量。在一些实施例中，以单个剂量施用治疗有效量；在一些实施例中，需要多个单位剂量来递送治疗有效量。

[0145] 治疗：如本文所用，术语“治疗（treat、treatment、或treating）”是指用于部分地或完全缓解、改善、减轻、抑制、预防、延迟疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的发作，降低疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的严重程度，和/或降低疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的发生率的任何方法。治疗可以施用于未表现出疾病、障碍和/或病症的迹象的受试者。在一些实施例中，治疗可以施用给仅表现出疾病、障碍和/或病症的早期迹象的受试者，例如出于降低与疾病、障碍和/或病症相关联的病理学风险的目的。

[0146] 不饱和的：如本文所用，术语“不饱和的”意指具有一个或多个不饱和单元的部分。

[0147] 野生型：如本文所用，术语“野生型”具有其本领域理解的含义，其是指具有如在“正常”（与突变体、患病、改变等对比）状态或背景中在自然界中发现的结构和/或活性的实体。本领域普通技术人员将理解，野生型基因和多肽通常以多种不同形式（例如，等位基因）存在。

[0148] 如本领域技术人员将理解的，本文描述的涉及所提供的化合物（例如，寡核苷酸）的方法和组合物通常也适用于这样的化合物的药学上可接受的盐。

某些实施例的描述

[0149] 寡核苷酸可用于多种治疗、诊断和研究应用。天然存在的核酸的用途受到例如它们对内切和外切核酸酶的敏感性的限制。这样，已经开发了多种合成的对应物来规避这些缺点和/或进一步改善多种特性和活性。这些合成对应物包括含有化学修饰的合成寡核苷酸，这些化学修饰例如为碱基修饰、糖修饰、骨架修饰等，其尤其使得这些分子不太容易降解且改善了寡核苷酸的其他特性和/或活性。

[0150] 从结构的角度来看，对核苷酸间键联的修饰会引入手性，并且某些特性和活性可能会受到寡核苷酸的键联磷原子构型的影响。例如，骨架键联磷原子的手性尤其会影响结合亲和力、与互补RNA的序列特异性结合、对核酸酶的稳定性、活性、递送、药代动力学等。

[0151] 尤其是，本披露利用用于控制各种结构元件，例如糖修饰及其模式、核碱基修饰及其模式、经修饰的核苷酸间键联及其模式、键联磷立体化学及其模式、另外的化学部分（典型地不在寡核苷酸链中的部分）及其模式等的技术。在具有完全控制寡核苷酸的结构元件

的能力的情况下,本披露提供了具有用于各种应用(例如,作为治疗剂、探针等)的改善的和/或新的特性和/或活性的寡核苷酸。例如,如本文所展示的,所提供的寡核苷酸及其组合物对于编辑靶核酸中的靶腺苷以在一些实施例中通过将A转化成I来校正G至A突变是特别有效的。

[0152] 在一些实施例中,寡核苷酸包含与核酸(例如,DNA、前体mRNA、mRNA等)的4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60,典型地15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个连续碱基相同或者完全或基本上互补的序列。在一些实施例中,核酸是包含一个或多个靶腺苷的靶核酸。在一些实施例中,靶核酸包含一个且不多于一个靶腺苷。在一些实施例中,寡核苷酸可与靶核酸杂交。在一些实施例中,这样的杂交有利于核酸或其产物中的A被例如ADAR1、ADAR2等修饰(例如,将A转化成I)。

[0153] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有碱基序列,该碱基序列是或包含本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸或核酸的约10-40、约15-40、约20-40、或至少27、至少28、至少29、至少30、至少31、至少32、至少33、至少34个连续碱基,或与本文披露的靶RNA序列基因、转录物等互补的序列,并且其中每个T可以任选地并且独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供了如本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸或寡核苷酸组合物。

[0154] 在一些实施例中,寡核苷酸是用于在靶核酸(例如,RNA)中定点编辑核苷(例如,靶腺苷)的单链寡核苷酸。

[0155] 如本文所述,寡核苷酸可以含有一个或多个经修饰的核苷酸间键联(非天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联,其键联磷是手性的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、天然磷酸酯键联等)。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个中性核苷酸间键联。

[0156] 在一些实施例中,寡核苷酸是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸是手性纯的(或“立体异构体”,“立体化学纯的”),其中寡核苷酸以单一立体异构体形式存在(在许多情况下是单一非对映异构(或“非对映”)形式,因为寡核苷酸中可以存在多个手性中心,例如在键联磷,糖碳等处)。如本领域技术人员所理解的,手性纯的寡核苷酸与它的其他立体异构形式分离(其程度是,可能存在一些杂质,因为化学和生物过程、选择性和/或纯化等,很少(如果有的话)达到绝对完全性)。在手性纯的寡核苷酸中,每个手性中心就其构型而言是独立地限定的(对于手性纯的寡核苷酸,每个核苷酸间键联是独立地立体限定的或手性控制的)。与包含立体定义的键联磷的手性控制和手性纯的寡核苷酸相反,包含手性键联磷的“外消旋”(或“立体随机”,“非手性控制”)的寡核苷酸(例如,来自传统的亚磷酰胺寡核苷酸合成,其中在偶联步骤中无立体化学控制并与传统的硫化作用组合(形成立体随机的硫代磷酸酯核苷酸间键联)指各种立体异构体(典型地非对映异构体(或“非对映体”)的随机混合物,因为在寡核苷酸中有多个手性中心;例如,来自使用除了核苷和键联磷中的手性元素

不含手性元素的试剂进行传统的寡核苷酸的制备)。例如,对于其中＊是硫代磷酸酯核苷酸间键联(其包含手性键联磷)的A＊A＊A,外消旋寡核苷酸制备物包括四个非对映体[2^2=4,考虑到两个手性键联磷,它们各自可以两种构型(Sp或Rp)之一存在]:A＊S A＊S A、A＊S A＊R A、A＊R A＊S A和A＊R A＊R A,其中＊S代表Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,＊R代表Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。对于手性纯的寡核苷酸,例如A＊S A＊S A,它以单一的立体异构形式存在,并且与其他立体异构体(例如,非对映体A＊S A＊R A、A＊R A＊S A和A＊R A＊R A)分开。

[0157] 在一些实施例中,寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个立体随机核苷酸间键联(在核苷酸间键联处的Rp和Sp键联磷的混合物,例如来自传统的非手性控制的寡核苷酸合成)。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个)手性控制的核苷酸间键联(在核苷酸间键联处的Rp或Sp键联磷,例如来自手性控制的寡核苷酸合成)。在一些实施例中,核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0158] 尤其是,本披露提供了用于制备手性控制的(在一些实施例中,为立体化学纯的)寡核苷酸的技术。在一些实施例中,寡核苷酸是立体化学纯的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸为约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%立体化学纯的。

[0159] 在一些实施例中,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是立体随机或不是手性控制的。在一些实施例中,在所提供的组合物的寡核苷酸中不存在手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,组合物中寡核苷酸的核苷酸间键联包含一个或多个手性控制的核苷酸间键联(例如,手性控制的寡核苷酸组合物)。

[0160] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,其中寡核苷酸中的一个或多个核苷酸间键联是手性控制的,并且一个或多个核苷酸间键联是立体随机的(非手性控制的)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,其中寡核苷酸中包含手性键联磷的每个核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的碱基序列,以及相同的碱基和糖修饰。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的碱基序列,以及相同的碱基、糖和核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含具有相同组成的寡核苷酸,其中一个或多个核苷酸间键联是手性控制的,并且一个或多个核苷酸间键联是立体随机的(非手性控制的)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含具有相同组成的寡核苷酸,其中包含手性键联磷的每个核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有寡核苷酸或具有共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是该多个寡核苷酸。

[0161] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备、评估和/或利用所提供的寡核苷酸及其组合物的技术。

[0162] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“一个或多个”是1-200、1-150、1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-40、1-30,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个。在一些实施例中,“一个或多个”是一个。在一些实施例中,“一个或多个”是两个。在一些实施例中,“一个或多个”是三个。在一些实施例中,“一个或多个”是四个。在一些实施例中,“一个或多个”是五个。在一些实施例中,“一个或多个”是六个。在一些实施例中,“一个或多个”是七个。在一些实施例中,“一个或多个”是八个。在一些实施例中,“一个或多个”是九个。在一些实施例中,“一个或多个”是十个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少一个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少两个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少三个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少四个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少五个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少六个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少七个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少八个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少九个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少十个。

[0163] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“至少一个”是一个或多个。

[0164] 作为实例,描述了变量例如R、R^L、L等的各种实施例。针对变量(例如R)描述的实施例通常适用于可以是这样的变量的所有变量(例如,R’、R”、R^L、R^{L1}等)。

寡核苷酸

[0165] 尤其是,本披露提供了具有多种设计的寡核苷酸,其可包含本披露中描述的多种核碱基及其模式、糖及其模式、核苷酸间键联及其模式和/或另外的化学部分及其模式。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可指导靶核酸中的A至I编辑。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸是能够在靶RNA序列中定点编辑腺苷(将A转化成I)的单链寡核苷酸。

[0166] 在一些实施例中,寡核苷酸具有合适的长度和序列互补性以与靶核酸特异性杂交。在一些实施例中,寡核苷酸足够长并且与靶核酸足够互补以将靶核酸与其他核酸区分开来从而降低脱靶效应。在一些实施例中,寡核苷酸足够短以有利于递送,降低制造复杂性和/或成本,从而维持所需的特性和活性(例如,腺苷的编辑)。

[0167] 在一些实施例中,寡核苷酸具有约10-200个(例如,约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200、10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列的长度为约10-60个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15-50个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约25至约34个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约26至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约27至约32个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约29至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、

26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为35个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为34个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为33个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为32个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为31个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为30个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为29个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为28个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为27个核碱基。在一些其他实施例中，碱基序列的长度为或至少为26个核碱基。在一些其他实施例中，双链体中互补部分的碱基序列的长度为至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、16、27、28、29、30、31、32、33、34、35个或更多个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少18个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少19个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少20个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少21个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少22个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少23个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少24个核碱基。在一些其他实施例中，其长度为至少25个核碱基。尤其是，本披露提供了与先前报道的腺苷编辑寡核苷酸相比具有相当的或更好的特性和/或相当的或更高的活性但长度更短的寡核苷酸。

[0168] 在一些实施例中，寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列互补(例如，与靶核酸的包含靶腺苷的一部分互补)，具有0-10个(例如，0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10，0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对(AT、AU和CG)的错配。在一些实施例中，不存在错配。在一些实施例中，存在1个错配。在一些实施例中，存在2个错配。在一些实施例中，存在3个错配。在一些实施例中，存在4个错配。在一些实施例中，存在5个错配。在一些实施例中，存在6个错配。在一些实施例中，存在7个错配。在一些实施例中，存在8个错配。在一些实施例中，存在9个错配。在一些实施例中，存在10个错配。在一些实施例中，寡核苷酸可以含有不是为互补性而设计的部分(例如，环、蛋白结合序列等，用于募集蛋白，例如ADAR)。如本领域技术人员将理解的，当计算错配和/或互补性时，可以适当地排除这样的部分。在一些实施例中，例如寡核苷酸与靶核酸之间的互补性为约50%-100%(例如，约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。在一些实施例中，互补性为至少约60%。在一些实施例中，互补性为至少约65%。在一些实施例中，互补性为至少约70%。在一些实施例中，互补性为至少约75%。在一些实施例中，互补性为至少约80%。在一些实施例中，互补性为至少约85%。在一些实施例中，互补性为至少约90%。在一些实施例中，互补性为至少约95%。在一些实施例中，在寡核苷酸的长度上互补性为100%。在一些实施例中，在寡核苷酸的长度上，除在与靶核苷(例如，腺苷)相反的核苷处，互补性为100%。典型地，互补性基

于沃森-克里克碱基对AT、AU和CG。本领域技术人员将理解,当评估不同长度的两个序列(例如,所提供的寡核苷酸和靶核酸)的互补性时,互补性可适当地基于较短序列的长度和/或两个序列之间的最大互补性。在许多实施例中,寡核苷酸和靶核酸具有足够的互补性,使得修饰选择性地针对靶腺苷位点。

[0169] 在一些实施例中,一个或多个错配独立地是摆动。在一些实施例中,每个错配是摆动。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,摆动是G-U、I-A、G-A、I-U、I-C、I-T、A-A或反向A-T。在一些实施例中,摆动是G-U、I-A、G-A、I-U或I-C。在一些实施例中,当I是与靶核苷相反的核苷相邻的3’紧邻核苷时,I-C可以被认为是匹配。在一些实施例中,形成摆动对的碱基(例如,可以形成G-U摆动的U)可以取代形成匹配对的碱基(例如,与G匹配的C)并且可以提供具有编辑活性的寡核苷酸。

[0170] 在一些实施例中,寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0171] 在一些实施例中,两个错配之间、错配和寡核苷酸(或其部分,例如第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域)的一端或两端之间和/或错配和与靶腺苷相反的核苷之间的距离可独立地是0-50、0-40、0-30、0-25、0-20、0-15、0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35个)核碱基(不包括错配、末端核苷和与靶腺苷相反的核苷)。在一些实施例中,数目为0-30。在一些实施例中,数目为0-20。在一些实施例中,数目为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些实施例中,两个错配之间的距离为0-20。在一些实施例中,两个错配之间的距离为1-10。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的5′-末端核苷之间的距离为0-20。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的5′-末端核苷之间的距离为5-20。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的3′-末端核苷之间的距离为0-40。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的3′-末端核苷之间的距离为5-20。在一些实施例中,错配和与靶腺苷相反的核苷之间的距离为0-20。在一些实施例中,错配和与靶腺苷相反的核苷之间的距离为1-10。在一些实施例中,对于一定距离,核碱基的数目为0。在一些实施例中,其为1。在一些实施例中,其为2。在一些实施例中,其为3。在一些实施例中,其为4。在一些实施例中,其为5。在一些实施例中,其为6。在一些实施例中,其为7。在一些实施例中,其为8。在一些实施例中,其为9。在一些实施例中,其为10。在一些实施例中,其为11。在一些实施例中,其为12。在一些实施例中,其为13。在一些实施例中,其为14。在一些实施例中,其为15。在一些实施例中,其

为16。在一些实施例中,其为17。在一些实施例中,其为18。在一些实施例中,其为19。在一些实施例中,其为20。在一些实施例中,错配位于第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域或第三子结构域的末端,例如5′-末端或3′-末端。在一些实施例中,错配位于与靶腺苷相反的核苷处。

[0172] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以指导靶核酸中的腺苷编辑(例如,将A转化成I)并且具有由本文披露的寡核苷酸的碱基序列组成、包含该碱基序列或包含该碱基序列的一部分(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或更多个连续碱基的跨度)的碱基序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然,并且该寡核苷酸包含碱基、糖和/或核苷酸间键联的至少一种非天然存在的修饰。

[0173] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个碳水化合物部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个GalNAc部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个靶向部分。本文描述了可以与寡核苷酸链缀合的这样的另外的化学部分的非限制性实例。

[0174] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。在一些实施例中,G至A突变的校正是或包括将A转化成I,其可以在翻译或其他生物过程中被读作G。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可经由ADAR介导的脱氨来指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可通过募集内源性ADAR(例如,在靶细胞中)并且促进ADAR介导的脱氨而经由ADAR介导的脱氨来指导靶序列或其产物中的G至A突变的校正。然而,无论如何,本披露不限于任何特定机制。在一些实施例中,本披露提供了能够经由双链RNA干扰、单链RNA干扰、RNA酶H介导的敲低、翻译的空间位阻、ADAR介导的脱氨、或两个或更多个这样的机制的组合操作的寡核苷酸、组合物、方法等。

[0175] 在一些实施例中,寡核苷酸包含本文例如在表中所述的结构元件或其部分。在一些实施例中,寡核苷酸具有包含该碱基序列(或其部分)的碱基序列(其中每个T可以独立地被U取代),化学修饰模式(或其一部分)和/或本文中所披露的(例如,在表或图中,或本文以其他方式披露的)寡核苷酸的形式。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。

[0176] 尤其是,所提供的寡核苷酸可与其靶核酸(例如,前体mRNA、成熟mRNA等)杂交。在一些实施例中,寡核苷酸可以在RNA加工的任何阶段与靶RNA序列核酸(包括但不限于前体mRNA或成熟mRNA)杂交。在一些实施例中,寡核苷酸可与寡核苷酸核酸或其互补序列的任何元件杂交,包括但不限于:启动子区域、增强子区域、转录终止区域、翻译起始信号、翻译终止信号、编码区、非编码区、外显子、内含子、内含子/外显子或外显子/内含子连接,5′UTR或3′UTR。

[0177] 在一些实施例中,寡核苷酸与来源于靶位点(例如,靶序列)的有义链的转录物的两个或更多个变体杂交。

[0178] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸含有水平增加的一种或多种同位素。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸被例如一种或多种元素(例如氢、碳、氮等)的一种或多种同位素标记。在一些实施例中,所提供组合物中的所提供寡核苷酸(例如多个组合物的寡核苷酸)包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰,其中这些寡核苷酸含有富集水平的氘。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在一个或多个位置被氘标记(用-^{2}H代替-^{1}H)。在一些实

施例中,寡核苷酸链或与该寡核苷酸链缀合的任何部分(例如,靶向部分等)的一个或多个^{1}H被^{2}H取代。这样的寡核苷酸可用于本文所述的组合物和方法中。

[0179] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如本文所述的一个或多个经修饰的核碱基、一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一定水平的经修饰的核碱基、经修饰的糖和/或经修饰的核苷酸间键联,例如分别为寡核苷酸内的所有核碱基、糖和核苷酸间键联的约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。

[0180] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约2-50个(例如约2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,2-40、2-30、2-25、2-20、2-15、2-10、3-40、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-40、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、6-40、6-30、6-25、6-20、6-15、6-10、7-40、7-30、7-25、7-20、7-15、7-10、8-40、8-30、8-25、8-20、8-15、8-10、9-40、9-30、9-25、9-20、9-15、9-10、10-40、10-30、10-25、10-20、10-15个,约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的连续的经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含2个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含3个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含4个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含5个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含6个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含7个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含8个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含9个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含10个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个2'-F修饰的糖嵌段,其中2'-F修饰的糖嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F修饰的糖嵌段独立地包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的如本文所述的2'-F修饰的糖或由其组成。在一些实施例中,两个连续的2'-F修饰的糖嵌段独立地被分离嵌段分离,该分离嵌段包含独立地不是2'-F修饰的糖的一个或多个糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、

18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分离嵌段。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分离嵌段。在一些实施例中,与第一结构域2'-F嵌段键合的每个第一结构域嵌段是分离嵌段。在一些实施例中,与第一结构域分离嵌段键合的每个第一结构域嵌段是第一结构域2'-F嵌段。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地未被2'-F修饰。在一些实施例中,分离嵌段中的两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)或所有糖独立地未被2'-F修饰。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)和/或一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)(例如2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,两个或更多个非-2'-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,两个或更多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2'-OMe、2'-MOE等))是连续的。在一些实施例中,分离嵌段包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2'-OMe、2'-MOE等))。在一些实施例中,分离嵌段包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)连续的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2'-OMe、2'-MOE等))。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE糖。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的2'-F修饰的糖均不彼此相邻。在一些实施例中,分离嵌段不含有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段包含2'-OMe糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分离嵌段独立地含有1、2、3、4、或5个核苷。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分离嵌段独立地含有1、2或3个核苷。

[0181] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-

95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等是经修饰的糖。在一些实施例中,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等的所有糖是经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,百分比是约或至少约30%。在一些实施例中,百分比是约或至少约40%。在一些实施例中,百分比是约或至少约50%。在一些实施例中,百分比是约或至少约60%。在一些实施例中,百分比是约或至少约70%。在一些实施例中,百分比是约或至少约80%。在一些实施例中,百分比是约或至少约90%。在一些实施例中,百分比是约或至少约95%。

[0182] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等是经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖和2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等是经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,百分比是约或至少约30%。在一些实施例中,百分比是约或至少约40%。在一些实施例中,百分比是约或至少约50%。在一些实施例中,百分比是约或至少约60%。在一些实施例中,百分比是约或至少约70%。在一些实施例中,百分比是约或至少约80%。在一些实施例中,百分比是约或至少约90%。在一些实施例中,百分比是约或至少约95%。

[0183] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-

95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等是经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖和2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,百分比是约或至少约30％。在一些实施例中,百分比是约或至少约40％。在一些实施例中,百分比是约或至少约50％。在一些实施例中,百分比是约或至少约60％。在一些实施例中,百分比是约或至少约70％。在一些实施例中,百分比是约或至少约80％。在一些实施例中,百分比是约或至少约90％。在一些实施例中,百分比是约或至少约95％。

[0184] 在一些实施例中,所有糖中的约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,百分比是约或至少约30％。在一些实施例中,百分比是约或至少约40％。在一些实施例中,百分比是约或至少约50％。在一些实施例中,百分比是约或至少约60％。在一些实施例中,百分比是约或至少约70％。在一些实施例中,百分比是约或至少约80％。在一些实施例中,百分比是约或至少约90％。在一些实施例中,百分比是约或至少约95％。在一些实施例中,10个或更多个(例如约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,10-50、10-40、10-30、10-25、15-50、15-40、15-30、15-25、20-50、20-40、20-30、20-25个等)糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个(例如2-30、2-25、2-20、2-15、3-10、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10个,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个2'-F嵌段,每个独立地包含两个或更多个(例如2-30、2-25、2-20、2-15、3-10、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10个,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含如本文所述的两个或更多个2'-F嵌段,这些2'-F嵌段被如本文所述的一个或多个分离嵌段分离。在一些实施例中,2'-F嵌段具有2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,2'-F嵌段具有不超过2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过9个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过8个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过7个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个

2'-F嵌段独立地具有不超过6个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖均是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过4个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是不包含2'-F修饰的糖的嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖的嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖或双环糖的嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖的嵌段。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0185] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,百分比是约或至少约30%。在一些实施例中,百分比是约或至少约40%。在一些实施例中,百分比是约或至少约50%。在一些实施例中,百分比是约或至少约60%。在一些实施例中,百分比是约或至少约70%。在一些实施例中,百分比是约或至少约80%。在一些实施例中,百分比是约或至少约90%。在一些实施例中,百分比是约或至少约95%。

[0186] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-

80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,百分比是约或至少约30％。在一些实施例中,百分比是约或至少约40％。在一些实施例中,百分比是约或至少约50％。在一些实施例中,百分比是约或至少约60％。在一些实施例中,百分比是约或至少约70％。在一些实施例中,百分比是约或至少约80％。在一些实施例中,百分比是约或至少约90％。在一些实施例中,百分比是约或至少约95％。

[0187] 在一些实施例中,所有糖中的约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,所有糖中的约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等是2'-MOE修饰的糖。

[0188] 在一些实施例中,前(5'-末端)一个或几个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个,或1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、2-10、2-9、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4个等)和/或后(3'-末端)一个或几个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个,或1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、2-10、2-9、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4个等)核苷的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,前一个或几个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,后一个或几个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,前和后一个或几个糖均独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地是非-2'-F修饰的糖,例如双环糖,2'-OR修饰的糖(其中R是如本文所述并且不是-H(例如任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基))。在一些实施例中,其独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,其独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,其独立地是2'-OMe修饰的糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含如本文所述的一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖(例如LNA、cEt等)。在一些实施例中,前几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,前几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖和一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含如本文所述的一个或多个2'-OR修饰的糖(其

中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖(例如LNA、cEt等)。在一些实施例中,后几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,后几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖和一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,前几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,前几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的经修饰的糖,其中每个经修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,后几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的经修饰的糖,其中每个经修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含三个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含四个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含五个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含六个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个等)连续的2'-MOE修饰的糖。

[0189] 在一些实施例中,前几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)是经修饰的糖。在一些实施例中,前几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖(例如包含2'-O-CH_2-4'的糖,其中-CH_2-任选地被取代(例如LNA糖、cET糖(例如(S)-cEt)))。在一些实施例中,前几个糖中的两个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,前几个糖中的三个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,前几个糖中的四个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,一个或多个糖是连续的。在一些实施例中,前一个、两个、三个或四个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,前两个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,前三个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,前四个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个双环糖独立地是LNA糖或cEt糖。在一些实施例中,前几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或前几

个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,前几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或前几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或前几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或前几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前两个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前三个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前四个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,前一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,第一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前两个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前三个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,前四个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,这样的经修饰的糖中的每一个独立地是其核碱基是任选地经取代或被保护的A、T、C、G或U或A、T、C、G、或U的任选地经取代或被保护的互变异构体的核苷的糖。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与不带负电荷的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与中性核苷酸间键联(如n001)键合。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联(例如n001)是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与硫代磷酸酯核苷酸间键联键合。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,如本文所述,第一与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,除第一与第二核苷之间的核苷酸间键联之外,与包含前几个经修饰的糖中的一个或多个或前几个经修饰的糖的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个是手性控制的。在一些实施例中,每个是Sp。在一些实施例中,第一核苷任选地通过接头(例如L001)通过其5'-末端碳(在一些实施例中,通过磷酸酯基团)连接至另外的部分,例如Mod001。

[0190] 在一些实施例中,后几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)是经修饰的糖。在一些实施例中,后几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖(例如包含2'-O-CH_2-4'的糖,其中-CH_2-任选地被取代(例如LNA糖、cET糖(例如(S)-cEt)))。在一些实施例中,后几个糖中的两个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,后几个糖中的三个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,后几个糖中的四个或更多个是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,一个或多个糖是连续的。在一些实施例中,后一个、两个、三个或四个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,后两个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。

在一些实施例中,后三个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,后四个糖是经修饰的糖,每个独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)和双环糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个双环糖独立地是LNA糖或cEt糖。在一些实施例中,后几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或后几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,后几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或后几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或后几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖中的一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)糖或后几个(例如1、2、3、4、或5个)糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后两个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后三个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后四个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后两个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后三个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后四个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,这样的经修饰的糖中的每一个独立地是其核碱基是任选地经取代或被保护的A、T、C、G或U或A、T、C、G、或U的任选地经取代或被保护的互变异构体的核苷的糖。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与不带负电荷的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与中性核苷酸间键联(如n001)键合。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联(例如n001)是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地与硫代磷酸酯核苷酸间键联键合。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,如本文所述,最后和倒数第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,除最后和倒数第二核苷之间的核苷酸间键联之外,与包含后几个经修饰的糖中的一个或多个或后几个经修饰的糖的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个是手性控制的。在一些实施例中,每个是Sp。

[0191] 在一些实施例中,位置+1处的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置+1处的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,位置0处的糖是天然DNA糖(位置0处的核苷在比对时与靶腺苷相反)。在一些实施例中,位置-1处的糖是DNA糖。在一些实施例中,位置-2处的糖是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖(例如包含2'-O-CH_2-4'的糖,其中-CH_2-是任选地经取代的(例如LNA糖,cET糖(例如(S)-cEt)))。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,其是双环糖。在一些实施例中,其是LNA糖。在一些实施例中,其是cEt糖。在一些实施例中,位置-3处的糖是2'-F修饰的

糖。在一些实施例中,位置-3后(例如位置-4、-5、-6等)的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖(例如包含2'-O-CH_2-4'的糖,其中-CH_2-是任选地经取代的(例如LNA糖,cET糖(例如(S)-cEt)))。在一些实施例中,每个独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,每个独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,一个或多个独立地是2'-OMe修饰的糖,并且一个或多个独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,位置-1和-2处的核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,位置-2和-3处的核苷之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,如本文所述,最后和倒数第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,核苷和与靶腺苷相反的核苷的3′-侧之间的每个核苷酸间键联(除位置-1和-2处的核苷之间、以及位置-2和-3处的核苷之间、以及最后和倒数第二核苷之间的那些核苷酸间键联之外)独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个是Sp。

[0192] 在一些实施例中,第一和/或后一个或几个糖是经修饰的糖(例如双环糖和/或2′-OR修饰的糖)(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)(例如2'-OMe修饰的糖,2'-MOE修饰的糖等)。在一些实施例中,这样的糖可以增加寡核苷酸的稳定性、亲和力和/或活性。在一些实施例中,当与一个或多个另外的化学部分缀合时,寡核苷酸5'-和/或3'-末端处的糖不是双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,5'-末端糖是双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,这样的5'-末端糖不与另外的化学部分连接。在一些实施例中,5′-末端糖是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5'-末端糖是与另外的化学部分缀合的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'-末端糖是双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,这样的3'-末端糖不与另外的化学部分连接。在一些实施例中,3′-末端糖是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3'-末端糖是与另外的化学部分缀合的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖是相对于与靶腺苷相反的核苷的3'-侧糖(例如,3'-侧核苷的糖,如N_{-1}、N_{-2}等)。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-F修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含一个或多个、或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,并且寡核苷酸的最后一个核苷的糖是双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,如本文所述,2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的糖;在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含一个或多个、或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,并且寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,后

几个糖或3'-侧糖包含一个或多个、或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,并且寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含一个或多个、或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,并且寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,后几个糖或3'-侧糖包含一个或多个、或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,并且寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,与腺苷相反的核苷的3'-侧的两个且不超过两个核苷独立地具有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其在位置-4和-5处。在一些实施例中,其是寡核苷酸的倒数第二和第三个核苷。在一些实施例中,与腺苷相反的核苷的3'-侧的一个且不多于一个核苷具有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其在位置-3处。在一些实施例中,其是寡核苷酸的倒数第4个核苷。

[0193] 在一些实施例中,双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)存在于包含一个或多个(例如1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、2-30、2-25、2-20、2-25、2-10个,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)2'-F修饰的糖的区域中。在一些实施例中,在这样的区域中的如本文所述的大多数糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,两个或更多个2'-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,区域是第一结构域。在一些实施例中,双环糖存在于这样的区域中。在一些实施例中,2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)存在于这样的区域中。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖存在于这样的区域中。在一些实施例中,2'-MOE修饰的糖存在于这样的区域中。

[0194] 在一些实施例中,位置-5、-4、-3、+1、+2、+4、+5、+6、+7、和+8(位置0为与靶腺苷相反的核苷的位置;"+"是从与靶腺苷相反的核苷向寡核苷酸的5'-末端延伸,并且"-"是从与靶腺苷相反的核苷向寡核苷酸的3'-末端延伸;例如,在5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',如果N_0是与靶腺苷相反的核苷,则其在位置0处,并且N_1在位置+1处且N_{-1}在位置-1处)处的一个或多个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置+1处的糖,和位置-5、-4、-3、+2、+4、+5、+6、+7、和+8处的一个或多个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置+1处的糖,和位置-5、-4、-3、+2、+4、+5、+6、+7、和+8处的一个糖独立地是2'-F修饰的糖。

[0195] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个,2-10、3-10、2-5、2-4、2-3、3-5、3-4个等)天然DNA糖。在一些实施例中,一个或多个天然DNA糖位于编辑区,例如位置+1、0、和/或-1。在一些实施例中,天然DNA糖在寡核苷酸的前几个核苷(例如前1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个核苷)内。在一些实施例中,寡核苷酸的第一、第二和/或第三个核苷独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中,天然DNA糖与经修饰的核苷酸间键联(诸如不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联、n001、或硫代磷酸酯核苷酸间键联(在各种实施例中,Sp))键合。

[0196] 寡核苷酸可以含有各种类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与包含可改善稳定性

(例如,对核酸酶的抗性)的经修饰的糖的核苷键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与双环糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与2'-修饰的糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与2'-OMe修饰的糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与2'-MOE修饰的糖键合。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、n001、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,大多数或每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是如本文所述的Sp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001是Sp。

[0197] 在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和中性核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和n001。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,大多数或每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是如本文所述的Sp。在一些实施例中,一个或多个(例如1、2、3、4、或5个)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或n001核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,或是中性核苷酸间键联,或是磷酰基胍核苷酸间键联,或是n001。

[0198] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核碱基。根据本披露,可以将多种修饰引入糖和/或核碱基。例如,在一些实施例中,修饰是US 9006198中描述的修饰。在一些实施例中,修饰是在US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159中描述

的修饰,其各自的糖、碱基和核苷酸间键联独立地通过援引并入本文。

[0199] 在一些实施例中,核苷中的核碱基是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。

[0200] 在一些实施例中,糖是包含2′-修饰(例如,2′-F、2′-OR(其中R是任选地经取代的脂肪族基))的经修饰的糖,或双环糖(例如,LNA糖),或无环糖(例如,UNA糖)。

[0201] 在一些实施例中,如本文所述,所提供的寡核苷酸包含一个或多个结构域,其各自独立地具有如本文所述的某些长度、修饰、键联磷立体化学等。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含各自独立地包含一个或多个核碱基的第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的一个或多个结构域和/或子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第一结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第二结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第一子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第二子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第三子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个区域的寡核苷酸,每个区域独立地选自第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,每个区域独立地如本文所述。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

第一结构域;和

第二结构域,

其中:

该第一结构域包含一个或多个2′-F修饰;

该第二结构域包含一个或多个不具有2′-F修饰的糖。

[0202] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。在一些实施例中,经修饰的糖包含5′-修饰。典型地,除非另有说明,例如由上下文说明,否则本披露的寡核苷酸在其5′-末端具有游离的5′-OH并且在其3′-末端具有游离的3′-OH。在一些实施例中,寡核苷酸的5′-末端糖可以包含经修饰的5′-OH。

[0203] 在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有糖的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%

等。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。

[0204] 在一些实施例中,大多数是至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或更多。在一些实施例中,大多数是约50%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%。在一些实施例中,大多数是约或至少约50%。在一些实施例中,大多数是约或至少约55%。在一些实施例中,大多数是约或至少约60%。在一些实施例中,大多数是约或至少约65%。在一些实施例中,大多数是约或至少约70%。在一些实施例中,大多数是约或至少约75%。在一些实施例中,大多数是约或至少约80%。在一些实施例中,大多数是约或至少约85%。在一些实施例中,大多数是约或至少约90%。在一些实施例中,大多数是约或至少约95%。

[0205] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。

[0206] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-

100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。

[0207] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、

80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为至少约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比为至少约90%。在一些实施例中，百分比为至少约95%。在一些实施例中，百分比为约100%。在一些实施例中，约1-50、1-40、1-30个，例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在许多实施例中，据观察，寡核苷酸或其某些部分中高百分比的Sp核苷酸间键联(例如，相对于Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联)可以提供改善的特性和/或活性，例如，高稳定性和/或高腺苷编辑活性。

[0208] 在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为至少约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比

为至少约90％。在一些实施例中,百分比为至少约95％。在一些实施例中,百分比为约100％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50％。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0209] 虽然不希望受理论的束缚,但注意到在一些情况下,核苷酸间键联的Rp和Sp构型可影响由寡核苷酸和靶核酸如RNA形成的双链复合物的螺旋构象的结构变化,并且ADAR蛋白可通过多个结构域识别多种靶标(例如,由寡核苷酸和靶核酸如RNA形成的双链复合物)并与其相互作用。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物促进和/或增强寡核苷酸、靶核酸和/或ADAR蛋白的相互作用谱,以通过多种修饰的掺入和/或对立体化学的控制来提供ADAR蛋白的有效腺苷修饰。

[0210] 在一些实施例中,寡核苷酸可具有或包含碱基序列;核苷酸间键联、碱基修饰、糖修饰,另外的化学部分或其模式;和/或本文例如在表中所述的任何其他结构元件。

[0211] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或组合物的特征在于,当其在系统(例如,ADAR介导的脱氨系统)中与包含靶腺苷的靶核酸接触时,靶腺苷的修饰(例如,靶A的脱氨)相对于在参考条件(例如,选自由不存在组合物、存在参考寡核苷酸或组合物及其组合组成的组)下观察到的靶腺苷的修饰得到改善。在一些实施例中,修饰,例如ADAR介导的脱氨(例如,内源性ADAR介导的脱氨)增加10％、20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000倍或更多。

[0212] 在一些实施例中,寡核苷酸以盐形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以盐的形式提供,这些盐包含作为盐形式存在的带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、天然磷酸酯键联等)。在一些实施例中,寡核苷酸以药学上可接受的盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以钠盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以铵盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐例如钠盐的形式提供,其中每个带负电荷的核苷酸间键联独立地呈盐形式(例如,针对钠盐,对于硫代磷酸酯核苷酸间键联是-O-P(O)(SNa)-O-,对于天然磷酸酯键联是-O-P(O)(ONa)-O-等)。

[0213] 在一些实施例中,寡核苷酸是手性控制的,其包含一个或多个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是立体化学纯的。在一些实施例中,所提供的

寡核苷酸或其组合物基本上不含其他立体异构体。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物。

[0214] 如本文所述,本披露的寡核苷酸可以高纯度(例如,50%-100%)提供。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸具有高立体化学纯度(例如,50%-100%)。在一些实施例中,所提供的组合物中的寡核苷酸具有高立体化学纯度(例如,一种立体异构体与相同寡核苷酸的其他立体异构体相比具有高百分比(例如,50%-100%))。在一些实施例中,百分比为至少或约50%。在一些实施例中,百分比为至少或约60%。在一些实施例中,百分比为至少或约70%。在一些实施例中,百分比为至少或约75%。在一些实施例中,百分比为至少或约80%。在一些实施例中,百分比为至少或约85%。在一些实施例中,百分比为至少或约90%。在一些实施例中,百分比为至少或约95%。

[0215] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸在手性核苷酸间键联的键联磷处是至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%立体化学纯的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸立体选择性地制备并且基本上不含立体异构体。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学(例如,包含Rp和/或Sp中的一者或多者,其中每个手性键联磷独立地是Rp或Sp)模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同构成的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,每个手性磷的非对映体过量独立地为约或至少约90%。在一些实施例中,每个手性磷的非对映体过量独立地为约或至少约95%。在一些实施例中,每个手性磷的非对映体过量独立地为约或至少约97%。在一些实施例中,每个手性磷的非对映体过量独立地为约或至少约98%。在一些实施例中,非对映纯度为约或至少约$(DS)^{nc}$,其中DS为约90%-100%,并且nc是手性键联磷的数目。在一些实施例中,DS为约90%或更大。在一些实施例中,DS为约95%或更大。在一些实施例中,DS为约96%或更大。在一些实施例中,DS为约97%或更大。在一些实施例中,DS为约98%或更大。在一些实施例中,DS为约99%或更大。在一些实施例中,非对映异纯度表示为每个手性键联磷的非对映纯度的乘积。

第一结构域

[0216] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。下文以实例描述某些实施例。

[0217] 在一些实施例中,第一结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有13个核碱基的长度。在一

些实施例中,第一结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有17个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有18个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有19个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有20个核碱基的长度。

[0218] 在一些实施例中,第一结构域是寡核苷酸的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%,5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。

[0219] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0220] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,存在1个摆动。在一些实施例中,存在2个摆动。在一些实施例中,存在3个摆动。在一些实施例中,存在4个摆动。在一些实施例中,存在5个摆动。在一些实施例中,存在6个摆动。在一些实施例中,存在7个摆动。在一些实施例中,存在8个摆动。在一些实施例中,存在9个摆动。在一些实施例中,存在10个摆动。

[0221] 在一些实施例中,第一结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0222] 在一些实施例中,第一结构域与靶核酸完全互补。

[0223] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0224] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一

些实施例中,第一结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0225] 在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2′-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含约2-50个(例如约2、3、4、5、6、7、8、9、或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,2-40、2-30、2-25、2-20、2-15、2-10、3-40、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-40、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、6-40、6-30、6-25、6-20、6-15、6-10、7-40、7-30、7-25、7-20、7-15、7-10、8-40、8-30、8-25、8-20、8-15、8-10、9-40、9-30、9-25、9-20、9-15、9-10、10-40、10-30、10-25、10-20、10-15个,约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个等)连续的具有2’-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含2个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含3个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含4个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含5个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含6个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含7个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含8个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含9个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含10个连续的2’-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含两个或更多个2’-F修饰的糖嵌段,其中2’-F修饰的糖嵌段中的每个糖独立地是2’-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2’-F修饰的糖嵌段独立地包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的如本文所述的2’-F修饰的糖或由其组成。在一些实施例中,两个连续的2’-F修饰的糖嵌段独立地被分离嵌段分离,该分离嵌段包含独立地不是2’-F修饰的糖的一个或多个糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地未被2’-F修饰。在一些实施例中,分离嵌段中的两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)或所有糖独立地未被2’-F修饰。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)和/或一个或多个2’-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)(例如2’-OMe、2’-MOE等)。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个2’-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2’-OMe、2’-MOE等)。在一些实施例中,两个或更多个非-2’-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,两个或更多个2’-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2’-OMe、2’-MOE等))是连续的。在一些实施例中,分离嵌段包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2’-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2’-OMe、2’-MOE等))。在一些实施例中,分离嵌段包含两个或更多个(例如2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)连续的2’-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如2’-OMe、

2'-MOE等))。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE糖。在一些实施例中,分离嵌段包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的2'-F修饰的糖均不彼此相邻。在一些实施例中,分离嵌段不含有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段中的每个糖均独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分离嵌段包含2'-OMe糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分离嵌段独立地含有1、2、3、4、或5个核苷。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分离嵌段独立地含有1、2或3个核苷。

[0226] 在一些实施例中,第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,百分比为至少约40%。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约60%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约70%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约80%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约90%。

[0227] 在一些实施例中,第一结构域不含双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)双环糖和/或2'-

OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,与2′-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2′-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较低。在一些实施例中,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平为约10%-80%(例如约10%-75%、10%-70%、10%-65%、10%-60%、10%-50%、约20%-60%、约30%-60%、约20%-50%、约30%-50%,约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、或60%等)。在一些实施例中,组合的2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)(例如组合的2'-OMe和2'-MOE修饰的糖,如果有的话)的水平为约10%-70%(例如约10%-60%、10%-50%、约20%-60%、约30%-60%、约20%-50%、约30%-50%,约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%等)。在一些实施例中,第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-OMe。在一些实施例中,第一结构域中不超过约50%的糖包含2′-OMe。在一些实施例中,第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约50%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约40%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约30%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约25%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约20%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约10%的糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,如本文所述,2′-OR是2′-MOE或2′-OMe。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-NH_2修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。在一些实施例中,第一结构域中的多个5'-末端糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域中的多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个)5'-末端糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,来自第一结构域的5′-末端的前约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,前一个是2′-OR修饰的。在一些实施例中,前两个独立地是2′-OR修饰的。在一些实施例中,前三个独立地是2′-OR修饰的。在一些实施例中,前四个独立地是2′-OR修饰的。在一些实施例中,前五个独立地是2′-OR修饰的。在一些实施例

中,结构域(例如,第一结构域)、子结构域(例如,第一子结构域)或寡核苷酸中的所有2′-OR修饰均是相同的。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,2′-OR是2′-OMe。

[0228] 在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2′-OR。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2′-OMe。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2′-MOE或2′-OMe。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中的每个糖均包含2′-F。

[0229] 在一些实施例中,第一结构域中约40%-70%(例如约40%-70%、40%-60%、50%-70%、50%-60%等,或约40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%等)的糖是2'-F修饰的,并且第一结构域中约10%-60%(例如约10%-50%、20%-60%、30%-60%、30%-50%、40%-50%等,或约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、或60%)的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,第一结构域中约20%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约25%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约30%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约35%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约40%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约50%-60%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约50%-70%的糖是2'-F修饰的。在一些实施例中,第一结构域中约20%-60%的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约30%-60%的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约40%-60%的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约30%-50%的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约40%-50%的糖独立地是2'-OR修饰的,其中R不是-H或双环糖。在一些实施例中,第一结构域中独立地是2'-OR修饰的(其中R不是-H)或双环糖的糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)。在一些实施例中,它们中的每个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,它们各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,它们各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0230] 在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每

个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第一结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性控制的。在一些实施例中,第一结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第一结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或

100％等)的手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5％-100％(例如,约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)是Sp。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50％。在一些实施例中,百分比为至少约55％。在一些实施例中,百分比为至少约60％。在一些实施例中,百分比为至少约65％。在一些实施例中,百分比为至少约70％。在一些实施例中,百分比为至少约75％。在一些实施例中,百分比为至少约80％。在一些实施例中,百分比为至少约85％。在一些实施例中,百分比为至少约90％。在一些实施例中,百分比为至少约95％。在一些实施例中,百分比为约100％。在一些实施例中,连接两个第一结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的核苷酸间键联与第一结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第一结构域中的核苷和第二结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第一结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第一结构域中的核苷和第二结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性控制的;在一些实施例中,其是Rp;在一些实施例中,其是Sp。在许多实施例中,据观察,高百分比的Sp核苷酸间键联(例如,相对于Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联)可以提供改善的特性和/或活性,例如,高稳定性和/或高腺苷编辑活性。

[0231] 在一些实施例中,第一结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第一结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5％-100％、约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、

80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第一结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第一结构域中的所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0232] 在一些实施例中,第一结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第一结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

[0233] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第一结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其中的每个任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间

键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第一结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第一结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第一结构域的5'-末端。在一些实施例中,连接第一结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,第一结构域的前两个核苷是寡核苷酸的前两个核苷。

[0234] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,每个2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的与两个2'-OR修饰的糖键合的核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如

50％-100％、50％-90％、50％-80％，或约50％、60％、66％、70％、75％、80％、90％或更多)的与两个2'-OMe或2'-MOE修饰的糖键合的核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0235] 在一些实施例中，在本披露的寡核苷酸或其部分(例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中，每个与两个2'-F修饰的糖键合的核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，其独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联，如磷酰基胍核苷酸间键联，像n001。在一些实施例中，其独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联，如磷酰基胍核苷酸间键联，像n001。在一些实施例中，其独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联或Rp磷酰基胍核苷酸间键联，像Rp n001。在一些实施例中，与两个2'-F修饰的糖键合的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。

[0236] 在一些实施例中，第一结构域募集蛋白如ADAR蛋白(例如，ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中，第一结构域募集蛋白如ADAR蛋白，或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中，第一结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中，第一结构域基本上不与ADAR的第二RBD结构域接触。在一些实施例中，第一结构域基本上不与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中，多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如，ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

第二结构域

[0237] 如本文所述，在一些实施例中，寡核苷酸从5′至3′包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中，寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。下文以实例描述第二结构域的某些实施例。在一些实施例中，第二结构域包含与待修饰(例如，转化成I)的靶腺苷相反的核苷。

[0238] 在一些实施例中，第二结构域具有约2-50个(例如，约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个，或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有16个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有17个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有18个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有19个核碱基的长度。在一些实施例中，第二结构域具有20个核碱基的长度。

[0239] 在一些实施例中，第二结构域是寡核苷酸的约或至少约5％-95％、10％-90％、20％-80％、30％-70％、40％-70％、40％-60％，5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％。在一些实施例中，百分比为约30％-80％。在一些实施例中，百分比为约30％-70％。在一些实施例中，百分比为

约40％-60％。在一些实施例中,百分比为约20％。在一些实施例中,百分比为约25％。在一些实施例中,百分比为约30％。

在一些实施例中,百分比为约35％。在一些实施例中,百分比为约40％。

在一些实施例中,百分比为约45％。在一些实施例中,百分比为约50％。

在一些实施例中,百分比为约55％。在一些实施例中,百分比为约60％。

在一些实施例中,百分比为约65％。在一些实施例中,百分比为约70％。

在一些实施例中,百分比为约75％。在一些实施例中,百分比为约80％。

在一些实施例中,百分比为约85％。在一些实施例中,百分比为约90％。

[0240] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0241] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,存在1个摆动。在一些实施例中,存在2个摆动。在一些实施例中,存在3个摆动。在一些实施例中,存在4个摆动。在一些实施例中,存在5个摆动。在一些实施例中,存在6个摆动。在一些实施例中,存在7个摆动。在一些实施例中,存在8个摆动。在一些实施例中,存在9个摆动。在一些实施例中,存在10个摆动。

[0242] 在一些实施例中,第二结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0243] 在一些实施例中,第二结构域与靶核酸完全互补。

[0244] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0245] 在一些实施例中,第二结构域包含与靶腺苷相反的核苷,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时。在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的U,或是U的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相反核碱基是U。

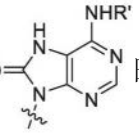
[0246] 在一些实施例中,与U相比,相反核碱基与靶腺苷的靶腺嘌呤具有较弱的氢键合。在一些实施例中,与U相比,相反核碱基与靶腺苷的靶腺嘌呤形成较少的氢键。在一些实施例中,相反核碱基与蛋白(例如,ADAR)的一个或多个氨基酸残基形成一个或多个氢键,这些残基与和靶腺苷相反的U形成一个或多个氢键。在一些实施例中,相反核碱基与ADAR的每个氨基酸残基形成一个或多个氢键,该每个氨基酸残基与和靶腺苷相反的U形成一个或多个氢键。在一些实施例中,通过减弱与靶A的氢键结合和/或维持或增强与蛋白如ADAR1、ADAR2等的相互作用,某些相反核碱基有利于和/或促进腺苷修饰,例如被ADAR蛋白如ADAR1和

ADAR2修饰。

[0247] 在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的C,或是C的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相反核碱基是C。在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的A,或是A的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相反核碱基是A。在一些实施例中,相反核碱基是假异胞嘧啶的任选地经取代的或被保护的核碱基,或是假异胞嘧啶的核碱基的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相反核碱基是假异胞嘧啶的核碱基。

[0248] 在一些实施例中,如本文所述,核苷(例如,与靶腺苷相反的核苷,也可以称为“相反核苷”)是无碱基的(例如,具有L010、L012、L028等的结构)。

[0249] 经修饰的核碱基的许多有用的实施例,例如用于相反核碱基,也在下面描述。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基(例如,与靶核苷相反的核苷(诸如A(N_0)、N_1、N_{-1}等)的核碱基)的寡核苷酸,该核碱基是或包含A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]、zdnp或表BA-1中所述的核碱基。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基(例如,与靶核苷相反的核苷(诸如A)的核碱基)的寡核苷酸,该核碱基是或包含b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]和zdnp。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基(例如,与靶核苷相反的核苷(诸如A)的核碱基)的寡核苷酸,该核碱基是或包含C、A、b007U、b001U、b001A、b002U、b001C、b003U、b002C、b004U、b003C、b005U、b002I、b006U、b003I、b008U、b009U、b002A、b003A、b001G、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。在一些实施例中,核碱基是C。在一些实施例中,核碱基是A。在一些实施例中,核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,核碱基是b002I。在一些实施例中,核碱基是b003I。在一些实施例中,核碱基是b004I。在一些实施例中,核碱基是b014I。在一些实施例中,核碱基是b001C。在一些实施例中,核碱基是b002C。在一些实施例中,核碱基是b003C。在一些实施例中,核碱基是b004C。在一些实施例中,核碱基是b005C。在一些实施例中,核碱基是b006C。在一些实施例中,核碱基是b007C。在一些实施例中,核碱基是b008C。在一些实施例中,核碱基是b009C。在一些实施例中,核碱基是b001U。在一些实施例中,核碱基是b002U。在一些实施例中,核碱基是b003U。在一些实施例中,核碱基是b004U。在一些实施例中,核碱基是b005U。在一些实施例中,核碱基是b006U。在一些实施例中,核碱基是b007U。在一些实施例中,核碱基是b008U。在一些实施例中,核碱基是b009U。在一些实施例中,核碱基是b011U。在一些实施例中,核碱基是b012U。在一些实施例中,核碱基是b013U。在一些实施例中,核碱基是b014U。在一些实施例中,核碱基是b015U。在一些实施例中,核碱基是b001A。在一些实施例

中,核碱基是b002A。在一些实施例中,核碱基是b003A。在一些实施例中,核碱基是b004A。在一些实施例中,核碱基是b005A。在一些实施例中,核碱基是b006A。在一些实施例中,核碱基是b007A。在一些实施例中,核碱基是b001G。在一些实施例中,核碱基是b002G。在一些实施例中,核碱基是[3nT]。在一些实施例中,核碱基是[3ne5U]。在一些实施例中,核碱基是[3nfl5U]。在一些实施例中,核碱基是[3npry5U]。在一些实施例中,核碱基是[3ncn5U]。在一些实施例中,核碱基是[nathp608A]。在一些实施例中,核碱基是[ipr608A]。在一些实施例中,核碱基是[c7In]。在一些实施例中,核碱基是[c39z48In]。在一些实施例中,核碱基是[z2c3In]。在一些实施例中,核碱基是[z5C]。在一些实施例中,核碱基是zdnp。在一些实施例中,核碱基选自表BA-1。在一些实施例中,这样的核碱基在N_0中。在一些实施例中,这样的核碱基在N_1中。在一些实施例中,这样的核碱基在N_{-1}中。在一些实施例中,如本领域技术人员理解的,对核碱基进行保护,例如用于寡核苷酸合成。例如,在一些实施例中,核碱基是具有的结构的被保护的b001A,其中R′如本文所述。在一些实施例中,R’是-C(O)R。在一些实施例中,R’是-C(O)Ph。

[0250] 在一些实施例中,据观察,当与参考核碱基相比时(例如,在可比较的条件下,包括例如在其他方面相同的寡核苷酸中,在相同或可比较的测定中评估等),各种经修饰的核碱基(例如b001A、b008U等)可以提供改善的腺苷编辑效率。在一些实施例中,参考核碱基是U。在一些实施例中,参考核碱基是T。在一些实施例中,参考核碱基是C。

某些经修饰的核碱基

[0251] 在一些实施例中,BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,环BA是或包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,环BA是饱和的。在一些实施例中,环BA包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,环BA是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA是芳族的。

[0252] 在一些实施例中,BA是或包含环BA,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,环BA是或包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,环BA是饱和的。在一些实施例中,环BA包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,环BA是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA是芳族的。

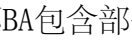
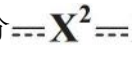
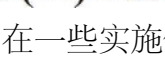
[0253] 在一些实施例中,BA是或包含环BA。在一些实施例中,BA是环BA。在一些实施例中,BA是或包含环BA的互变异构体。在一些实施例中,BA是环BA的互变异构体。

[0254] 在一些实施例中,本披露的结构含有一个或多个任选地经取代的环(例如,环BA、-Cy-、环BA^A、R、由合在一起的R基团形成等)。在一些实施例中,环是具有0-10个(例如,1-10、1-5,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个等)杂原子的任选地经取代的C_{3-30}、C_{3-20}、C_{3-15}、C_{3-10}、C_{3-9}、C_{3-8}、C_{3-7}、C_{3-6}、C_{5-50}、C_{5-20}、C_{5-15}、C_{5-10}、C_{5-9}、C_{5-8}、C_{5-7}、C_{5-6}或3-30(例如,3-30、3-20、3-15、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、5-50、5-20、5-15、5-10、5-9、5-8、5-7、5-6或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30等)元单环、双环或多环。在一些实施例中,环是具有0-3个杂原子的任选地经取代的3-10元单环或双环、饱和、部分饱和的或芳族环。在一些

实施例中,环是经取代的。在一些实施例中,环是未经取代的。在一些实施例中,环是3、4、5、6、7、8、9或10元的。在一些实施例中,环是5、6或7元的。在一些实施例中,环是5元的。在一些实施例中,环是6元的。在一些实施例中,环是7元的。在一些实施例中,环是单环的。在一些实施例中,环是双环的。在一些实施例中,环是多环的。在一些实施例中,环是饱和的。在一些实施例中,环含有至少一个不饱和度。在一些实施例中,环是部分不饱和的。在一些实施例中,环是芳族的。在一些实施例中,环具有0-5个杂原子。在一些实施例中,环具有1-5个杂原子。在一些实施例中,环具有一个或多个杂原子。在一些实施例中,环具有1个杂原子。在一些实施例中,环具有2个杂原子。在一些实施例中,环具有3个杂原子。在一些实施例中,环具有4个杂原子。在一些实施例中,环具有5个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。在一些实施例中,环被取代,例如被一个或多个烷基和任选地被一个或多个如本文所述的其他取代基取代。在一些实施例中,取代基是甲基。

[0255] 在一些实施例中,本披露的单环、双环或多环(例如,环BA、-Cy-、环BA^A、R、由合在一起的R基团形成等)的每个单环单元独立地是具有0-5个杂原子的任选地经取代的5-7元饱和、部分不饱和或芳族环。在一些实施例中,一个或多个单环单元独立地包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,一个或多个单环单元是饱和的。在一些实施例中,一个或多个单环单元是部分饱和的。在一些实施例中,一个或多个单环单元是芳族的。在一些实施例中,一个或多个单环单元独立地具有1-5个杂原子。在一些实施例中,一个或多个单环单元独立地具有至少一个氮原子。在一些实施例中,每个单环单元独立地是5或6元的。在一些实施例中,单环单元是5元的。在一些实施例中,单环单元是5元的并且具有1-2个氮原子。在一些实施例中,单环单元是6元的。在一些实施例中,单环单元是6元的并且具有1-2个氮原子。除非另有说明,否则环及其单环单元是任选地经取代的。

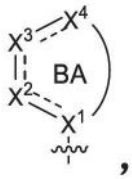
[0256] 不希望受任何特定理论的限制,本披露认识到在一些实施例中,核碱基(例如,BA)的结构可影响与蛋白(例如,ADAR蛋白,如ADAR1、ADAR2等)的相互作用。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含可促进寡核苷酸与酶(例如,ADAR1)相互作用的核碱基。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含可降低碱基配对强度(例如,与A-T/U或C-G相比)的核碱基。在一些实施例中,本披露认识到,通过维持和/或增强第一核碱基与蛋白(例如,像ADAR1的酶)的相互作用(例如,氢键合)和/或减少第一核碱基与其在双链体中的另一条链上的对应核碱基(例如,A)的相互作用(例如,氢键合),可以显著改善蛋白(例如,像ADAR1的酶)对对应核碱基的修饰。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的第一核碱基的寡核苷酸(例如,本文所述的BA的各种实施例)。如第一核碱基的示例性实施例如本文所述。在一些实施例中,当包含这样的第一核碱基的寡核苷酸与另一核酸进行最大互补性比对时,第一核碱基与A相反。在一些实施例中,可以使用本披露的技术有效地修饰如在本披露的许多实施例中例示的与第一核碱基相反的这样的A。

[0257] 在一些实施例中,环BA包含部分,其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中,环BA包含部分,其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中,环BA包含部分,其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中,环BA包含部分,其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中,X^1与糖键合。在一些实施例中,X^1是-N(-)-。在一些实施例中,X^1是-C(=)一。

在一些实施例中,X^2是-C(O)—。在一些实施例中,X^3是-NH-。在一些实施例中,X^4不是-C(O)-。在一些实施例中,X^4是-C(O)-,并且形成分子内氢键,例如,与具有相同核苷酸单元的部分(例如,在X^5的相同BA单元内(例如,与氢键供体(例如,-OH、SH等)))。在一些实施例中,X^4是-C(=NH)-。在一些实施例中,环BA包含部分$\text{---}X^{4'}\text{---}X^{5'}\text{---}$,其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-NH-。

[0258] 在一些实施例中,BA是任选地经取代的或被保护的C或其互变异构体。在一些实施例中,BA是任选地经取代的或任选地被保护的C。在一些实施例中,BA是C的任选地经取代的或任选地被保护的互变异构体。在一些实施例中,BA是C。在一些实施例中,BA是经取代的C。在一些实施例中,BA是被保护的C。在一些实施例中,BA是C的经取代的互变异构体。在一些实施例中,BA是C的被保护的互变异构体。

[0259] 在一些实施例中,环BA具有式BA-I的结构:



,

BA-I

其中:

环BA是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环、饱和、部分饱和的或芳族环;

每个---独立地是单键或双键;

X^1是-N(-)-或-C(-)=;

X^2是-C(W^{X2})-、-C(R^{B2})=、-C(OR^{B2})=、-N=或任选地经取代的-CH=,其中R^{B2}是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B2}-R',并且W^{X2}是O、S或Se;

X^3是-C(R^{B3})=、-N(R^{B3})-、-N=或任选地经取代的-NH-或-CH=,其中R^{B3}是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B3}-R';

X^4是-C(R^{B4})=、-C(-N(R^{B4})$_2$)=、-C(R^{B4})$_2$-、-C(W^{X4})-、-C(=NR^{B4})-或任选地经取代的-CH=或-CH_2-,其中每个R^{B4}独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B4}-R^{B41},或同一个原子上的两个R^{B4}合在一起形成=O、=C(-L^{B4} R^{B41})$_2$、=N-L^{B4}-R^{B41}、或任选地经取代的=CH_2或=NH,其中每个R^{B41}独立地是R',并且W^{X4}是O、S或Se;

L^{B2}、L^{B3}和L^{B4}各自独立地是L^B;

每个L^B独立地是共价键,或具有0-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-或-C(O)O-代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)N(R)$_2$或-SO_2R;并且

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10

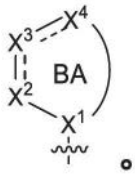
个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-20}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或者

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或者

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环;或者

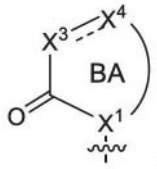
两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0260] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I之一)具有式BA-I-a的结构:



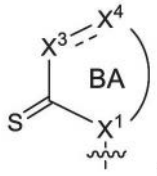
BA-I-a

[0261] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a等之一)具有式BA-I-b的结构:



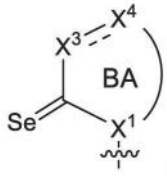
BA-I-b

[0262] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a等之一)具有式BA-I-c的结构:



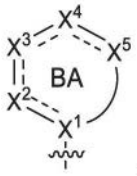
BA-I-c

[0263] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a等之一)具有式BA-I-d的结构:



BA-I-d

[0264] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I之一)具有式BA-II的结构:



，

BA-II

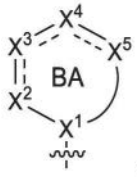
其中：

X^5是-C(R^{B5})$_2$-，-N(R^{B5})-，-C(R^{B5})＝，-C(W^{X5})-，-N＝或任选地经取代的-CH_2-、-NH-或-CH＝，其中每个R^{B5}独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B5}-R^{B51}，其中R^{B51}是-R’、-N(R’)$_2$、-OR’、或-SR’，并且W^{X5}是O、S、或Se；

L^{B5}是L^B；并且

其他变量各自独立地如本文所述。

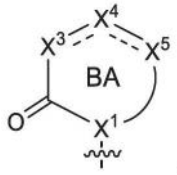
[0265] 在一些实施例中，环BA(例如，式BA-I、BA-I-a、BA-II等之一)具有式BA-II-a的结构：



。

BA-II-a

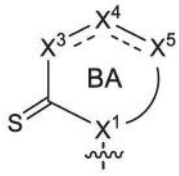
[0266] 在一些实施例中，环BA(例如，式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-II-b的结构：



。

BA-II-b

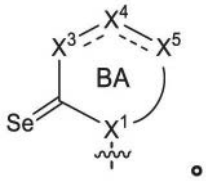
[0267] 在一些实施例中，环BA(例如，式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-II-b的结构：



。

BA-II-c

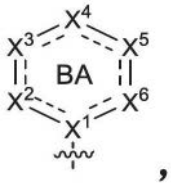
[0268] 在一些实施例中，环BA(例如，式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-II-b的结构：



。

BA-II-d

[0269] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-II等之一)具有式BA-III的结构:



,

BA-III

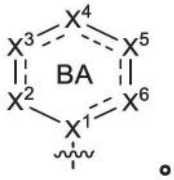
其中:

X^6是-C(R^{B6})=、-C(OR^{B6})=、-C(R^{B6})$_2$-、-C(W^{X6})-、-N=或任选地经取代的-CH=或-CH_2-,其中每个R^{B6}独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B6}-R^{B61},或同一个原子上的两个R^{B6}合在一起形成=O、=C(-L^{B6}-R^{B61}、)$_2$、=N-L^{B6}-R^{B61}、或任选地经取代的=CH_2或=NH,其中每个R^{B61}独立地是R',并且W^{X6}是O、S、或Se;

L^{B6}是L^B;并且

其他变量各自独立地如本文所述。

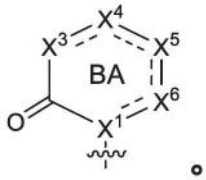
[0270] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a、BA-III等之一)具有式BA-III-a的结构:



。

BA-III-a

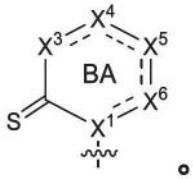
[0271] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a等之一)具有式BA-III-b的结构:



。

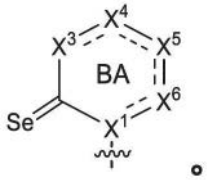
BA-III-b

[0272] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a等之一)具有式BA-III-c的结构:



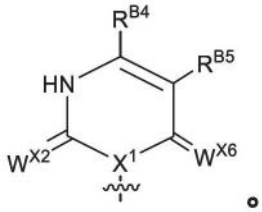
BA-III-c

[0273] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a等之一)具有式BA-III-d的结构:



BA-III-d

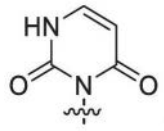
[0274] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a等之一)具有式BA-III-e的结构:



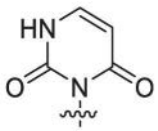
BA-III-e

在一些实施例中,X^1是N,并且R^{B4}和R^{B5}各自独立地是卤素或任选地经取代的C_{1-10}烷基。在一些实施例中,RB^4和R^{B5}各自独立地是卤素或任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{B4}和R^{B5}各自独立地是卤素或C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{B4}和R^{B5}各自独立地是卤素或C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是-H。在一些实施例中,R^{B4}不是-H。在一些实施例中,R^{B4}是卤素。在一些实施例中,R^{B4}是-F。在一些实施例中,R^{B4}是-Cl。在一些实施例中,R^{B4}是-Br。在一些实施例中,R^{B4}是-CN。在一些实施例中,R^{B4}是$-NO_2$。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-3}烷基。在一些实施例

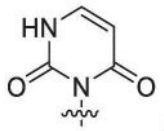
中,R^{B4}是任选地经取代的C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-3}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-3}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B4}是甲基。在一些实施例中,R^{B4}是乙基。在一些实施例中,R^{B5}是-H。在一些实施例中,R^{B5}不是-H。在一些实施例中,R^{B5}是卤素。在一些实施例中,R^{B5}是-F。在一些实施例中,R^{B5}是-Cl。在一些实施例中,R^{B5}是-Br。在一些实施例中,R^{B5}是-CN。在一些实施例中,R^{B5}是-NO_2。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-3}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-3}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地经取代的C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-3}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-3}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是C_{1-2}烷基。在一些实施例中,R^{B5}是甲基。在一些实施例中,R^{B5}是乙基。在一些实施例中,R^{B5}是-C≡CH。在一些实施例中,R^{B5}是-C≡$CHCH_3$。在一些实施例中,W^{X2}和W^{X6}各自是O。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



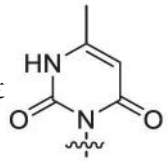
在一些实施例中,环BA是经取代的



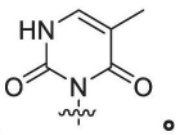
在一些实施例中,环BA是



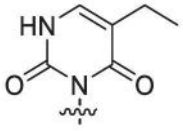
在一些实施例中,环BA是



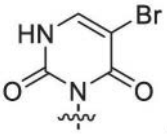
在一些实施例中,环BA是



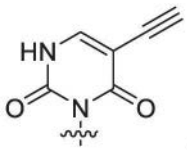
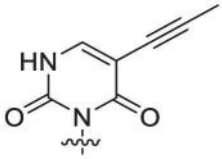
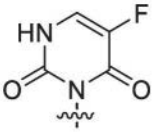
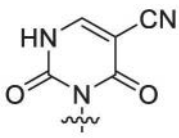
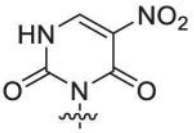
在一些实施例中,环BA是



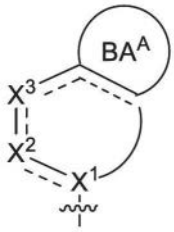
在一些实施例中,环BA是



在一些实施

例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是。

[0275] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-II等之一)具有式BA-IV的结构:

,

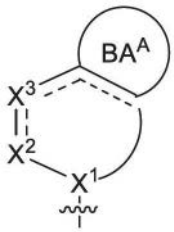
BA-IV

其中:

环BA^A是具有0-5个杂原子的任选地经取代的5-14元单环、双环或多环,并且

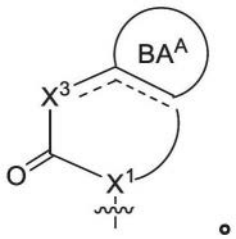
其他变量各自独立地如本文所述。

[0276] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-IV-a的结构:

。

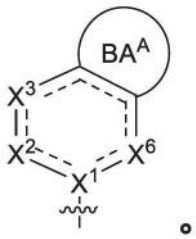
BA-IV-a

[0277] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-IV-b的结构:



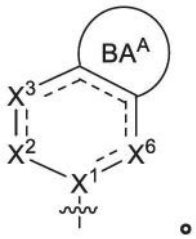
BA-IV-b

[0278] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-II、BA-III、BA-IV等之一)具有式BA-V的结构:



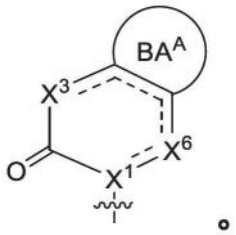
BA-V

[0279] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a、BA-III、BA-III-a、BA-IV、BA-IV-a、BA-V等之一)具有式BA-V-a的结构:



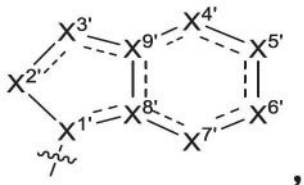
BA-V-a

[0280] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a等之一)具有式BA-V-a的结构:



BA-V-b

[0281] 在一些实施例中,环BA具有式BA-VI的结构:



BA-VI

其中：

每个═独立地是单键或双键；

$X^{1'}$是-N(-)-或-C(-)=；

$X^{2'}$是-C($W^{X2'}$)-、-C($R^{B2'}$)=、-C($OR^{B2'}$)=、-N=或任选地经取代的-CH=或-CH_2-，其中$R^{B2'}$是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B2'}$-R'，并且$W^{X2'}$是O、S或Se；

$X^{3'}$是-N($R^{B3'}$)-、-N=、-C($R^{B3'}$)=或任选地经取代的-NH-或-CH=，其中$R^{B3'}$是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B3'}$-R'；

$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)=，-C($OR^{B4'}$)=，-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=，-C($R^{B4'}$)$_2$-，-C($W^{X4'}$)-，-C(=$NR^{B4'}$)-，-N($R^{B4'}$)-，-N=或任选地经取代的-CH=、-NH-或-CH_2-，其中每个$R^{B4'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$，或同一个原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=O、=C(-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$)$_2$、=N-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$、或任选地经取代的=CH_2或=NH，其中每个$R^{B41'}$独立地是-R'，并且$W^{X4'}$是O、S或Se；

$X^{5'}$是-C($R^{B5'}$)$_2$-，-N($R^{B5'}$)-，-C($R^{B5'}$)=，-C($W^{X5'}$)-，-N=，或任选地经取代的-NH-、-CH_2-、或-CH=，其中每个$R^{B5'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B5'}$-$R^{B51'}$，其中$R^{B51'}$是-R'、-N(R')$_2$、-OR'、或-SR'，并且$W^{X5'}$是O、S、或S_e；

$X^{6'}$是-C($R^{B6'}$)=，-C($OR^{B6'}$)=，-C($R^{B6'}$)$_2$-，-C($W^{X6'}$)-，-C(-N($R^{B6'}$)$_2$)=，-N=或任选地经取代的-NH-、-CH_2-或-CH=，其中每个$R^{B6'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B6'}R^{B61'}$，或同一个原子上的两个$R^{B6'}$合在一起形成=O、=C(-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$)$_2$、=N-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$、或任选地经取代的=CH_2或=NH，其中每个$R^{B61'}$独立地是R'，并且$W^{X6'}$是O、S或Se；

$X^{7'}$是-C($R^{B7'}$)=，-C($OR^{B7'}$)=，-C($R^{B7'}$)$_2$-，-C($W^{X7'}$)-，-C(-N($R^{B7'}$)$_2$)=，-N($R^{B7'}$)-，-N=或任选地经取代的-NH-、-CH_2-或-CH=，其中每个$R^{B7'}$独立地是卤素、-CN、-NO_2、或-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$，或同一个原子上的两个$R^{B7'}$合在一起形成=O、=C(-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$)$_2$、=N-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$、或任选地经取代的=CH_2或=NH，其中每个$R^{B71'}$独立地是R'，并且其中$W^{X7'}$是O、S或Se；

$X^{8'}$和$X^{9'}$中的每个独立地是C或N；

$L^{B2'}$、$L^{B3'}$、$L^{B4'}$、$L^{B5'}$、$L^{B6'}$和$L^{B7'}$中的每个独立地是L^{B}；并且

其他变量各自独立地如本文所述。

[0282] 在一些实施例中，═是单键。在一些实施例中，═是双键。

[0283] 在一些实施例中，X^1是-(N-)-。在一些实施例中，X^1是-C(-)=。

[0284] 在一些实施例中，W^{X2}是O。在一些实施例中，W^{X2}是S。在一些实施例中，W^{X2}是Se。在一些实施例中，X^2是-C(O)-。在一些实施例中，X^2是-C(S)-。在一些实施例中，X^2是-C(Se)-。在一些实施例中，X^2是-C(R^{B2})=。在一些实施例中，X^2是-C(OR^{B2})=。在一些实施例中，X^2是-C(OR^{B2})=，其中R^{B2}是-L^{B2}-R'。在一些实施例中，X^2是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中，X^2是-CH=。在一些实施例中，X^2是-C(R^{B2})=，其中R^{B2}是卤素、-CN、-NO_2、或-L^{B2}-R'。在一

些实施例中,X^2是-C(OR^{B2})=,其中R^{B2}是-L^{B2}-R'。在一些实施例中,X^2是-N=。

[0285] 在一些实施例中,L^{B2}是共价键。

[0286] 在一些实施例中,R^{B2}是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如羟基保护基。在一些实施例中,R^{B2}是R′。在一些实施例中,R^{B2}是-H。在一些实施例中,R^{B2}是卤素。在一些实施例中,R^{B2}是-F。在一些实施例中,R^{B2}是-Cl。在一些实施例中,R^{B2}是-Br。在一些实施例中,R^{B2}是-I。在一些实施例中,R^{B2}是-CN。在一些实施例中,R^{B2}是-NO_2。在一些实施例中,R^{B2}是-L^{B2}-R'。

[0287] 在一些实施例中,X^3是-C(R^{B2})=。在一些实施例中,X^3是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,X^3是-CH=。在一些实施例中,X^3是-N(R^{B3})-。在一些实施例中,X^3是-N(R^{B3})-,其中R^{B3}是-L^{B3}-R'。在一些实施例中,X^3是-N(R^{B3})-,其中R^{B3}是-L^{B3}-R'。在一些实施例中,X^3是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,X^3是-NH-。在一些实施例中,X^3是-N=。

[0288] 在一些实施例中,L^{B3}是共价键。

[0289] 在一些实施例中,R^{B3}是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基保护基(例如,Bz)。在一些实施例中,R^{B3}是R'。在一些实施例中,R^{B3}是-C(O)R。在一些实施例中,R^{B3}是R。在一些实施例中,R^{B3}是-H。在一些实施例中,R^{B3}是卤素。在一些实施例中,R^{B3}是-F。在一些实施例中,R^{B3}是-Cl。在一些实施例中,R^{B3}是-Br。在一些实施例中,R^{B3}是-I。在一些实施例中,R^{B3}是-CN。在一些实施例中,R^{B3}是-NO_2。在一些实施例中,R^{B3}是-L^{B3}-R'。

[0290] 在一些实施例中,X^4是-C(R^{B4})=。在一些实施例中,X^4是-C(R)=。在一些实施例中,X^4是-CH=。在一些实施例中,X^4是-CH=。在一些实施例中,X^4是-C(OR^{B4})=。在一些实施例中,X^4是-C(-N(R^{B4})$_2$)=。在一些实施例中,X^4是-C(-N(R^{B4})$_2$)=,其中每个R^{B4}独立地是-L^{B4}-R^{B41}。在一些实施例中,X^4是-C(-NHR^{B4})=。在一些实施例中,X^4是-C(-NHR′)=。在一些实施例中,X^4是-C(-NHR′)=。在一些实施例中,X^4是任选地经取代的-C(-NH_2)=。在一些实施例中,X^4是-C(-NH_2)=。在一些实施例中,X^4是-C(-NHC(O)R)=。在一些实施例中,X^4是-C(R^{B4})$_2$-。在一些实施例中,X^4是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,X^4是-CH_2-。在一些实施例中,X^4是-C(O)-。在一些实施例中,X^4是-C(S)-。在一些实施例中,X^4是-C(Se)-。在一些实施例中,X^4是-C(O)-,其中O形成分子内氢键。在一些实施例中,O与相同BA的X^5的氢键供体形成氢键。在一些实施例中,X^4是-C((=NR^{B4})-。在一些实施例中,X^4是-C((=NR^{B4})-,其中N形成分子内氢键。在一些实施例中,N与相同BA的X^5的氢键供体形成氢键。

[0291] 在一些实施例中,R^{B4}是-L^{B4}-R^{B41}。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=O、=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$、=N-L^{B4}-R^{B41}或任选地经取代的=CH_2或=NH。

[0292] 在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=O。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$。在一些实施例中,=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$是=CH-L^{B4}-R^{B41}。在一些实施例中,=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$是=CHR′。在一些实施例中,=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$是=CHR。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=N-L^{B4}-R^{B41}。在一些实施例中,=N-L^{B4}-R^{B41}是=N-R。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=CH_2。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B4}合在一起形成=NH。在一些实施例中,所形成的基团是用于寡核苷酸合成的合适的保护基,例如氨基保护基。

[0293] 在一些实施例中,X^4是-C(-N=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$)=。在一些实施例中,X^4是-C(-N=CH-L^{B4}-R^{B41})=。在一些实施例中,X^4是-C(-N=CH-N(CH_3)$_2$)=。

[0294] 在一些实施例中,X^4(例如,-C(=N-R)-、=C(R)-等)的R任选地与例如X^5的另一个R

合在一起形成如本文所述的环。

[0295] 在一些实施例中,R^{B4}是R'。在一些实施例中,R^{B4}是R。在一些实施例中,R^{B4}是-H。在一些实施例中,R^{B4}是卤素。在一些实施例中,R^{B4}是-F。在一些实施例中,R^{B4}是-Cl。在一些实施例中,R^{B4}是-Br。在一些实施例中,R^{B4}是-I。在一些实施例中,R^{B4}是-CN。在一些实施例中,R^{B4}是$-NO_2$。在一些实施例中,R^{B4}是$-L^{B4}-R'$。在一些实施例中,R^{B4}是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,R^{B4}是R'。在一些实施例中,R^{B4}是$-CH_2CH_2-$(4-硝基苯基)。

[0296] 在一些实施例中,L^{B4}是共价键。在一些实施例中,L^{B4}不是共价键。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-C(O)-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-C(O)N(R')-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-N(R')-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-NH-代替。在一些实施例中,L^{B4}是或包含任选地经取代的-N=CH-。

[0297] 在一些实施例中,R^{B41}是R'。在一些实施例中,R^{B41}是-H。在一些实施例中,R^{B41}是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。

[0298] 在一些实施例中,X^5是$-C(R^{B5})_2-$。在一些实施例中,X^5是$-CHR^{B5}-$。在一些实施例中,X^5是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中,X^5是$-CH_2-$。在一些实施例中,X^5是$-N(R^{B5})-$。在一些实施例中,X^5是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,X^5是-NH-。在一些实施例中,X^5是$-C(R^{B5})=$。在一些实施例中,X^5是-C(R)=。在一些实施例中,X^5是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,X^5是-CH=。在一些实施例中,X^5是-N=。在一些实施例中,X^5是-C(O)-。在一些实施例中,X^5是-C(S)-。在一些实施例中,X^5是-C(Se)-。

[0299] 在一些实施例中,R^{B5}是卤素。在一些实施例中,R^{B5}是$-L^{B5}-R^{B51}$。在一些实施例中,R^{B5}是$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是R'、-NHR'、-OH或-SH。在一些实施例中,R^{B5}是$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是-NHR、-OH或-SH。在一些实施例中,R^{B5}是$-L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是$-NH_2$、-OH或-SH。在一些实施例中,R^{B5}是$-C(O)-R^{B51}$。在一些实施例中,R^{B5}是R'。在一些实施例中,R^{B5}是R。在一些实施例中,R^{B5}是-H。在一些实施例中,R^{B5}是-OH。在一些实施例中,R^{B5}是$-CH_2OH$。在一些实施例中,R^{B5}是卤素。在一些实施例中,R^{B5}是-F。在一些实施例中,R^{B5}是-Cl。在一些实施例中,R^{B5}是-Br。在一些实施例中,R^{B5}是-I。在一些实施例中,R^{B5}是-CN。在一些实施例中,R^{B5}是$-NO_2$。在一些实施例中,R^{B5}是$-L^{B5}-R'$。

[0300] 在一些实施例中,当X^4是-C(O)-时,X^5是$-C(R^{B5})_2-$、$-C(R^{B5})=$或$-N(R^{B5})-$,其中R^{B5}是$L^{B5}-R^{B51}$,其中R^{B51}是NHR'、OH或-SH。在一些实施例中,X^4是-C(O)-,并且R^{B51}是或包含氢键供体,其与X^4的O形成氢键。

[0301] 在一些实施例中,L^{B5}是共价键。在一些实施例中,L^{B5}是或包含C(O)-。在一些实施例中,L^{B5}是或包含-O-。在一些实施例中,L^{B5}是或包含-OC(O)-。在一些实施例中,L^{B5}是或包含$-CH_2OC(O)-$。

[0302] 在一些实施例中,R^{51}是-R'。在一些实施例中,R^{51}是-R。在一些实施例中,R^{51}是-H。在一些实施例中,R^{51}是$-N(R')_2$。在一些实施例中,R^{51}是-NHR'。在一些实施例中,R^{51}是-NHR。在一些实施例中,R^{51}是$-NH_2$。在一些实施例中,R^{51}是-OR'。在一些实施例中,R^{51}是-OR。在一些实施例中,R^{51}是-OH。在一些实施例中,R^{51}是-SR'。在一些实施例中,R^{51}是-SR。在一些实施例中,R^{51}是-SH。在一些实施例中,R是苄基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。在一些实施例中,R是甲基。

[0303] 在一些实施例中,R^{B5}是-C(O)-R^{B51}。在一些实施例中,R^{B5}是-C(O)$NHCH_2Ph$。在一些实施例中,R^{B5}是-C(O)NHPh。在一些实施例中,R^{B5}是-C(O)$NHCH_3$。在一些实施例中,R^{B5}是-OC(O)-R^{B51}。在一些实施例中,R^{B5}是-OC(O)-R。在一些实施例中,R^{B5}是-OC(O)CH_3。

[0304] 在一些实施例中,X^5直接与X^1键合,并且环BA是5元的。

[0305] 在一些实施例中,X^6是-C(R^{B6})=。在一些实施例中,X^6是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,X^6是-CH=。在一些实施例中,X^6是-C(OR^{B6})=。在一些实施例中,X^6是-C(R^{B6})$_2$-。在一些实施例中,X^6是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,X^6是-CH_2-。在一些实施例中,X^6是-C(O)-。在一些实施例中,X^6是-C(S)-。在一些实施例中,X^6是-C(Se)-。在一些实施例中,X^6是-N=。

[0306] 在一些实施例中,R^{B6}是-L^{B6}-R^{B61}。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B6}合在一起形成=O、=C(-L^{B6}-R^{B61})$_2$、=N-L^{B6}-R^{B61}或任选地经取代的=CH_2或=NH。在一些实施例中,同一原子上的两个R^{B6}合在一起形成=O。在一些实施例中,L^{B6}是共价键。在一些实施例中,R^{B6}是R。在一些实施例中,R^{B6}是-H。

[0307] 在一些实施例中,R^{B6}是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,R^{B6}是R。在一些实施例中,R^{B6}是-H。在一些实施例中,R^{B6}是卤素。在一些实施例中,R^{B6}是-F。在一些实施例中,R^{B6}是-Cl。在一些实施例中,R^{B6}是-Br。在一些实施例中,R^{B6}是-I。在一些实施例中,R^{B6}是-CN。在一些实施例中,R^{B6}是-NO_2。在一些实施例中,R^{B6}是-L^{B6}-R'。

[0308] 在一些实施例中,L^{B6}是共价键。在一些实施例中,L^{B6}是任选地经取代的C_{1-10}亚烷基。在一些实施例中,L^{B6}是-CH_2CH_2-。在一些实施例中,R^{B6}是-CH_2CH_2-(4-硝基苯基)。

[0309] 在一些实施例中,R^{B61}是R'。在一些实施例中,R^{B61}是R。在一些实施例中,R^{B61}是-H。

[0310] 在一些实施例中,环BA^A是单环的。在一些实施例中,环BA^A是5元的。在一些实施例中,环BA^A是6元的。在一些实施例中,环BA^A是双环的。在一些实施例中,环BA^A是9元的。在一些实施例中,环BA^A是10元的。在一些实施例中,环BA^A具有一个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有2个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有3个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有4个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有5个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。

[0311] 在一些实施例中,$X^{1'}$是-(N-)-。在一些实施例中,$X^{1'}$是-C(-)=。

[0312] 在一些实施例中,$X^{2'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{2'}$是-C(S)-。在一些实施例中,$X^{2'}$是-C(Se)-。在一些实施例中,$X^{2'}$是-C($R^{B2'}$)=。在一些实施例中,$X^{2'}$是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,$X^{2'}$是-CH_2-。在一些实施例中,$X^{2'}$是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,$X^{2'}$是-CH=。在一些实施例中,$X^{2'}$是-C($OR^{B2'}$)=。在一些实施例中,$X^{2'}$是-C($OR^{B2'}$)=,其中$R^{B2'}$是-$L^{B2'}$-R'。在一些实施例中,$X^{2'}$是-N=。

[0313] 在一些实施例中,$L^{B2'}$是共价键。

[0314] 在一些实施例中,$R^{B2'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B2'}$是R。在一些实施例中,$R^{B2'}$不是-H。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B2'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-F。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-NO_2。在一些实施例中,$R^{B2'}$是-$L^{B2'}$-R'。

[0315] 在一些实施例中,$X^{3'}$是-N($R^{B3'}$)-。在一些实施例中,$X^{3'}$是-N($R^{B3'}$)-,其中$R^{B3'}$是-

$L^{B3'}$-R'。在一些实施例中,$X^{3'}$是-N(R')-。在一些实施例中,$X^{3'}$是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,$X^{3'}$是-NH-。在一些实施例中,$X^{3'}$是-N=。在一些实施例中,$X^{3'}$是-C($R^{B3'}$)=。

[0316] 在一些实施例中,$L^{B3'}$是共价键。

[0317] 在一些实施例中,$R^{B3'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B3'}$是R。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B3'}$不是-H。在一些实施例中,$R^{B3'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-F。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-NO_2。在一些实施例中,$R^{B3'}$是-$L^{B3'}$-R'。

[0318] 在一些实施例中,$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-CH=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C($OR^{B4'}$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C($OR^{B4'}$)=,其中$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NH$R^{B4'}$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是任选地经取代的-C(-NH_2)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NH_2)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHR')=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N(R')$_2$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)R')=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)NHR')=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)N(R')$_2$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N(R')C(O)N(R')$_2$)=。在一些实施例中,R'是-H。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R'是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R'是甲基。在一些实施例中,R'是乙基。在一些实施例中,R'是异丙基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R'是苯基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的萘基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的2-萘基。在一些实施例中,R'是2-萘基。在一些实施例中,R'是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NH_2)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N(CH_3)$_2$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHEt)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NH(i-Pr))=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)Ph)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)$NHCH_3$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)NHPh)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-NHC(O)NH(2-萘基))=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)$_2$-。在一些实施例中,$X^{4'}$是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-CH_2-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(S)-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(Se)-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(=$NR^{B4'}$)-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-N($R^{B4'}$)-。在一些实施例中,$X^{4'}$是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-NH-。在一些实施例中,$X^{4'}$是-N=。

[0319] 在一些实施例中,$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=O、=C(-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$)$_2$、=N-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$或任选地经取代的=CH_2或=NH。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=O。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=C(-$L^{B4'}R^{B41'}$)$_2$。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=N-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=CH_2。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B4'}$合在一起形成=NH。在一些实施例中,所形成的基团是用于寡核苷酸合成的合适的保护基,例如氨基保护基。

[0320] 在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N=C(-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$)$_2$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N=CH-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$)=。在一些实施例中,$X^{4'}$是-C(-N=CH-N(CH_3)$_2$)=。

[0321] 在一些实施例中,$R^{B4'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B4'}$是R。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B4'}$不是-H。在一些实施例中,$R^{B4'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-F。在一

些实施例中,$R^{B4'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-NO_2。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-R'。

[0322] 在一些实施例中,$R^{B4'}$是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,$R^{B4'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B4'}$是-CH_2CH_2-(4-硝基苯基)。

[0323] 在一些实施例中,$L^{B4'}$是共价键。在一些实施例中,$L^{B4'}$是任选地经取代的C_{1-10}亚烷基。在一些实施例中,$L^{B4'}$是-CH_2CH_2-。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-N(R')-代替。在一些实施例中,R'是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是-H。

[0324] 在一些实施例中,$R^{B41'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B41'}$是R。在一些实施例中,$R^{B41'}$是-H。

[0325] 在一些实施例中,$X^{5'}$是-$C(R^{B5'})_2$-。在一些实施例中,$X^{5'}$是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-CH_2-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-$N(R^{B5'})$-。在一些实施例中,$X^{5'}$是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-NH-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-$C(R^{B5'})$=。在一些实施例中,$X^{5'}$是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,$X^{5'}$是-CH=。在一些实施例中,$X^{5'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-C(S)-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-C(Se)-。在一些实施例中,$X^{5'}$是-N=。

[0326] 在一些实施例中,$L^{B5'}$是共价键。

[0327] 在一些实施例中,$R^{B5'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B5'}$是R。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B5'}$不是-H。

[0328] 在一些实施例中,$R^{B5'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-F。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-NO_2。在一些实施例中,$R^{B5'}$是-$L^{B5'}$-R'。

[0329] 在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(R^{B6'})$=。在一些实施例中,$X^{6'}$是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-CH=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(OR^{B6'})$=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(OR^{B6'})$=,其中$R^{B6'}$是-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(R^{B6'})_2$-。在一些实施例中,$X^{6'}$是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,$X^{6'}$是-CH_2-。在一些实施例中,$X^{6'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{6'}$是-C(S)-。在一些实施例中,$X^{6'}$是-C(Se)-。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(-N(R^{B6'})_2)$=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(-N(R^{B6'})_2)$=,其中每个$R^{B6'}$独立地是-$L^{B6'}R^{B61'}$。在一些实施例中,$X^{6'}$是-$C(-N(R')_2)$=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-C(-NHR')=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-C(-NHC(O)R)=。在一些实施例中,$X^{6'}$是-N=。

[0330] 在一些实施例中,$R^{B6'}$是-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B6'}$合在一起形成=O、$=C(-L^{B6'}-R^{B61'})_2$、$=N-L^{B6'}-R^{B61'}$或任选地经取代的$=CH_2$或=NH。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B6'}$合在一起形成=O。

[0331] 在一些实施例中,$L^{B6'}$是共价键。在一些实施例中,$L^{B6'}$是任选地经取代的C_{1-10}亚烷基。在一些实施例中,$L^{B6'}$是-CH_2CH_2-。

[0332] 在一些实施例中,$R^{B6'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B6'}$是R。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B6'}$不是-H。在一些实施例中,$R^{B6'}$是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,$R^{B6'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-CH_2CH_2-(4-硝基苯基)。

[0333] 在一些实施例中,$R^{B61'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B61'}$是R。在一些实施例中,$R^{B61'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B61'}$不是-H。

[0334] 在一些实施例中,$R^{B6'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-F。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B6'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B6'}$是$-NO_2$。在一些实施例中,$R^{B6'}$是$-L^{B6'}-R'$。

[0335] 在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(R^{B7'})=$。在一些实施例中,$X^{7'}$是任选地经取代的-CH=。在一些实施例中,$X^{7'}$是-CH=。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(OR^{B7'})=$。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(OR^{B7'})=$,其中$R^{B7'}$是$-L^{B7'}-R^{B71'}$。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(R^{B7'})_2-$。在一些实施例中,$X^{7'}$是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-CH_2-$。在一些实施例中,$X^{7'}$是-C(O)-。在一些实施例中,$X^{7'}$是-C(S)-。在一些实施例中,$X^{7'}$是-C(Se)-。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(-N(R^{B7'})_2)=$。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-C(-N(R^{B7'})_2)=$,其中每个$R^{B7'}$独立地是$-L^{B7'}-R^{B71'}$。在一些实施例中,$X^{7'}$是$-N(R^{B7'})-$。在一些实施例中,$X^{7'}$是任选地经取代的-NH-。在一些实施例中,$X^{7'}$是-NH-。在一些实施例中,$X^{7'}$是-N=。

[0336] 在一些实施例中,$R^{B7'}$是$-L^{B7'}-R^{B71'}$。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B7'}$合在一起形成=O、$=C(-L^{B7'}-R^{B71'})_2$、$=N-L^{B7'}-R^{B71'}$或任选地经取代的$=CH_2$或=NH。在一些实施例中,同一原子上的两个$R^{B7'}$合在一起形成=O。在一些实施例中,$L^{B7'}$是共价键。在一些实施例中,$R^{B7'}$是R。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B7'}$不是-H。在一些实施例中,$R^{B7'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-F。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-Cl。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-Br。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-I。在一些实施例中,$R^{B7'}$是-CN。在一些实施例中,$R^{B7'}$是$-NO_2$。在一些实施例中,$R^{B7'}$是$-L^{B7'}-R'$。

[0337] 在一些实施例中,$L^{B7'}$是共价键。在一些实施例中,$L^{B7'}$是任选地经取代的C_{1-10}亚烷基。在一些实施例中,$L^{B7'}$是$-CH_2CH_2-$。

[0338] 在一些实施例中,$R^{B71'}$是R'。在一些实施例中,$R^{B71'}$是R。在一些实施例中,$R^{B71'}$是-H。在一些实施例中,$R^{B71'}$不是-H。

[0339] 在一些实施例中,L^B是共价键。在一些实施例中,L^B是任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和脂肪族链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R′)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR′)-、-C(O)N(R′)-、-N(R′)C(O)N(R′)-、-N(R′)C(O)O-、-S(O)-、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、-C(O)S-或-C(O)O-代替。在一些实施例中,L^B是具有1-6个杂原子的任选地经取代的二价C_{1-10}饱和或部分不饱和的杂脂肪族链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被-Cy-、-O-、-S-、-N(R′)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR′)-、-C(O)N(R′)-、-N(R′)C(O)N(R′)-、-N(R′)C(O)O-、-S(O)-、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、-C(O)S-或-C(O)O-代替。在一些实施例中,至少亚甲基单元被代替。在一些实施例中,L^B是任选地经取代的C_{1-10}亚烷基。在一些实施例中,L^B是任选地经取代的C_{1-6}亚烷基。在一些实施例中,L^B是任选地经取代的C_{1-4}亚烷基。在一些实施例中,L^B是$-CH_2CH_2-$。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-C(O)-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-C(O)N(R′)-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-N(R′)-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-NH-代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被-Cy-代替。在一些实施例中,L^B是或包含任选地经取代的-N=CH-。在一些实施例中,L^B是或包含-C(O)-。在一些实施例中,L^B是或包含-O-。在一些实施例中,L^B是或包含-OC(O)-。在一些实施例中,L^B是或包含$-CH_2OC(O)-$。

[0340] 在一些实施例中,每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环、饱和、部分饱和的或芳族环。本文描述了-Cy-的合适的单环单元。在一些实施例中,-Cy-是单环的。在一些实施例中,-Cy-是双环的。在一些实施例中,-Cy-是多环的。在一些实施例中,-Cy-是具有0-5个杂原子的任选地经取代的二价3-10元单环、饱和或部分不饱和的环。在一些实施例中,-Cy-是具有0-5个杂原子的任选地经取代的二价5-10元芳族环。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是亚苯基。

[0341] 在一些实施例中,R′是R。在一些实施例中,R′是-C(O)R。在一些实施例中,R′是-C(O)OR。在一些实施例中,R′是-C(O)N(R)$_2$。在一些实施例中,R′是-SO_2R。

[0342] 在一些实施例中,多种结构中的R′是保护基(例如,对于氨基、羟基等),例如,适合于寡核苷酸合成的保护基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。在一些实施例中,R是4-硝基苯基。在一些实施例中,R是-CH_2CH_2-(4-硝基苯基)。在一些实施例中,R′是-C(O)NPh_2。

[0343] 在一些实施例中,每个R独立地是-H或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-10}脂肪族基、具有1-5个杂原子的C_{1-10}杂脂肪族基、C_{6-14}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-5个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-5个杂原子的5-14元杂芳基和具有1-5个杂原子的3-10元杂环基,或

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个(例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)杂原子的任选地经取代的3-15元单环、双环或多环;或

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个(例如0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)杂原子的任选地经取代的3-15元单环、双环或多环。

[0344] 在一些实施例中,每个R独立地是-H或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-20}脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族基、C_{6-30}芳基、C_{6-30}芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C_{6-30}芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-30元杂环基。在一些实施例中,每个R独立地是-H或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-10}脂肪族基、具有1-5个杂原子的C_{1-10}杂脂肪族基、C_{6-14}芳基、C_{6-20}芳基脂肪族基、具有1-5个杂原子的C_{6-20}芳基杂脂肪族基、具有1-5个杂原子的5-14元杂芳基和具有1-5个杂原子的3-10元杂环基。在一些实施例中,两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键。在一些实施例中,同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,同一个原子上的两个基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中,两个或更多个原子上的两个基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中,所形成的环是单环的。在一些实施例中,所形成的环是双环的。

在一些实施例中,所形成的环是多环的。在一些实施例中,每个单环单元独立地是3-10(例如,3-8、3-7、3-6、5-10、5-8、5-7、5-6、3、4、5、6、7、8、9或10等)元的,并且独立地是饱和的、部分饱和的或芳族的,并且独立地具有0-5个杂原子。在一些实施例中,环是饱和的。在一些实施例中,环是部分饱和的。在一些实施例中,环是芳族的。在一些实施例中,所形成的环具有1-5个杂原子。在一些实施例中,所形成的环具有1个杂原子。在一些实施例中,所形成的环具有2个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。

[0345] 在一些实施例中,R是-H。

[0346] 在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}、C_{1-15}、C_{1-10}、C_{1-8}、C_{1-6}、C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}或C_{1-2}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的环烷基。

[0347] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C_{1-20}杂脂肪族基。

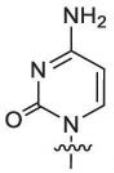
[0348] 在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{6-20}芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。

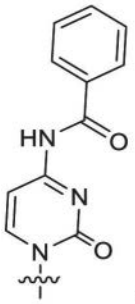
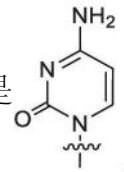
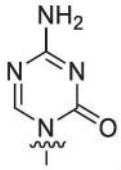
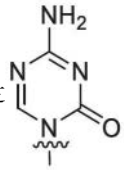
[0349] 在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{6-20}芳基脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{6-20}芳基烷基。在一些实施例中,R是苄基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C_{6-20}芳基杂脂肪族基。

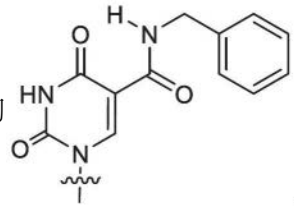
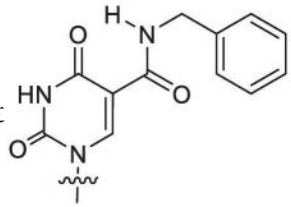
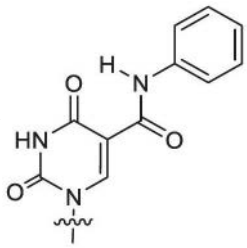
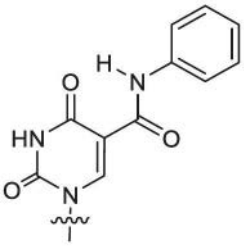
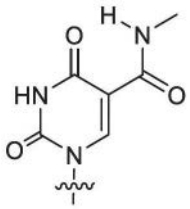
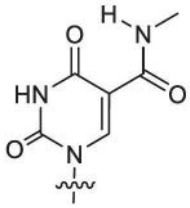
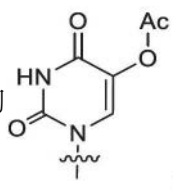
[0350] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的3-10元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基。在一些实施例中,杂环基是饱和的。在一些实施例中,杂环基是部分饱和的。

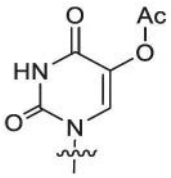
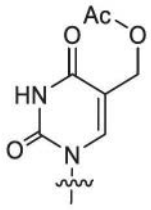
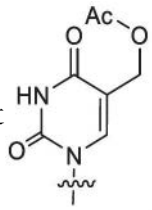
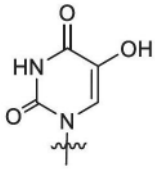
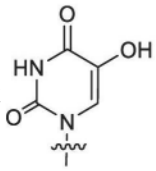
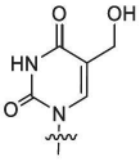
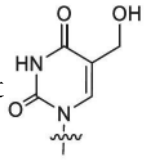
[0351] 在一些实施例中,杂原子选自硼、氮、氧、硫、硅和磷。在一些实施例中,杂原子选自氮、氧、硫和硅。在一些实施例中,杂原子选自氮、氧和硫。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。在一些实施例中,杂原子是硫。

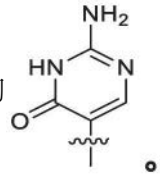
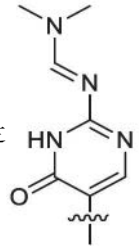
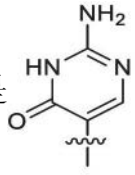
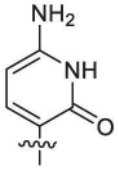
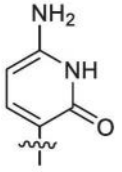
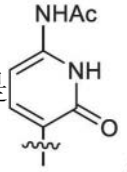
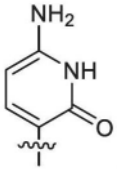
[0352] 如本领域技术人员所理解的,针对变量描述的实施例可以容易地组合以提供多种结构。本领域技术人员还理解,针对变量描述的实施例可以容易地用于可以是该变量的其他变量,例如,R的实施例用于R′、R^{B2}、R^{B3}、R^{B4}、R^{B5}、R^{B6}、$R^{B2'}$、$R^{B3'}$、$R^{B4'}$、$R^{B5'}$、$R^{B6'}$等;L^B的实施例用于L^{B2}、L^{B3}、L^{B4}、L^{B5}、L^{B6}、$L^{B2'}$、$L^{B3'}$、$L^{B4'}$、$L^{B5'}$、$L^{B6'}$等。示例性实施例及其组合包括但不限于本文例示的结构。某些实例描述如下。

[0353] 例如,在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的  在一些实施

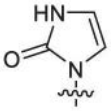
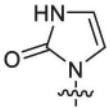
例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是

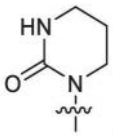
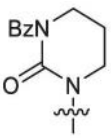
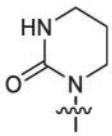
[0354] 在一些实施例中,X^4是-C(O)-,并且X^4的-C(O)-中的O可与R^5的-H(例如,R^5′的-NHR′、-OH或-SH中的-H)形成氢键。在一些实施例中,X^4是-C(O)-,并且X^5是-C(R^5)=。在一些实施例中,R^5′是-NHR′。在一些实施例中,R^5是-L^{B5}-NHR′。在一些实施例中,L^{B5}是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,亚甲基单元被-C(O)-代替。在一些实施例中,L^{B5}是-C(O)-。在一些实施例中,R′是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R′是-CH_2Ph。在一些实施例中,R'是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R'是苯基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R′是甲基。在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环

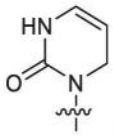
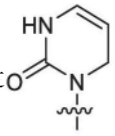
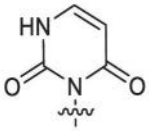
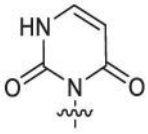
BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是。

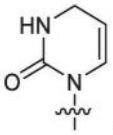
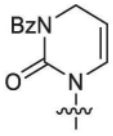
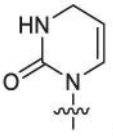
[0355] 在一些实施例中,X^1是-C(-)=,并且X^4是=C(-N(R^{B4})$_2$)-。在一些实施例中,同一原子(例如,氮原子)上的两个R基团合在一起形成任选地经取代的=CH_2或=NH。在一些实施例中,同一原子(例如,氮原子)上的两个R基团合在一起形成任选地经取代的=C(-L^{B4}--R)$_2$、=N-L^{B4}--R。在一些实施例中,所形成的基团是=CHN(R)$_2$。在一些实施例中,所形成的基团是=CHN(CH_3)$_2$。在一些实施例中,X^4是=C(-N=CHN(CH_3)$_2$)-。在一些实施例中,-N(R^{B4})$_2$是-NR^{B4}。在一些实施例中,R^{B4}是-NHC(O)R。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的 在一些实施例中,环BA是任选地被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是。

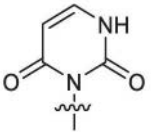
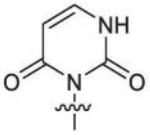
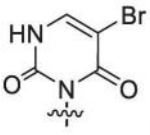
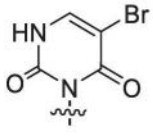
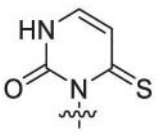
[0356] 在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,并且X^3是-N(R^{B3})-。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,X^3是-N(R^{B3})-,并且X^4是-C(R^{B4})=。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2

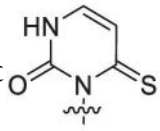
是-C(O)-，X^3是-N(R^{B3})-，X^4是-C(R^{B4})=，并且X^5是-C(R^{B5})=。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是。

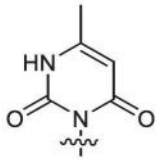
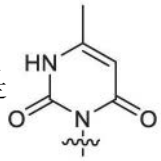
[0357] 在一些实施例中，X^3是-N(R′)-。在一些实施例中，R'是-C(O)R。在一些实施例中，X^4是-C(R^{B4})$_2$-。在一些实施例中，R^{B4}是-R。在一些实施例中，R^{B4}是-H。在一些实施例中，X^4是-CH_2-。在一些实施例中，X^5是-C(R^{B5})$_2$-。在一些实施例中，R^{B5}是-R。在一些实施例中，R^{B5}是-H。在一些实施例中，X^5是-CH_2-。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是 在一些实施例中，环BA是。

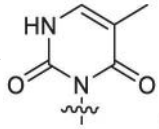
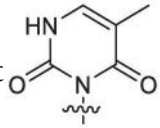
[0358] 在一些实施例中，X^4是-C(R^{B4})=。在一些实施例中，X^4是-CH=。在一些实施例中，X^5是-C(R^{B5})=。在一些实施例中，X^5是-CH=。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是 在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是。

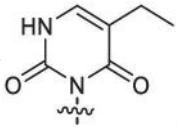
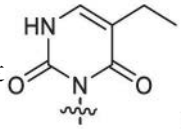
[0359] 在一些实施例中，X^4是-C(R^{B4})$_2$-。在一些实施例中，X^4是-CH_2-。在一些实施例中，X^5是-C(R^{B5})=。在一些实施例中，X^5是-CH=。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是 在一些实施例中，环BA是。

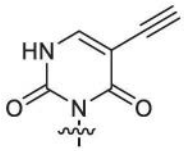
[0360] 在一些实施例中，X^1是-N(-)-，X^2是-C(O)-，X^3是-N(R^{B3})-，X^4是-C(R^{B4})=，X^5是-C(R^{B5})=，X^6是-C(O)-。在一些实施例中，X^1是-N(-)-，X^2是-C(O)-，X^3是-N(R^{B3})-，X^4是-C(R^{B4})=，X^5是-C(R^{B5})=，X^6是-C(S)-。在一些实施例中，R^{B3}、R^{B4}和R^{B5}中的每个独立地是R。在一些实施例中，R^{B3}是-H。在一些实施例中，R^{B4}是-H。在一些实施例中，R^{B5}是-H。在一些实施例中，BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，BA是 在一些实施例中，BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，BA是 在一些实施例中，BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一些

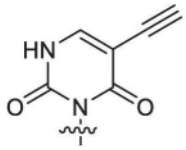
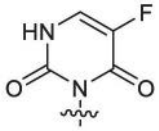
实施例中,BA是 在一些实施例中,BA是或包含任选地经取代的或被保护的

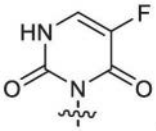
 在一些实施例中,BA是 在一些实施例中,BA是或包含任选地经取

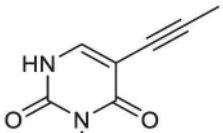
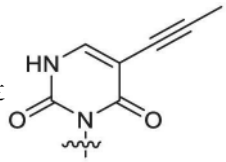
代的或被保护的 在一些实施例中,BA是 在一些实施例中,BA是或

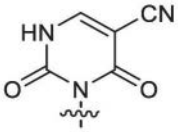
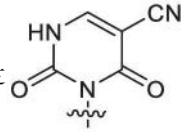
包含任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,BA是 在一些

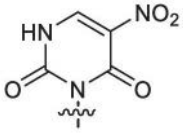
实施例中,BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,BA是

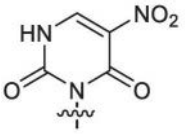
 在一些实施例中,BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一

些实施例中,BA是 在一些实施例中,BA是或包含任选地经取代的或被保护的

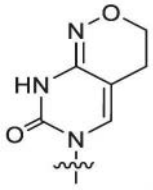
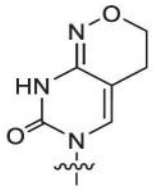
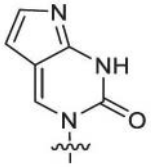
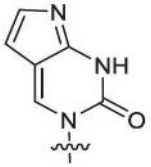
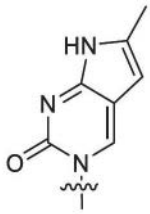
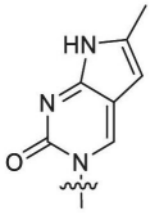
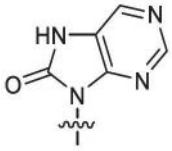
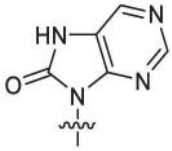
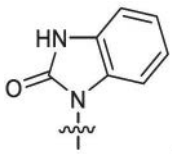
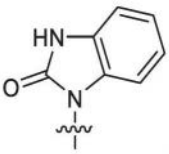
 在一些实施例中,BA是 在一些5实施例中,BA是或包含任

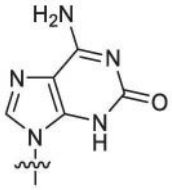
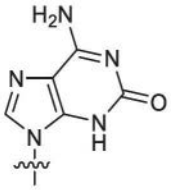
选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,BA是 在一些实施

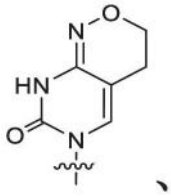
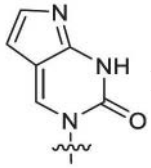
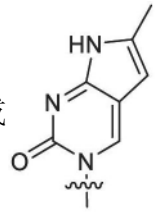
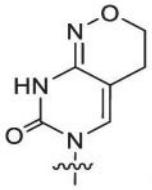
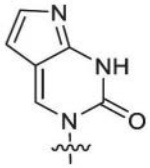
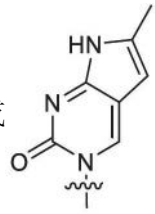
例中,BA是或包含任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,BA是

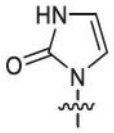
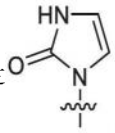


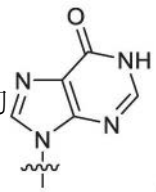
[0361] 在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,X^3是-N(R^{B3})-。

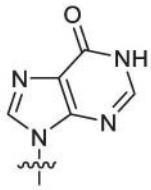
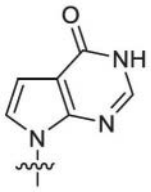
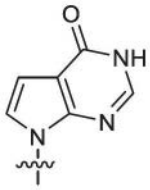
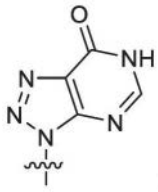
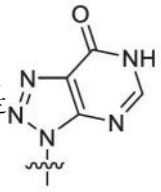
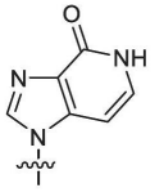
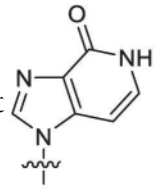
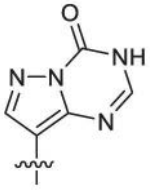
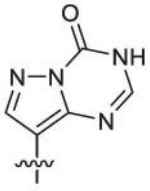
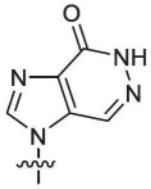
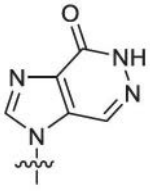
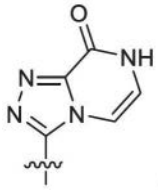
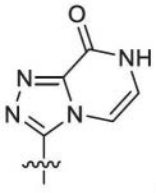
在一些实施例中,X^4是-C(R^{B4})$_2$-,其中两个R^{B4}合在一起形成=O或=C(-L^{B4}-R^{B41})$_2$、=N-L^{B4}-R^{B41}。在一些实施例中,X^4是-C(=NR^{B4})-。在一些实施例中,X^5是-C(R^{B5})=。在一些实施例中,R^{B41}或R^{B4}和R^{B5}是R,并且与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,X^3是-N=。在一些实施例中,X^4是-C(-N(R^{B4})$_2$)=。在一些实施例中,X^4是-C(-NHR^{B4})=。在一些实施例中,X^5是-C(R^{B5})=。在一些实施例中,一个R^{B4}和R^{B5}合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环。在一些实施例中,所形成的环是具有氮原子的任选地经取代的5元环。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,环BA是。在一些实施例中,环BA是任选地经取

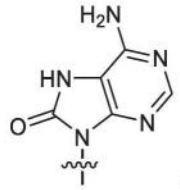
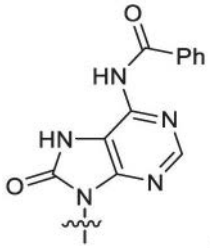
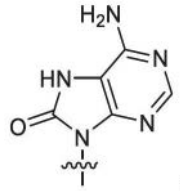
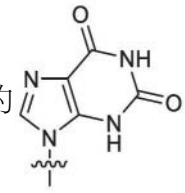
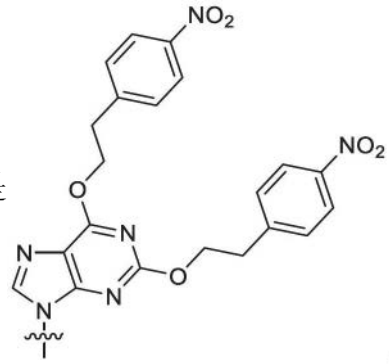
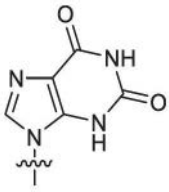
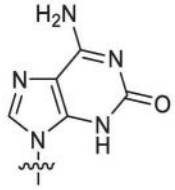
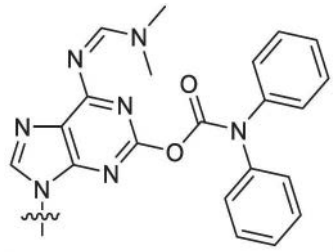
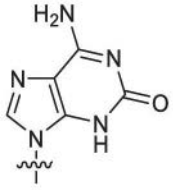
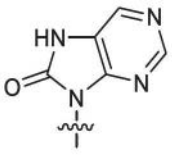
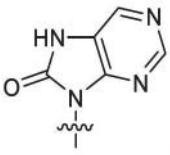
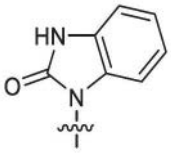
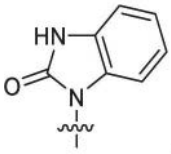
代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是。

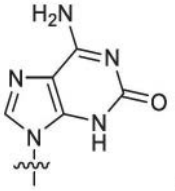
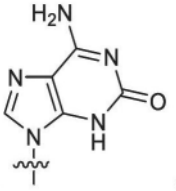
[0362] 在一些实施例中,环BA具有式BA-IV或BA-V的结构。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,并且X^3是-N=。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,X^3是-N=,并且X^6是-C(R^{B6})=。在一些实施例中,环BA^A是5-6元的。在一些实施例中,环BA^A是单环的。在一些实施例中,环BA^A是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA^A是芳族的。在一些实施例中,环BA^A具有0-2个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有1-2个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有一个杂原子。在一些实施例中,环BA^A具有2个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的、或。在一些实施例中,环BA是、或。

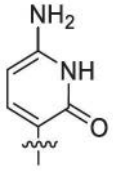
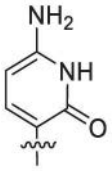
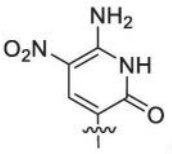
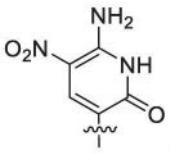
[0363] 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的5元环。在一些实施例中,X^1与X^5键合。在一些实施例中,X^4和X^5各自独立地是-CH=。在一些实施例中,X^1是-N(-)-,X^2是-C(O)-,X^3是-NH-,X^4是-CH=,并且X^5是-CH=。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,环BA是。

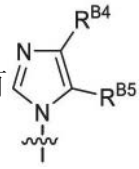
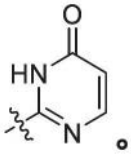
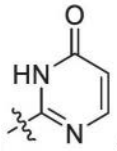
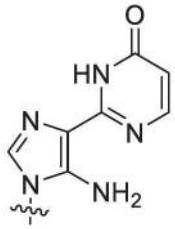
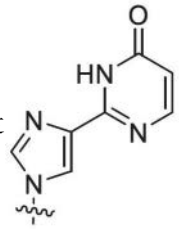
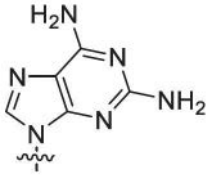
[0364] 在一些实施例中,环BA具有式BA-VI的结构。在一些实施例中,$X^{1'}$是-N(-)-,$X^{2'}$是-C(O)-并且$X^{3'}$是-N(R^{B3})-。在一些实施例中,$X^{1'}$是-N(-)-,$X^{2'}$是-C(O)-,$X^{3'}$是-N(R^{B3})-,$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)=,$X^{5'}$是-N=,$X^{6'}$是-C($R^{B6'}$)=,并且$X^{7'}$是-N=。在一些实施例中,$X^{1'}$是-N(-)-,$X^{2'}$是-C(O)-,$X^{3'}$是-N(R^{B3})-,$X^{4'}$是-C(RB$^{4'}$)=,$X^{5'}$是-C($R^{B5'}$)=,$X^{6'}$是-C($R^{B6'}$)=,并且$X^{7'}$是-C($R^{B7'}$)=。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例

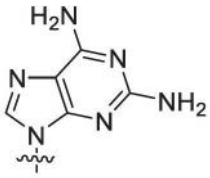
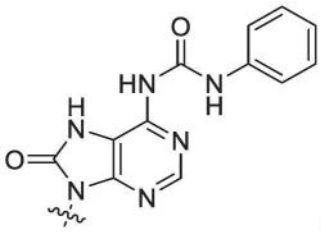
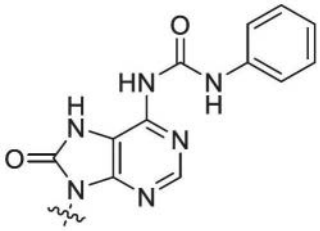
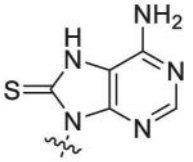
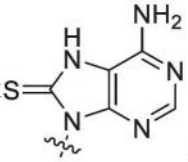
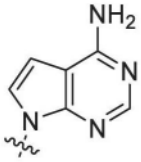
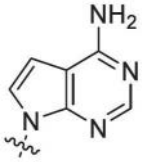
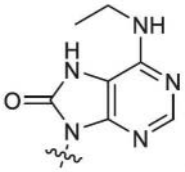
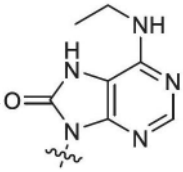
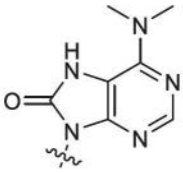
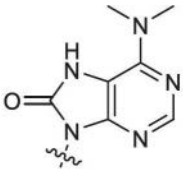
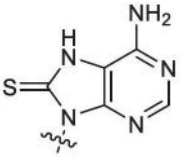
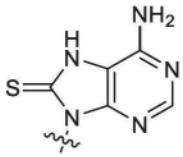
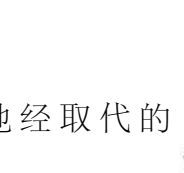
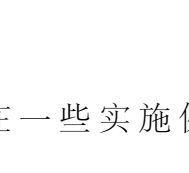
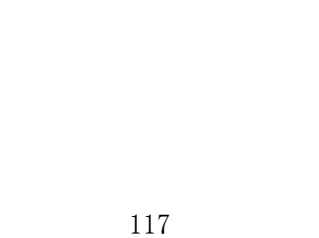
中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中,环BA是 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的

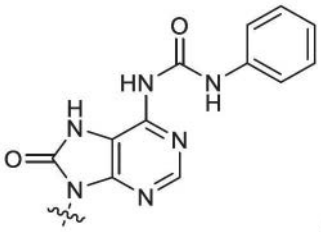

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的

在一些实施例中，环BA是

在一些实施例中，$X^{1'}$是-N(-)-，$X^{2'}$是-C($R^{B2'}$)=，并且$X^{3'}$是-N=。在一些实施

例中，$X^{1'}$是-N(-)-，$X^{2'}$是-C($R^{B2'}$)=，$X^{3'}$是-N=，$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=，$X^{5'}$是-N=，$X^{6'}$是-C(O)-，并且$X^{7'}$是-N($R^{B7'}$)-。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是。

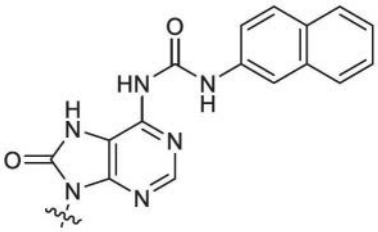
[0365] 在一些实施例中，X^1是-C(-)=，X^2是-C(O)-，并且X^3是-N(R^{B3})-。在一些实施例中，X^1是-C(-)=，X^2是-C(O)-，X^3是-N(R^{B3})-、-C(-N(R^{B4})$_2$)=，并且X^4是-C(R^{B4})=。在一些实施例中，X^1是-C(-)=，X^2是-C(O)-，X^3是-N(R^{B3})-·-C(-N(R^{B4})$_2$)=，X^4是-C(R^{B4})=，并且X^6是-C(R^{B6})=。在一些实施例中，R^{B3}、R^{B4}和R^{B6}中的每个独立地是-H。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是 在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的 在一些实施例中，环BA是。

[0366] 在一些实施例中，环BA具有的结构。一些实施例中，R^{B4}是任选地经取代的芳基。一些实施例中，R^{B4}是任选地经取代的 在一些实施例中，R^{B4}是 在一些实施例中，R^{B5}是-H。在一些实施例中，R^{B5}是-N(R')$_2$。在一些实施例中，R^{B5}是-NH_2。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的 在一些实施例中，环BA是 在一些实施例中，环BA是任选地经取代的 在一些实施例中，环BA是


在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

在一些实施例中,环BA是

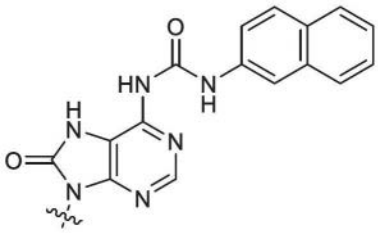


在一些实施例中,环BA是任选地经取代的

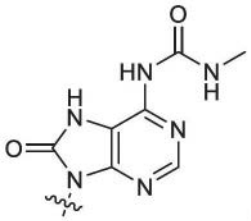


。

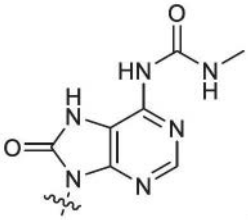
在一些实施例中,环BA是



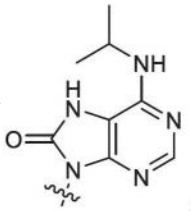
。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



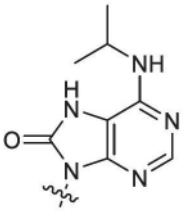
。在一些实施例中,环BA是



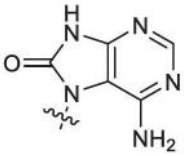
。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



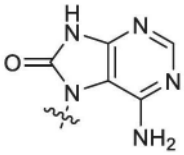
。在一些实施例中,环BA是



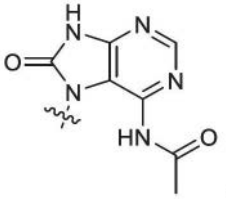
。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



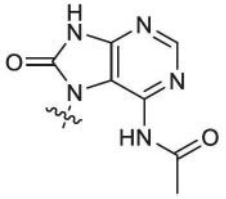
。在一些实施例中,环BA是



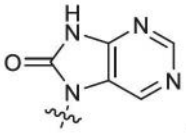
。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



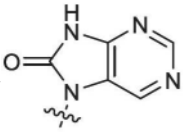
。在一些实施例中,环BA是



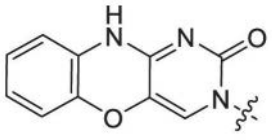
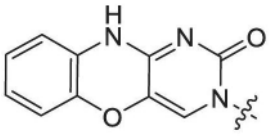
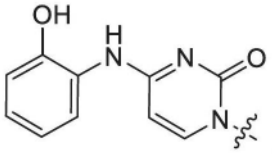
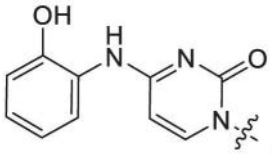
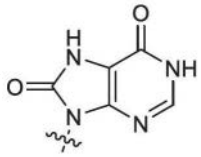
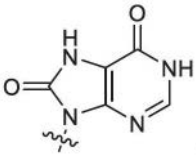
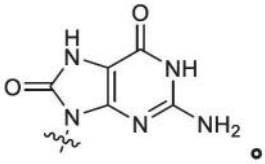
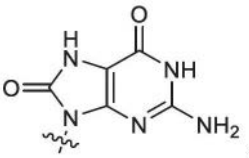
。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的



。在一些实施例中,环BA是



。在一些实施例中,环BA

是任选地经取代的。在一些实施例中，环BA是。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的。在一些实施例中，环BA是。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的。在一些实施例中，环BA是。在一些实施例中，环BA是任选地经取代的。在一些实施例中，环BA是。

[0367] 如本文所述，环BA可以是任选地经取代的。在一些实施例中，当X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-时，它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中，当X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH=、-CH_2-或-NH-时，它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中，当X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH=时，它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中，当X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH_2-时，它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中，当X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-NH-时，它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中，X^2是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，X^3是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，X^4是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，X^5是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，X^6是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{2'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{3'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{4'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{5'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{6'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。在一些实施例中，$X^{7'}$是任选地经取代的-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-。

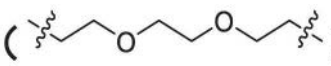
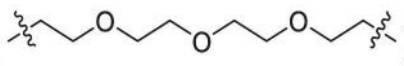
[0368] 在一些实施例中，$X^{8'}$是C。在一些实施例中，$X^{8'}$是N。在一些实施例中，$X^{9'}$是C。在一些实施例中，$X^{9'}$是N。在一些实施例中，$X^{8'}$是C并且$X^{9'}$是C。在一些实施例中，$X^{8'}$是C并且$X^{9'}$是

N。在一些实施例中，$X^{8'}$是N并且$X^{9'}$是C。在一些实施例中，$X^{8'}$是N并且$X^{9'}$是N。

[0369] 在一些实施例中，环BA是芳族的。在一些实施例中，环BA是芳族的并且具有一个或多个，例如1-5个氮环原子。在一些实施例中，环BA包含具有一个或多个，例如1-5个氮环原子的、任选地经取代的芳族环。

[0370] 如本文所展示的，在一些实施例中，所提供的包含与靶腺苷相反的某些核碱基(例如，b001A、b002A、b008U、C、A等)的寡核苷酸尤其可以提供改善的编辑效率(例如，与参考核碱基诸如U相比)。在一些实施例中，相反核苷在其3′侧与I连接。

[0371] 在一些实施例中，核碱基是如本文所述的环BA。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个如本文所述的环BA。

[0372] 在一些实施例中，相反核苷是无碱基的，例如具有L010  L012 或L028 的结构。如本领域技术人员所理解的和在多种寡核苷酸中所展示的，无碱基核苷也可以用于寡核苷酸的其他部分，并且寡核苷酸可以包含一个或多个(例如，1、2、3、4、5个或更多个)任选地连续的无碱基核苷。在一些实施例中，第一结构域包含一个或多个任选地连续的无碱基核苷。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个且不多于一个无碱基核苷。在一些实施例中，每个无碱基核苷独立地在第一结构域中或在第二结构域的第一子结构域中。在一些实施例中，每个无碱基核苷独立地在第一结构域中。在一些实施例中，每个无碱基核苷独立地在第二结构域的第一子结构域中。在一些实施例中，无碱基核苷与靶腺苷相反。如本文所展示的，单个无碱基核苷可以代替各自独立地包含参考寡核苷酸中的核碱基的一个或多个核苷，例如，L010可以用于代替1个包含核碱基的核苷，L012可以用于代替1、2或3个各自独立地包含核碱基的核苷，并且L028可以用于代替1、2或3个各自独立地包含核碱基的核苷。在一些实施例中，碱性核苷通过立体随机键联(例如，立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联)连接到其3′紧邻核苷(其任选地是无碱基的)。在一些实施例中，每个碱性核苷独立地通过立体随机键联(例如，立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联)连接到其3′紧邻核苷(其任选地是无碱基的)。

[0373] 在一些实施例中，与靶腺嘌呤相反的经修饰的核碱基可以极大地改善寡核苷酸的特性和/或活性。在一些实施例中，在相反位置处的经修饰的核碱基可以提供高活性，甚至当存在与其相邻(例如，在3′侧)的G时，和/或其他核碱基(例如，C)提供低得多的活性或几乎检测不到的活性。

[0374] 在一些实施例中，第二结构域包含一个或多个包含两个2′-H的糖(例如，天然DNA糖)。在一些实施例中，第二结构域包含一个或多个包含2′-OH的糖(例如，天然RNA糖)。在一些实施例中，第二结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中，经修饰的糖是双环糖，例如LNA糖。在一些实施例中，经修饰的糖是无环糖(例如，通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0375] 在一些实施例中，第二结构域包含约1-50个(例如，约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个，或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等，约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、

11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,数目为6。在一些实施例中,数目为7。在一些实施例中,数目为8。在一些实施例中,数目为9。在一些实施例中,数目为10。在一些实施例中,数目为11。在一些实施例中,数目为12。在一些实施例中,数目为13。在一些实施例中,数目为14。在一些实施例中,数目为15。在一些实施例中,数目为16。在一些实施例中,数目为17。在一些实施例中,数目为18。在一些实施例中,数目为19。在一些实施例中,数目为20。在一些实施例中,R是甲基。

[0376] 在一些实施例中,第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少

约55％。在一些实施例中,百分比为至少约60％。在一些实施例中,百分比为至少约65％。在一些实施例中,百分比为至少约70％。在一些实施例中,百分比为至少约75％。在一些实施例中,百分比为至少约80％。在一些实施例中,百分比为至少约85％。在一些实施例中,百分比为至少约90％。在一些实施例中,百分比为至少约95％。在一些实施例中,百分比为约100％。在一些实施例中,R是甲基。

[0377] 在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如约5、6、7、8、9、或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域中约5％-100％(例如约10％-100％、20％-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域中约50％-100％(例如约50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、或100％等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域的经修饰的糖各自独立地选自双环糖(例如LNA糖)、无环糖(例如UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖、或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0378] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域不含2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第二结构域中不超过约1％-95％(例如,不超过约1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％等)的糖包含2'-F。在一些实施例中,第二结构域中不超过约50％的糖包含2'-F。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-NH_2修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0379] 在一些实施例中,第二结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第二结构域中不超过约50%的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第二结构域中没有糖包含2′-MOE。

[0380] 在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-

100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第二结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例

中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的核苷酸间键联与第二结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第一结构域中的核苷和第二结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第二结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,据观察,高百分比的Sp核苷酸间键联(例如,相对于Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联)可以提供改善的特性和/或活性,例如,高稳定性和/或高腺苷编辑活性。

[0381] 在一些实施例中,第二结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第二结构域中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二结构域中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二结构域中所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为

约或不超过约50％。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0382] 在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0383] 在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0384] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第二结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第二结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第二结构域的3′-末端。在一些实施例中,第二结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。

[0385] 在一些实施例中,连接第二结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的后两个核苷

是寡核苷酸的后两个核苷。在一些实施例中,连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,如n001。

[0386] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二结构域不含天然磷酸酯键联。

[0387] 在一些实施例中,第二结构域募集蛋白如ADAR蛋白,促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第二结构域募集蛋白如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第二结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第二结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

[0388] 在一些实施例中,第二结构域包含如本文所述的第一子结构域或由其组成。在一些实施例中,第二结构域包含如本文所述的第二子结构域或由其组成。在一些实施例中,第二结构域包含如本文所述的第三子结构域或由其组成。在一些实施例中,第二结构域从5′至3′包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。下面描述这样的子结构域的某些实施例。

第一子结构域

[0389] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5′至3′包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5′至3′包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第一子结构域的某些实施例。在一些实施例中,第一子结构域包含与待修饰(例如,转化成I)的靶腺苷相反的核苷。

[0390] 在一些实施例中,第一子结构域具有约1-50、1-40、1-30、1-20个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约6-12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约6-9个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-5个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有4个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有5个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有6个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有7个核碱基的

长度。在一些实施例中,第一子结构域具有8个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有9个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有15个核碱基的长度。

[0391] 在一些实施例中,第一子结构域是第二结构域的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%,5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。

[0392] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0393] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,存在1个摆动。在一些实施例中,存在2个摆动。在一些实施例中,存在3个摆动。在一些实施例中,存在4个摆动。在一些实施例中,存在5个摆动。在一些实施例中,存在6个摆动。在一些实施例中,存在7个摆动。在一些实施例中,存在8个摆动。在一些实施例中,存在9个摆动。在一些实施例中,存在10个摆动。

[0394] 在一些实施例中,第一子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0395] 在一些实施例中,第一子结构域与靶核酸完全互补。

[0396] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0397] 在一些实施例中,第一子结构域包含与靶腺苷相反的核苷,例如当寡核苷酸与靶

核酸形成双链体时。本文描述了合适的核碱基,包括相反核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b、或BA-VI、或环BA的互变异构体。

[0398] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0399] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,数目为6。在一些实施例中,数目为7。在一些实施例中,数目为8。在一些实施例中,数目为9。在一些实施例中,数目为10。在一些实施例中,数目为11。在一些实施例中,数目为12。在一些实施例中,数目为13。在一些实施例中,数目为14。在一些实施例中,数目为15。在一些实施例中,数目为16。在一些实施例中,数目为17。在一些实施例中,数目为18。在一些实施例中,数目为19。在一些实施例中,数目为20。在一些实施例中,R是甲基。

[0400] 在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立

地是经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,R是甲基。

[0401] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50个(例如约5、6、7、8、9、或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中约50%-100%(例如约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰糖。在一些实施例中,第一子结构域的经修饰的糖各自独

立地选自双环糖(例如LNA糖)、无环糖(例如UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖、或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中的每个糖是2'-F修饰的糖。

[0402] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0403] 在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2′-OMe。

[0404] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域不含2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如约1-20个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如约1-20个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与2′-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2′-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-F。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约50%

的糖包含2'-F。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)$_2$修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-NH_2修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0405] 在一些实施例中,第一子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约50%的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第一子结构域中没有糖包含2′-MOE。

[0406] 在一些实施例中,第一子结构域含有比2'-F修饰的糖更多的2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域仅含有3个核苷,其中两个独立地是2'-OR修饰的糖,一个是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,2'-F修饰的核苷位于第一子结构域的3'-末端并与第二子结构域连接。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,糖是2'-OMe修饰的并且糖是2'-MOE。在一些实施例中,第一子结构域仅含有3个核苷,其为N_2、N_3和N_4。

[0407] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实

施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、

50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第一子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域的核苷酸间键联与第一子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第一子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第一子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第一子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性控制的;在一些实施例中,其是Rp;在一些实施例中,其是Sp。

[0408] 在一些实施例中,第一子结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第一子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第一子结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-

95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，水平为第一子结构域中的所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比为至少约90%。在一些实施例中，百分比为至少约95%。在一些实施例中，百分比为约100%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中，百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中，约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5，例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中，数目为约或不大于约1。在一些实施例中，数目为约或不大于约2。在一些实施例中，数目为约或不大于约3。在一些实施例中，数目为约或不大于约4。在一些实施例中，数目为约或不大于约5。在一些实施例中，数目为约或不大于约6。在一些实施例中，数目为约或不大于约7。在一些实施例中，数目为约或不大于约8。在一些实施例中，数目为约或不大于约9。在一些实施例中，数目为约或不大于约10。

[0409] 在一些实施例中，第一子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中，每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中，高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中，第一子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中，一个或多个，例如约1-5个(例如，约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0410] 在一些实施例中，如在某些实例中所展示的，第一子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联，其各自任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中，每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中，每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中，手性不带负电

荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第一子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第一子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第一子结构域的3′-末端。在一些实施例中,第一子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,如n001。

[0411] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一子结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,每个2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,50%或更多(例如50%-100%、50%-90%、50%-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的与两个2'-OR修饰的糖键合的核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如

50％-100％、50％-90％、50％-80％，或约50％、60％、66％、70％、75％、80％、90％或更多)的与两个2'-OMe或2'-MOE修饰的糖键合的核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0412] 在一些实施例中，第一子结构域包含5′-末端部分，例如具有约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中，5′-末端部分具有约3-6个核碱基的长度。在一些实施例中，长度为一个核碱基。在一些实施例中，长度为2个核碱基。在一些实施例中，长度为3个核碱基。在一些实施例中，长度为4个核碱基。在一些实施例中，长度为5个核碱基。在一些实施例中，长度为6个核碱基。在一些实施例中，长度为7个核碱基。在一些实施例中，长度为8个核碱基。在一些实施例中，长度为9个核碱基。在一些实施例中，长度为10个核碱基。在一些实施例中，5′-末端部分包含第一子结构域的5′-末端核碱基。

[0413] 在一些实施例中，5′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如，天然DNA糖)。在一些实施例中，5′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如，天然RNA糖)。在一些实施例中，5'-末端部分中的糖的一个或多个(例如，约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中，5′-末端部分中约5％-100％(例如，约10％-100％、20-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％，10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中，每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖独立地选自双环糖(例如，LNA糖)、无环糖(例如，UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖，其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0414] 在一些实施例中，一个或多个经修饰的糖独立地包含2′-F或2′-OR，其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，一个或多个经修饰的糖独立地是2′-F或2′-OMe。在一些实施例中，5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如，LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中，5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如，LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中，5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2′-OR修饰的糖，其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，R是甲基。

[0415] 在一些实施例中，5'-末端部分的一个或多个(例如，约1-10个，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，5'-末端部分的一个或多个(例如，约1-10个，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中，5'-末端部分的一个或多个(例如，约1-10个，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中，5'-末端部分的一个或多个(例如，约1-10个，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中，5'-末端部分的一个或多个(例如，约1-10个，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中，5′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0416] 在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摆动。在一些实施例中,5′-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0417] 在一些实施例中,第一子结构域包含3′-末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-5、1-3、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,3′-末端部分具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,3′-末端部分包含第一子结构域的3′-末端核碱基。在一些实施例中,第一子结构域包含5′-末端部分和3′-末端部分或由其组成。

[0418] 在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分中的糖的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0419] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2′-F或2′-OR,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2′-F或2′-OMe。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0420] 在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平(数量和/或百分比)的2′-F修饰的糖和/或含有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖),和/或更低水平(数量和/或百分比)的其他类型的经修饰的糖,例如,双环糖和/或具有2′-OR修饰的糖,其中R独

立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平的2′-F修饰的糖和/或更低水平的2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平的2′-F修饰的糖和/或更低水平的2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更低水平的2′-F修饰的糖和/或更高水平的2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更低水平的2′-F修饰的糖和/或更高水平的2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分含有低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)作为双环糖或含有2′-OR的糖的经修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如,甲基))。在一些实施例中,3′-末端部分不含作为双环糖或包含2′-OR的糖的经修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如,甲基))。

[0421] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。在一些实施例中,没有经修饰的糖包含2'-OMe或其他2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,3′-末端部分的每个糖独立地包含两个2′-H或2′-F修饰。在一些实施例中,3′-末端部分包含1、2、3、4或5个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分包含1-3个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,3′-末端部分包含1-3个天然DNA糖。

[0422] 在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与5′-末端部分相比,3′-末端部分含有更高水平(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联。

[0423] 在一些实施例中,3'-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,3'-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摆动。在一些实施例中,3′-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0424] 在一些实施例中,第一子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第一子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促

进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

第二子结构域

[0425] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5′至3′包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5′至3′包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第二子结构域的某些实施例。在一些实施例中,第二子结构域包含与待修饰(例如,转化成I)的靶腺苷相反的核苷。在一些实施例中,第二子结构域包含一个且不多于一个与靶腺苷相反的核苷。在一些实施例中,与寡核苷酸的靶腺苷相反的每个核苷均在第二子结构域中。

[0426] 在一些实施例中,第二子结构域具有约1-10、1-5、1-3或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-5个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域中的所有核苷均是5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’。

[0427] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0428] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个且不多于一个错配。在一些实施例中,第二子结构域包含两个且不多于两个错配。在一些实施例中,第二子结构域包含两个且不超过两个错配,其中一个错配位于靶腺苷和其相反核苷之间,和/或一个错配位于与靶腺苷相邻的核苷和其在寡核苷酸中的相应核苷之间。在一些实施例中,位于与靶腺苷相邻的核苷和其在寡核苷酸中的相应核苷之间的错配是摆动。在一些实施例中,摆动是I-C。在一些实施例中,C与靶腺苷相邻,例如紧邻其3’侧。

[0429] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,存在1个摆动。在一些实施例中,存在2个摆动。在一些实施例中,存在3个摆动。在一些实施例中,存在4个摆动。在一些实施例中,存在5个摆动。在一些实施例中,存在6个摆动。在一些实施例中,存在7个摆动。在一些实施例中,存在8个摆动。在一些实施例中,存在9个摆动。在一些实施例中,存在10个摆动。

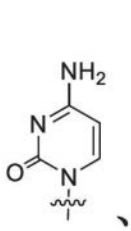
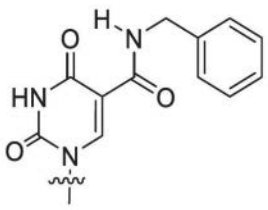
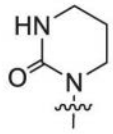
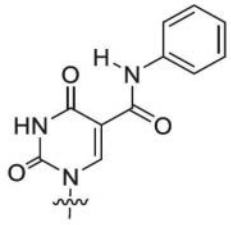
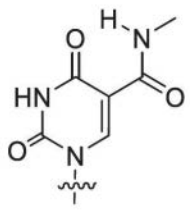
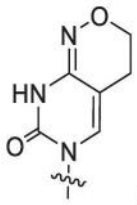
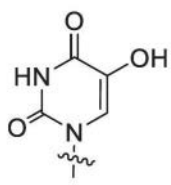
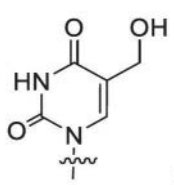
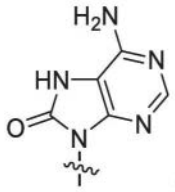
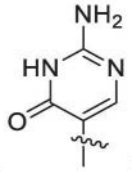
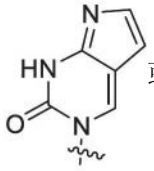
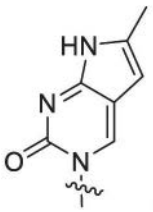
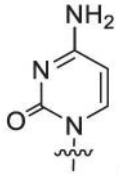
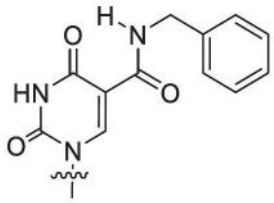
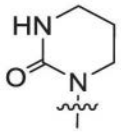
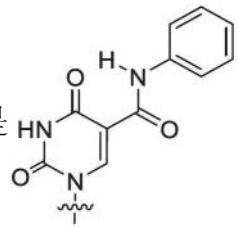
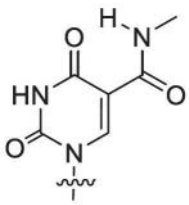
[0430] 在一些实施例中,第二子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个

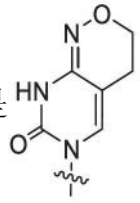
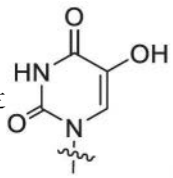
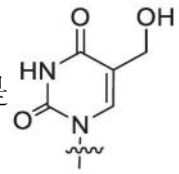
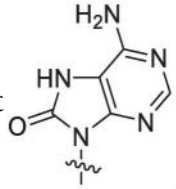
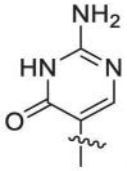
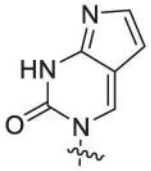
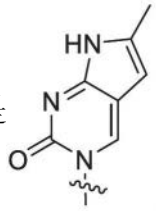
(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

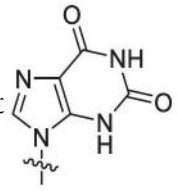
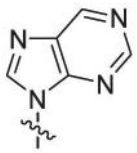
[0431] 在一些实施例中,第二子结构域与靶核酸完全互补。

[0432] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0433] 在一些实施例中,第二子结构域包含与靶腺苷相反的核苷,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时。本文描述了合适的核碱基,包括相反核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b、或BA-VI、或环BA的互变异构体。例如,在一些实施例中,相反核碱基选自

、、、、、、、、、、或。在一些实施例中,相反核碱基是。在一些实施例中,相反核碱基是。在一些实施例中,相反核碱基是。在一些实施例中,相反核碱基是。在一些实施例中,相反核碱基是。在一些实施例中,相

反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是 在一些实施例中,相反核碱基是

[0434] 在一些实施例中,第二子结构域包含与相反核碱基相邻的经修饰的核碱基。在一些实施例中,其在5′侧。在一些实施例中,其在3′侧。在一些实施例中,在每一侧上独立地存在经修饰的核碱基。尤其是,本披露认识到邻近(例如,与其相邻)相反核碱基的核碱基可引起对靶核酸、寡核苷酸和/或其双链体的识别、结合、相互作用和/或修饰的破坏(例如,空间位阻)。在一些实施例中,破坏与相邻的G相关联。在一些实施例中,本披露提供了可以代替G并且提供与G相比改善的稳定性和/或活性的核碱基。例如,在一些实施例中,相邻核碱基(例如,相反核苷的3'-紧邻核苷)是次黄嘌呤(代替G以减少破坏(例如,空间位阻)和/或与C形成摆动碱基配对)。在一些实施例中,相邻核碱基是次黄嘌呤的衍生物。在一些实施例中,3′-紧邻核苷包含是或包含具有式BA-VI结构的环BA的核碱基。在一些实施例中,相邻的核碱基是 在一些实施例中,相邻的核碱基是 在一些实施例中,本披露提供了灵活性,例如,关于可以在相反核苷的3'-紧邻核苷中使用的核碱基。在一些实施例中,本披露提供了各种经修饰的核碱基,这些经修饰的核碱基可以在相反核苷中使用并且可以允许利用相反核苷的3'-紧邻核苷中的G(例如,与C相反)而不显著降低编辑水平。在一些实施例中,N_0处的核碱基是BA,其具有如本文所述的式BA-III-e的结构。在一些实施例中,N_0处的核碱基是BA,其具有如本文所述的式BA-VI的结构。例如,在一些实施例中,在具有N_0中的b008U和N_{-1}中的G并且与C相反的情况下观察到高和至少相当的编辑。在一些实施例中,在具有N_0中的b001A和N_{-1}中的G并且与C相反的情况下观察到高和至少相当的编辑。

[0435] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。在一些实施例中,相反核苷包含无环糖如UNA糖。在一些实施例中,这样的无环糖为蛋白对靶腺苷进行修饰提供了灵活性。

[0436] 在一些实施例中,第二子结构域包含约1-10(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第二子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0437] 在一些实施例中,第二子结构域中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2′-OMe。

[0438] 在一些实施例中,第二子结构域中的高水平的(例如,超过50%、60%、70%、80%、90%、或95%、99%,或超过10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个)糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地含有2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地包含2’-OMe。

[0439] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个2′-F修饰的糖。

[0440] 在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)、或包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100%。在一些实施例中,第二子结构域包含1、

2、3、4或5个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个包含2′-OH的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0441] 在一些实施例中,第二子结构域中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2'-F修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2'-F修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2'-F。

[0442] 在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷的糖("相反糖")、与相反核苷5′-相邻的核苷的糖("5′-相邻糖")和/或与相反核苷3′-相邻的核苷的糖("3-相邻糖")独立地且任选地是2′-F修饰的糖、包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)或包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,相反糖是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,相反糖是包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,相反糖是天然DNA糖。在一些实施例中,相反糖是包含2′-OH的糖。在一些实施例中,相反糖是天然RNA糖。例如,在一些实施例中,寡核苷酸中的5′-相邻糖、相反糖和3′-相邻糖各自独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,5′-相邻糖是2′-F修饰的糖,并且相反糖和3′-相邻糖各自独立地是天然DNA糖。

[0443] 在一些实施例中,5′-相邻糖是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5'-相邻糖是包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,5'-相邻糖是天然DNA糖。在一些实施例中,5′-相邻糖是包含2′-OH的糖。在一些实施例中,5′-相邻糖是天然RNA糖。

[0444] 在一些实施例中,3′-相邻糖是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3'-相邻糖是包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,3'-相邻糖是天然DNA糖。在一些实施例中,3′-相邻糖是包含2′-OH的糖。在一些实施例中,3′-相邻糖是天然RNA糖。

[0445] 在一些实施例中,第二子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第二子结构域中不超过约50%的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第二子结构域中没有糖包含2′-MOE。

[0446] 在一些实施例中,第二子结构域包含约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的

核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10个(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10个(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4

个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第二子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域的核苷酸间键联与第二子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第二子结构域中的核苷和第一子结构域或第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第二子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第二子结构域中的核苷和第一子结构域或第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性控制的;在一些实施例中,其是Rp;在一些实施例中,其是Sp。

[0447] 在一些实施例中,第二子结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第二子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二子结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二子结构域中的所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-

100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50％。在一些实施例中,百分比为至少约55％。在一些实施例中,百分比为至少约60％。在一些实施例中,百分比为至少约65％。在一些实施例中,百分比为至少约70％。在一些实施例中,百分比为至少约75％。在一些实施例中,百分比为至少约80％。在一些实施例中,百分比为至少约85％。在一些实施例中,百分比为至少约90％。在一些实施例中,百分比为至少约95％。在一些实施例中,百分比为约100％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45％。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50％。在一些实施例中,1-10个(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。在一些实施例中,与其他部分(例如,第一结构域、第二结构域整体、第一子结构域、第三子结构域或其部分)相比,第二子结构域包含更高水平(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域包含比Sp核苷酸间键联更高水平(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联。

[0448] 在一些实施例中,第二子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第二子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0449] 在一些实施例中,第二子结构域中与天然DNA或RNA或2'-F修饰的糖键合的每个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个这样的经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联,如磷酰基胍核苷酸间键联,像n001。在一些实施例中,每个这样的经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或n001核苷酸间键联。在一些实施例中,与两个第二子结构域核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与两个第二子结构域核苷键合的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,与第二子结构域核苷键合的一个或多个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联,如磷酰基胍核苷酸间键联,像n001。在一些实施例中,与N_{-1}和N_{-2}键合的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,N_{-1}包含次黄嘌呤并且在一些实施例中,是脱氧肌苷。在一些实施例中,与包含次黄嘌呤的核苷的3'位置键合的磷酰基胍核苷酸间键联(如n001)是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,包含这样的与包含次黄嘌呤(例如,脱氧肌苷)的核苷的3'

位置键合的Sp磷酰基胍核苷酸间键联(如Spn001)的寡核苷酸提供多种益处,例如更高的活性、更好的特性、更低的制造成本和/或更容易获得的制造材料等。

[0450] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第二子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第二子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-5,或约1、2、3、4或5。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第二子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第二子结构域的3′-末端。在一些实施例中,第二子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,如n001。

[0451] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少1个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少2个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少3个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少4个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少5个天然磷酸酯键联。

[0452] 在一些实施例中,相反核苷通过天然磷酸酯键联与其5′紧邻核苷连接。在一些实施例中,相反核苷通过天然磷酸酯键联与其5′紧邻核苷连接。在一些实施例中,相反核苷通过经修饰的核苷酸间键联与其5′紧邻核苷连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Sp。

[0453] 在一些实施例中,相反核苷通过天然磷酸酯键联与其3′紧邻核苷(相对于相反核苷在-1位)连接。在一些实施例中,相反核苷通过经修饰的核苷酸间键联与其3′紧邻核苷连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性控制的。

[0454] 在一些实施例中,相对于相反核苷在-1位的核苷以及相对于相反核苷在-2位的核苷(例如,在5′-…$N_0N_{-1}N_{-2}$…3′中,如果N_0是相反核苷,则N_{-1}在-1位并且N_{-2}在-2位)通过天然磷酸酯键联连接。在一些实施例中,它们通过经修饰的核苷酸间键联连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例

如,n001)并且是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性控制的。

[0455] 在一些实施例中,第二子结构域的核苷和第三子结构域的核苷通过天然磷酸酯键联连接。在一些实施例中,它们通过经修饰的核苷酸间键联连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性控制的。

[0456] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5′-$N_1N_0N_{-1}$-3′,其中N_1、N_0和N_{-1}各自独立地是核苷,N_1和N_0与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N_{-1}和N_0与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N_0与靶腺苷相反。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖或2′-F修饰的糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是2′-修饰的糖,并且N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且寡核苷酸中的每个其他硫代磷酸酯核苷酸间键联(如果有的话)独立地是Sp。在一些实施例中,与N_1键合的5′核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_1和N_0键合的核苷酸间键联(即,与N_1键合的3′核苷酸间键联)是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}和N_0键合的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}键合的3′核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_0键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_0或N_1键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_0或N_{-1}键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_1键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,每个Rp核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个其他手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。

[0457] 在一些实施例中,5′紧邻核苷(例如,N_1)的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2′-F修饰的糖(例如,R^{2s}是-F)。在一些实施例中,相反核苷(例如,N_0)的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3′紧邻核苷(例如,N_{-1})的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5′紧邻核苷、相反核苷和3′紧邻核苷的糖各自独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,5′紧邻核苷、相反核苷和3′紧邻核

苷的糖分别是天然DNA糖、天然RNA糖和天然DNA糖。在一些实施例中,5′紧邻核苷、相反核苷和3′紧邻核苷的糖分别是2′-F修饰的糖、天然RNA糖和天然DNA糖。

[0458] 在一些实施例中,相反核苷的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,这种相反核苷与3′紧邻I核苷(其任选地在比对时与靶核酸中的C互补)一起使用。在一些实施例中,3′紧邻核苷(例如,N_{-1})与其3′紧邻核苷(例如,N_{-2})之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,例如,n001。在一些实施例中,其是立体随机的。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Sp。

[0459] 在一些实施例中,与3′紧邻核苷(例如,N_{-1})及其3′相邻核苷(例如,5′-$N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3′中的N_{-2})键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是立体随机的。在一些实施例中,其是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是立体随机不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是立体随机n001。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

[0460] 在一些实施例中,N_{-1}是I。在一些实施例中,例如当靶核酸包含5’-CA-3’(其中A是靶腺苷)时,用I代替G。在一些实施例中,5′-$N_1N_0N_{-1}$-3′是5′-N_1N_0I-3′。在一些实施例中,N_0是b001A、b002A、b003A、b008U、b001C、C、A或U。在一些实施例中,N_0是b001A、b002A、b008U、b001C、C或A。在一些实施例中,N_0是b001A、b002A、b008U或b001C。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是b002A。在一些实施例中,N_0是b003A。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,N_0是b001C。在一些实施例中,N_0是A。在一些实施例中,N_0是U。

[0461] 如本文所展示的,在一些实施例中,所提供的包含与靶腺苷相反的某些核碱基(例如,b001A、b002A、b008U、C、A等)的寡核苷酸尤其可以提供改善的编辑效率(例如,与参考核碱基诸如U相比)。在一些实施例中,相反核苷在其3′侧与I连接。

[0462] 在一些实施例中,第二子结构域包含如本文所述的编辑区。

[0463] 在一些实施例中,第二子结构域包含5′-末端部分,例如长度为约1-5、1-3或1、2、3、4或5个核碱基的部分。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。

[0464] 在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5’-末端部分中的糖的一个或多个(例如,约1-5、1-3或1、2、3、4或5个)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,5′-末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、

30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0465] 在一些实施例中,5’-末端部分中的低水平的(例如,不超过50％、40％、30％、25％、20％或10％的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个糖独立地不含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个糖独立地不含2′-OMe。

[0466] 在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个2′-F修饰的糖。

[0467] 在一些实施例中,5′-末端中的高水平(例如,约60％-100％,或约60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多,或100％)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)、或包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5′-末端部分中的高水平(例如,约60％-100％,或约60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多,或100％)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,5′-末端部分中的高水平(例如,约60％-100％,或约60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多,或100％)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100％。在一些实施例中,5′-末端部分的糖选自具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)和2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5′-末端部分包含1、2、3、4或5个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5’-末端部分包含1、2、3、4或5个包含两个2’-H的糖。在一些实施例中,5’-末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,5′-末端部分包含1、2、3、4或5个包含2′-OH的糖。在一些实施例中,5′-末端部分包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0468] 在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,5′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0469] 在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,5′-末端部分的每个核苷酸间键联是Rp。

[0470] 在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)错配。在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)摆动。在一些实施例中,5′-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0471] 在一些实施例中,5′-末端部分包含与相反核苷5′相邻的核苷。在一些实施例中,与相反核苷5′相邻的核苷包含如本文所述的核碱基。

[0472] 在一些实施例中,第二子结构域包含3’-末端部分,例如长度为约1-5、1-3或1、2、3、4或5个核碱基的部分。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,第二子结构域由5′-末端部分和3′-末端部分组成。

[0473] 在一些实施例中,3′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分中的一个或多个(例如,约1-5、1-3或1、2、3、4或5个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0474] 在一些实施例中,3′-末端部分中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个糖独立地不含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个糖独立地不含2′-OMe。

[0475] 在一些实施例中,3′-末端部分包含一个或多个2′-F修饰的糖。

[0476] 在一些实施例中,3′-末端中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)、或包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,3′-末端部分中的高水平(例如,约60%-100%,或约60%、65%、70%、

75％、80％、85％、90％、95％或更多,或100％)的或所有的糖独立地是2′-F修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100％。在一些实施例中,3′-末端部分的糖选自具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)和2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3’-末端部分包含1、2、3、4或5个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,3’-末端部分包含1、2、3、4或5个包含两个2’-H的糖。在一些实施例中,3’-末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,3’-末端部分包含1、2、3、4或5个包含2′-OH的糖。在一些实施例中,3’-末端部分包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0477] 在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0478] 在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3′-末端部分的每个核苷酸间键联是Rp。

[0479] 在一些实施例中,3’-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)错配。在一些实施例中,3’-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)摆动。在一些实施例中,3′-末端部分与靶核酸约60％-100％(例如,66％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60％或更高。在一些实施例中,互补性为70％或更高。在一些实施例中,互补性为75％或更高。在一些实施例中,互补性为80％或更高。在一些实施例中,互补性为90％或更高。

[0480] 在一些实施例中,3′-末端部分包含与相反核苷3′相邻的核苷。在一些实施例中,与相反核苷3′相邻的核苷包含如本文所述的核碱基。在一些实施例中,与相反核苷3′相邻的核苷与靶核酸中的相应核苷形成摆动对。在一些实施例中,与相反核苷3′相邻的核苷的核碱基是次黄嘌呤;在一些实施例中,其是次黄嘌呤的衍生物。

[0481] 在一些实施例中,第二子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第二子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互

作用。

第三子结构域

[0482] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5′至3′包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5′至3′包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第三子结构域的某些实施例。

[0483] 在一些实施例中,第三子结构域具有约1-50、1-40、1-30、1-20个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约6-12个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约6-9个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有4个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有5个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有6个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有7个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有8个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有9个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域比第一子结构域短。在一些实施例中,第三子结构域比第一结构域短。在一些实施例中,第三子结构域包含第二结构域的3′-末端核碱基。

[0484] 在一些实施例中,第三子结构域是第二结构域的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%,5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。在一些实施例中,第三子结构域的5’-末端核苷是N_{-2}。在一些实施例中,从N_{-2}至3’-末端的所有核苷均在第三子结构域中。

[0485] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第三子结构域中存

在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0486] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第三子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动。在一些实施例中,存在1个摆动。在一些实施例中,存在2个摆动。在一些实施例中,存在3个摆动。在一些实施例中,存在4个摆动。在一些实施例中,存在5个摆动。在一些实施例中,存在6个摆动。在一些实施例中,存在7个摆动。在一些实施例中,存在8个摆动。在一些实施例中,存在9个摆动。在一些实施例中,存在10个摆动。

[0487] 在一些实施例中,第三子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摆动的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0488] 在一些实施例中,第三子结构域与靶核酸完全互补。

[0489] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0490] 在一些实施例中,第三子结构域包含与靶腺苷相反的核苷(相反核苷)。在一些实施例中,第三子结构域包含与相反核苷3′相邻的核苷。在一些实施例中,第三子结构域包含与相反核苷5′相邻的核苷。本文已经描述了多种合适的相反核苷,包括糖及其核碱基。

[0491] 在一些实施例中,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时,第三子结构域包含与靶腺苷相反的核苷。本文描述了合适的核碱基,包括相反核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相反核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b、或BA-VI、或环BA的互变异构体。

[0492] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个包含2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0493] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修

饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,数目为6。在一些实施例中,数目为7。在一些实施例中,数目为8。在一些实施例中,数目为9。在一些实施例中,数目为10。在一些实施例中,数目为11。在一些实施例中,数目为12。在一些实施例中,数目为13。在一些实施例中,数目为14。在一些实施例中,数目为15。在一些实施例中,数目为16。在一些实施例中,数目为17。在一些实施例中,数目为18。在一些实施例中,数目为19。在一些实施例中,数目为20。在一些实施例中,R是甲基。

[0494] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-OH的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2’-H的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)RNA糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)DNA糖。

[0495] 在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪

族基。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的所有糖独立地是2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,N_{-2}包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,N_{-3}包含2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_{-3}之后的每个核苷独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,N_{-3}包含2'-F修饰的糖并且第三子结构域中的每个其他核苷独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

[0496] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50个(例如约5、6、7、8、9、或10一约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约50%-100%(例如约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或100%等)的糖独

立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰糖。在一些实施例中,第三子结构域的经修饰的糖各自独立地选自双环糖(例如LNA糖)、无环糖(例如UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖、或具有2'-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0497] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第三子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-N(R)$_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0498] 在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含2′-OMe。

[0499] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域不含2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-F。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约50%的糖包含2'-F。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)$_2$修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例

如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2′-NH_2修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0500] 在一些实施例中,第三子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约50%的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,第三子结构域中没有糖包含2′-MOE。

[0501] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%

等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,每个独立地是手性控制的。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约

65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第三子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的核苷酸间键联与第三子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第三子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第三子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第三子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,其是手性控制的;在一些实施例中,其是Rp;在一些实施例中,其是Sp。

[0502] 在一些实施例中,第三子结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有手性控制的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实

施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0503] 在一些实施例中,第三子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第三子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0504] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第三子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,第三子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第三子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第三子结构域的3′-末端。在一些实施例中,第三子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三

子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的后两个核苷是第二结构域的后两个核苷。在一些实施例中,第三子结构域的后两个核苷是寡核苷酸的后两个核苷。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,寡核苷酸的最后和/或倒数第二核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,如磷酰基胍核苷酸间键联,像n001。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Rp。

[0505] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第三子结构域不含有天然磷酸酯键联。在一些实施例中,核苷酸间键联与N_{-2}键合并且N_{-3}是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖,并且N_{-2}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如2'-OMe修饰的糖)。在一些实施例中,在与第三子结构域的两个核苷键合的所有核苷酸间键联中,一个是天然磷酸酯键联(例如如本文所述的N_{-2}和N_{-3}之间),一个是Rp不带负电荷的核苷酸间键联(如磷酰基胍核苷酸间键联n001)(例如寡核苷酸的最后或倒数第二核苷酸间键联),并且所有其他的均是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0506] 在一些实施例中,第三子结构域包含5′-末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-8、1-5、1-3、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,5′-末端部分具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,5′-末端部分包含第三子结构域的5′-末端核碱基。在一些实施例中,第三子结构域包含3′-末端部分和5′-末端部分或由其组成。在一些实施例中,5′-末端部分包含第三子结构域的5′-末端核碱基。在一些实施例中,第三子结构域的5′-末端部分与第二子结构域键合。

[0507] 在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5'-末端部分中的糖的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,5′-末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、

70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0508] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2′-F或2′OR,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2′-F或2′-OMe。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,5′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0509] 在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平(数量和/或百分比)的2′-F修饰的糖和/或包含两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖),和/或更低水平(数量和/或百分比)的其他类型的经修饰的糖,例如,双环糖和/或具有2′-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平的2′-F修饰的糖和/或更低水平的2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平的2′-F修饰的糖和/或更低水平的2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,5’-末端部分含有低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)作为双环糖或含有2′-OR的糖的经修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如,甲基))。在一些实施例中,5′-末端部分不含作为双环糖或包含2′-OR的糖的经修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如,甲基))。

[0510] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2’-F。在一些实施例中,没有经修饰的糖包含2’-OMe或其他2’-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,5′-末端部分的每个糖独立地包含两个2′-H或2′-F修饰。在一些实施例中,5’-末端部分包含1、2、3、4或5个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5’-末端部分包含1-3个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,5’-末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,5’-末端部分包含1-3个天然DNA糖。

[0511] 在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,5’-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间

键联是Rp。在一些实施例中,5'-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,5′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与3′-末端部分相比,5′-末端部分含有更高水平(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联。

[0512] 在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,5′-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摆动。在一些实施例中,5′-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0513] 在一些实施例中,第三子结构域包含3′-末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-8、1-4、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,3′-末端部分具有约3-6个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,3′-末端部分包含第三子结构域的3′-末端核碱基。

[0514] 在一些实施例中,3′-末端部分包含一个或多个具有两个2′-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分包含一个或多个具有2′-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3′-末端部分中的糖的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3′-末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2′-OR修饰的糖或具有2′-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

[0515] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2′-F或2′OR,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2′-F或2′-OMe。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2′-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0516] 在一些实施例中,3′-末端部分中的一个或多个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个糖独立地包含2′-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2′-O-L^B-4′修饰。在一些实施例中,L^B是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,L^B是-CH_2-。在一些实施例中,3′-末端部分中的每个糖独立地包含2′-OMe。

[0517] 在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3′-末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3′-末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0518] 在一些实施例中,3’-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,3’-末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摆动。在一些实施例中,3′-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0519] 在一些实施例中,第三子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第三子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

[0520] 如本文所展示的,可以在寡核苷酸中利用手性核苷酸间键联的键联磷的手性控制以提供多种特性和/或活性。在一些实施例中,Rp核苷酸间键联(例如Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)、核苷酸间键联(例如Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)、或非手性控制的核苷酸间键联(例如非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7、和+8中的一个或多个处(“+”是从该核苷向寡核苷酸的5′-末端计数的,其中+1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相反的核苷和其5’侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如与靶腺苷相反的核苷的5’-碳键合的核苷酸间键联,或5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的N_1和N_0之间的,其中如本文所述N_0是与靶腺苷相反的核苷),并且“-”是从该核苷向寡核苷酸的3’-末端计数的,其中-1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相反的核苷和其3’侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如与靶腺苷相反的核苷的3’-碳键合的核苷酸间

键联,或5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的N_{-1}和N_0之间的,其中如本文所述N_0是与靶腺苷相反的核苷))。在一些实施例中,Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联(例如,非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联(例如,非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相反的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。

[0521] 在一些实施例中,Rp在位置+8处。在一些实施例中,Rp在位置+7处。在一些实施例中,Rp在位置-6处。在一些实施例中,Rp在位置+5处。在一些实施例中,Rp在位置+4处。在一些实施例中,Rp在位置+3处。在一些实施例中,Rp在位置+2处。在一些实施例中,Rp在位置+1处。在一些实施例中,Rp在位置-1处。在一些实施例中,Rp在位置-2处。在一些实施例中,Rp在位置-3处。在一些实施例中,Rp在位置-4处。在一些实施例中,Rp在位置-5处。在一些实施例中,Rp在位置-6处。在一些实施例中,Rp在位置-7处。在一些实施例中,Rp在位置-8处。在一些实施例中,Rp是手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的构型。在一些实施例中,Sp在位置+8处。在一些实施例中,Sp在位置+7处。在一些实施例中,Sp在位置-6处。在一些实施例中,Sp在位置+5处。在一些实施例中,Sp在位置+4处。在一些实施例中,Sp在位置+3处。在一些实施例中,Sp在位置+2处。在一些实施例中,Sp在位置+1处。在一些实施例中,Sp在位置-1处。在一些实施例中,Sp在位置-2处。在一些实施例中,Sp在位置-3处。在一些实施例中,Sp在位置-4处。在一些实施例中,Sp在位置-5处。在一些实施例中,Sp在位置-6处。在一些实施例中,Sp在位置-7处。在一些实施例中,Sp在位置-8处。在一些实施例中,Sp是手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的构型。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+8处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+7处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-6处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+5处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+4处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+3处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+2处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置+1处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-1处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-2处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-3处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-4处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-5处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-6处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-7处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联在位置-8处。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联是非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0522] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)

Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的核苷酸间键联(例如,非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第一结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,第一结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的核苷酸间键联(例如,非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第二结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,第二结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的核苷酸间键联(例如,非手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联在第一子结构域的3′-末端部分处。

[0523] 在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸及其组合物中使用一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一个或多个(例如,约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含两个或更多个(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个或更多个)连续天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、

45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联不是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联不是连续天然磷酸酯键联。

[0524] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分包含一个或多个天然磷酸酯键联和一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分包含一个或多个天然磷酸酯键联和一个或多个手性控制的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联,其中的每个独立地与不含2'-OR修饰的两个糖键合,其中R如本文所述但不是-H。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续天然磷酸酯键联,其中的每个独立地与不含2'-OR修饰的两个糖键合,其中R如本文所述但不是-H。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联,其中的每个独立地与两个2'-F修饰的糖键合。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续的天然磷酸酯键联,其各自独立地与两个2′-F修饰的糖键合。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与不含2′-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的与两个糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与两个2′-F修饰的糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%,例如,不超过10%、不超过15%、不超过20%、不超过25%、不超过约30%、不超过约40%、不超过50%等

与不含2′-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的两个糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%,例如,不超过10%、不超过15%、不超过20%、不超过25%、不超过约30%、不超过约40%、不超过50%等与两个2′-F修饰的糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与不含2′-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的两个糖键合的连续核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与两个2′-F修饰的糖键合的连续核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

[0525] 在一些实施例中,天然磷酸酯键联在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1和+1中的一个或多个处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1和+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+8处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+7处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-6处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+5处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+4处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+3处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+2处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-2处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-3处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-4处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-5处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-6处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-7处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-8处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1处,并且经修饰的核苷酸间键联在位置+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+1处,并且经修饰的核苷酸间键联在位置-1处。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性控制的Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性控制的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域包含不超过2个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二结构域包含不超过1个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,可以在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)的多种位置利用单个天然磷酸酯键联。

[0526] 在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分的特定位置利用特定类型的糖。例如,在一些实施例中,第一结构域包含多个2′-F修饰的糖(和任选地多个2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,在一些实施例中处于比2′-F修饰的糖更低的水平);第一子结构域包含多个2′-OR修

饰的糖,其中R不是-H(例如,2′-OMe修饰的糖;和任选地多个2′-F糖,在一些实施例中处于比2′-OR修饰的糖更低的水平,其中R不是-H);第二结构域包含一个或多个天然DNA糖(在位置2′处没有取代)和/或一个或多个2′-F修饰的糖;和/或第三子结构域包含多个2′-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2′-OMe修饰的糖;和任选地多个2′-F糖,在一些实施例中处于比2′-OR修饰的糖更低的水平,其中R不是-H)。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在与靶腺苷相反的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个处("+"是从该核苷向寡核苷酸的5′-末端计数的,"-"是从该核苷向寡核苷酸的3′-末端计数的,其中位置0是与靶腺苷相反的该核苷的位置,例如:5'-...$N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$....3')。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4和+5中的一个或多个处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-3、-2、-1、0、+1、+2和+3中的一个或多个处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-2、-1、0、+1和+2中的一个或多个处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-1、0和+1中的一个或多个处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+8处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+7处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+6处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+5处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+4处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+3处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+2处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+1处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置0处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-8处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-7处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-6处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-5处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-4处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-3处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-2处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-1处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2′-碳处有两个2′-H)、2′-OMe修饰的糖和2′-F修饰的糖的糖。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2′-碳处有两个2′-H)和2′-OMe修饰的糖的糖。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2′-碳处有两个2′-H)和2′-F修饰的糖的糖,例如对于位置0、-1和/或+1处的糖。在一些实施例中,特定类型的糖是天然DNA糖(在2′-碳处有两个2′-H),例如在位置-1、0或+1处。在一些实施例中,特定类型的糖是2′-F修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2′-F修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置-2处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置-3处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置-4处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+2处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+3处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+4处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+5处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+6处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+7处。在一些实施例中,2′-F修饰的糖在位置+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2′-OMe修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2′-OMe修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置-2处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置-3处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置-4处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+2处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+3处。在一些实施例中,

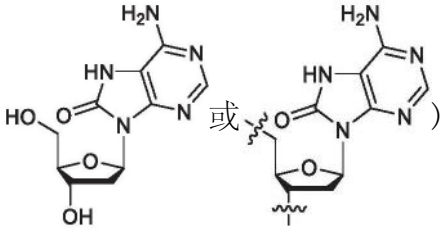
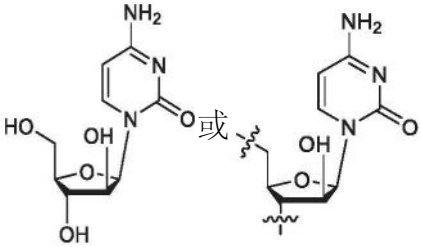
2′-OMe修饰的糖在位置+4处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+5处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+6处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+7处。在一些实施例中,2′-OMe修饰的糖在位置+8处。在一些实施例中,位置0处的糖不是2′-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置0处的糖是天然DNA糖(在2′-碳处有两个2′-H)。在一些实施例中,位置0处的糖不是2′-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-1处的糖不是2′-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-2处的糖不是2′-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-3处的糖不是2′-MOE修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个2'-F修饰的糖和任选地2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于比2'-F修饰的糖更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于比2'-F修饰的糖更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含1、2、3或4个,或1个且不多于1个、2个且不多于2个、3个且不多于3个、或4个且不多于4个2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域的第一糖、第二糖、第三糖和/或第四糖独立地是2′-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,包含2′-OR的糖是连续的。在一些实施例中,第一结构域在其5′-末端包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的糖,其中每个糖独立地包含2′OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2′-OR是2′-OMe。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个2′-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2′-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个2′-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2′-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个2′-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2′-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平;在一些实施例中,以更高的水平)。在一些实施例中,第三子结构域包含约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约或至少约50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％或95％的糖独立地包含2′-F修饰。在一些实施例中,第三子结构域中的第一2′-F修饰的糖(从5′至3′)不是第三子结构域中的第一糖。在一些实施例中,第三子结构域中的第一2′-F修饰的糖在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置-3处。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地是经修饰的糖,其中修饰选自2′-F和2′OR,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,修饰选自2′-F和2′-OMe。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的一个或多个经修饰的糖独立地是2′-OMe修饰的糖,并且第三子结构域中的一个或多个经修饰的糖独立地是2′-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2′-F修饰的糖,但第三子结构域的第一糖除外,其在一些实施例中是2′-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个2′-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2′-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,2′-OR是2′-OMe。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。

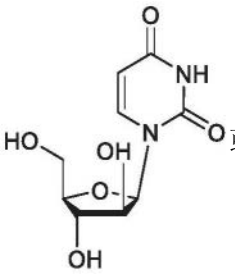
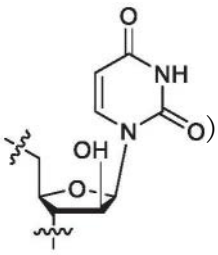
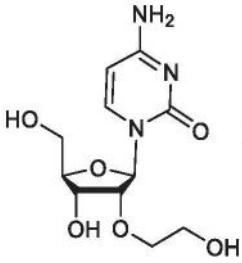
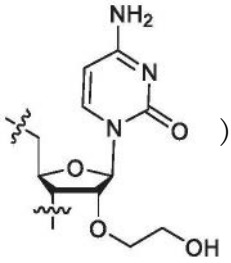
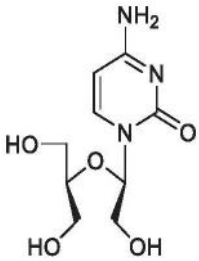
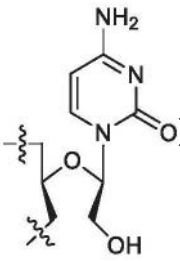
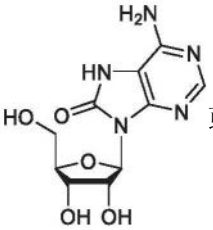
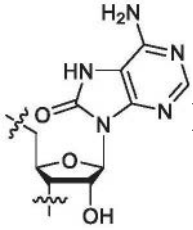
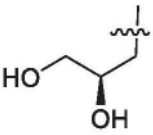
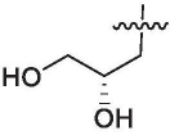
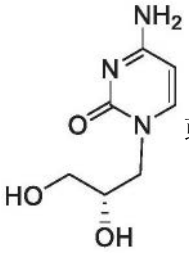
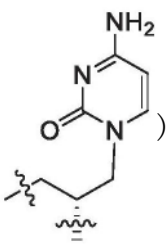
编辑区

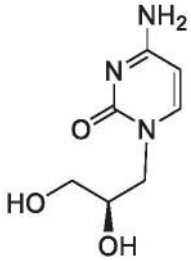
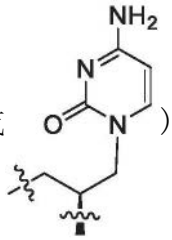
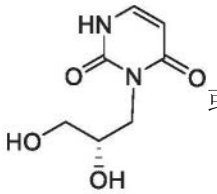
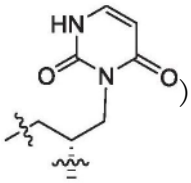
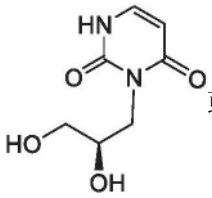
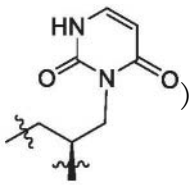
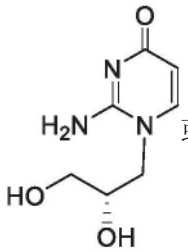
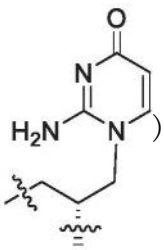
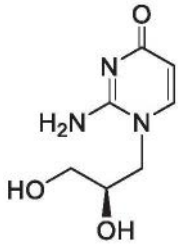
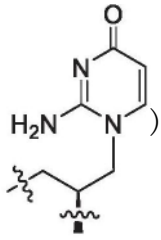
[0527] 在一些实施例中,本披露提供了包含编辑区(例如,包含如本文所述5'-$N_1N_0N_{-1}$-3或由其组成的区域)的寡核苷酸。在一些实施例中,编辑区是或包含与靶腺苷相反的核苷(典型地,当寡核苷酸的碱基序列与靶序列比对以获得最大互补性和/或寡核苷酸与靶核酸杂交时)及其相邻核苷。在一些实施例中,编辑区是或包含三个核碱基,其中中间的核碱基是与靶腺苷相反的核苷。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷是如本文所述的N_0。

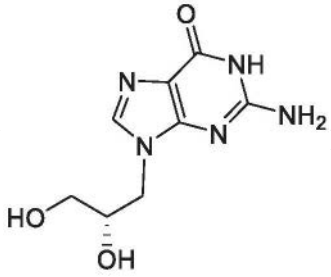
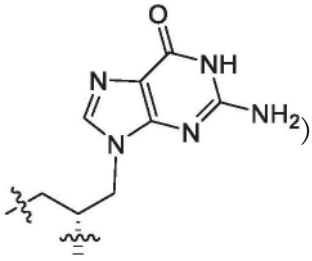
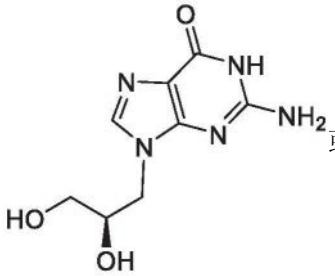
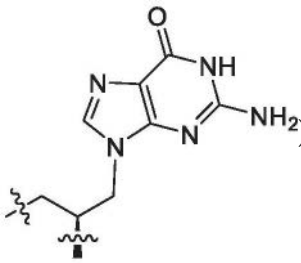
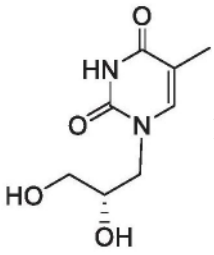
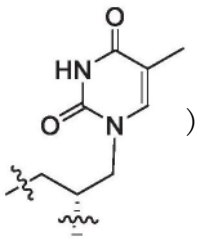
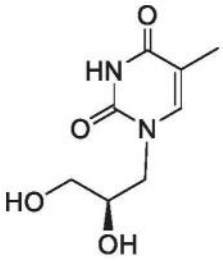
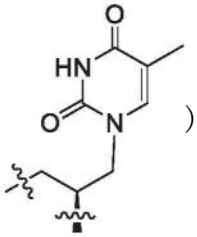
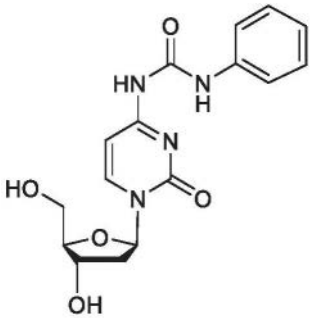
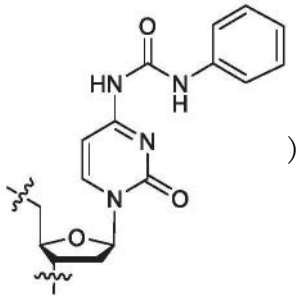
[0528] 在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷的核碱基(可以称为BA_0)是C。在一些实施例中,BA_0是如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,核碱基(例如BA_0)是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、T、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]和zdnp。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G。在一些实施例中,N_0的核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G,并且N_0的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_0的核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G,并且N_0的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N_0的核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G,并且N_0的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_0的核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G,并且N_0的糖是双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,N_0的核碱基是任选地经取代的或被保护的,或以下的任选地经取代的或被保护的互变异构体:C、zdnp、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、

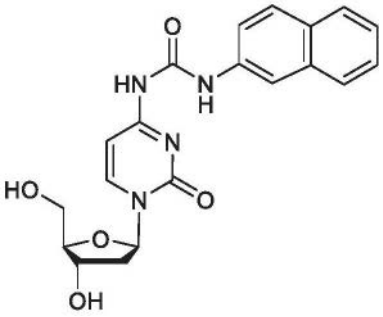
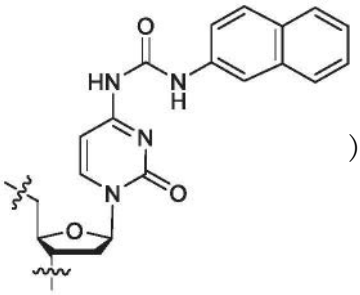
b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、或b001G,并且N_0的糖是包含6元环的糖(例如sm19)。在一些实施例中,BA_0是C。在一些实施例中,BA_0是T。在一些实施例中,BA_0是次黄嘌呤。在一些实施例中,BA_0是U。在一些实施例中,BA_0是b001U。在一些实施例中,BA_0是b002U。在一些实施例中,BA_0是b003U。在一些实施例中,BA_0是b004U。在一些实施例中,BA0是b005U。在一些实施例中,BA_0是b006U。在一些实施例中,BA_0是b007U。在一些实施例中,BA_0是b008U。在一些实施例中,BA_0是b009U。在一些实施例中,BA_0是b011U。在一些实施例中,BA_0是b012U。在一些实施例中,BA_0是b013U。在一些实施例中,BA_0是b014U。在一些实施例中,BA_0是b015U。在一些实施例中,BA_0是b001A。在一些实施例中,BA_0是b002A。在一些实施例中,BA_0是b003A。在一些实施例中,BA_0是b004A。在一些实施例中,BA_0是b005A。在一些实施例中,BA_0是b006A。在一些实施例中,BA_0是b007A。在一些实施例中,BA_0是b001C。在一些实施例中,BA_0是b002C。在一些实施例中,BA_0是b003C。在一些实施例中,BA_0是b004C。在一些实施例中,BA0是b005C。在一些实施例中,BA_0是b006C。在一些实施例中,BA_0是b007C。在一些实施例中,BA_0是b008C。在一些实施例中,BA_0是b009C。在一些实施例中,BA_0是b002I。在一些实施例中,BA_0是b003I。在一些实施例中,BA_0是b004I。在一些实施例中,BA_0是b014I。在一些实施例中,BA_0是b001G。在一些实施例中,BA_0是b002G。在一些实施例中,BA_0是[3nT]。在一些实施例中,BA_0是[3ne5U]。在一些实施例中,BA_0是[3nflU]。在一些实施例中,BA_0是[3npry5U]。在一些实施例中,BA_0是[3ncn5U]。在一些实施例中,BA_0是[nathp608A]。在一些实施例中,BA_0是[ipr608A]。在一些实施例中,BA_0是[c7In]。在一些实施例中,BA_0是[c39z48In]。在一些实施例中,BA_0是[z2c3In]。在一些实施例中,BA_0是[z5C]。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA糖,或经取代的天然DNA糖(其一个2'-H被-OH或-F取代且另一个2'-H未被取代)。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是无环糖。在一些实施例中,N_0的糖是sm01。在一些实施例中,N_0的糖是sm04。在一些实施例中,N_0的糖是sm11。在一些实施例中,N_0的糖是sm12。在一些实施例中,N_0的糖是rsm13。在一些实施例中,N_0的糖是rsm14。在一些实施例中,N_0的糖是sm15。在一些实施例中,N_0的糖是sm16。在一些实施例中,N_0的糖是sm17。在一些实施例中,N_0的糖是sm18。在一些实施例中,N_0的糖是sm19。在一些实施例中,N_0的糖是双环糖。在一些实施例中,N_0的糖是LNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是cEt糖。在一些实施例中,N_0的糖是(S)-cEt糖。尤其是,本披露证实可以在寡核苷酸中的N_0处使用各种经修饰的核碱基和/或各种糖,以提供腺苷编辑活性。在一些实施例中,据观察,与参考核碱基相比(例如,在可比较的条件下,包括在其他方面相同的寡核苷酸中,在相同或可比较的测定中评估等),b001A(作为BA_0)可以提供改善的腺苷编辑效率。在一些实施例中,据观察,b008U(作为BA_0)可以提供改善的腺苷编辑效率。在一些实施例中,参考核碱基是U。在一些实施例中,参考核碱基是T。在一些实施例中,参考核碱基是C。在一些实施例中,据观察,当N_0的糖包含某些6元环,例如当N_0的糖是sm19时,与参考糖(例如天然DNA糖)相比,编辑活性可以得到改善。在一些实施例中,据观察,LNA糖可以用于N_0或相邻核苷中。在一些实施例中,据观察,2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的脂肪族基,例如2'-OMe、2'-MOE等)可以在N_0或相邻核苷中。如通过各种寡核苷酸组合物和评估所证实的,关于可以用于编辑(包括在N_0处)的糖、核碱基、键联等,本披露中描述的技术尤其可以提供比其他技术更大的灵活性。例如,虽然各种报道主张N_0处的2'-OMe修饰的糖阻断编辑,但是本文所述的各种碱基修饰(例如,具有式BA-III-e的那些,诸如b008U)可以与N_0处的2'-OMe

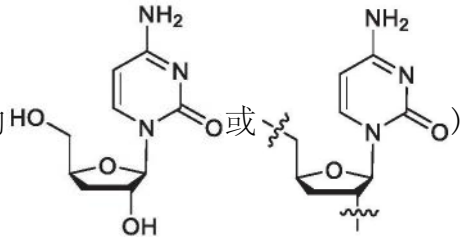
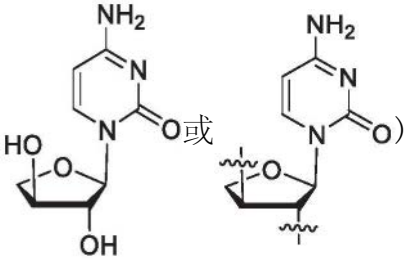
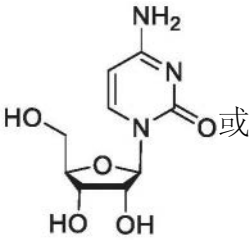
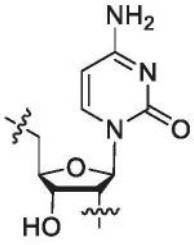
修饰的糖一起使用以提供编辑,在一些情况下,与其他糖(诸如天然DNA糖)相比具有至少相当的水平。在一些实施例中,N_{-1}、N_0或N_{-1}处的一个或两个或三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,N_1处的糖是经修饰的糖。在一些实施例中,N_0处的糖是经修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}处的糖是经修饰的糖。在一些实施例中,N_1和N_0处的糖各自独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,N-$_1$和N_0处的糖各自独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,N_1和N_{-1}处的糖各自独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}处的糖各自独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是如本文所述的2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含核苷,例如N_0,其核碱基是如本文所述的经修饰的核碱基,并且其糖是如本文所述的糖。例如,在一些实施例中,核苷是b001A。在一些实施例中,核苷是b008U。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是天然DNA糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b001A,并且糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是天然DNA糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,核苷的核碱基是b008U,并且糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷(例如N_0)是dC。在一些实施例中,其是rC。在一些实施例中,其是fC。在一些实施例中,其是dT。在一些实施例中,其是rT。在一些实施例中,其是fT。在一些实施例中,其是dU。在一些实施例中,其是rU。在一些实施例中,其是fU。在一些实施例中,其是b001A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是Csm15(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是

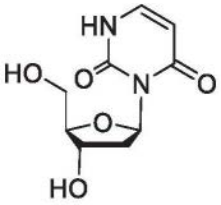
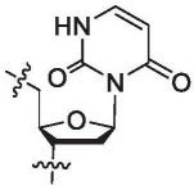
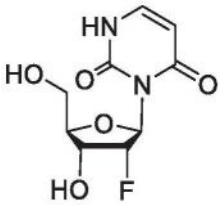
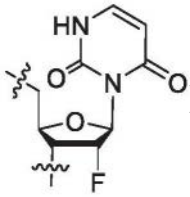
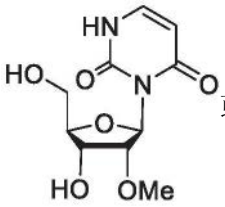
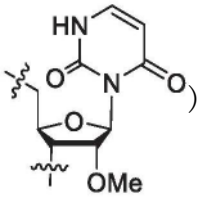
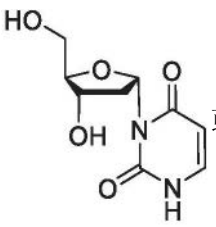
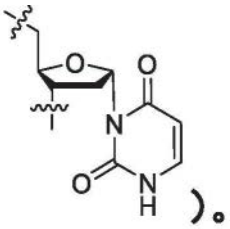
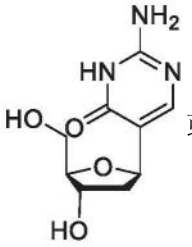
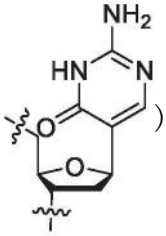
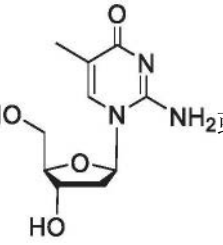
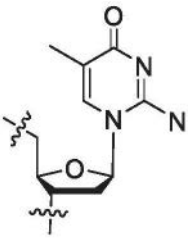
Usm15(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是rCsm13(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是Csm04(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b001rA(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,糖是(R)-GNA糖。在一些实施例中,糖是(S)-GNA糖。在一些实施例中,其是S-GNA C,本文也称为Csm11(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一

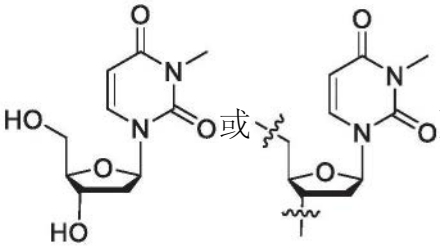
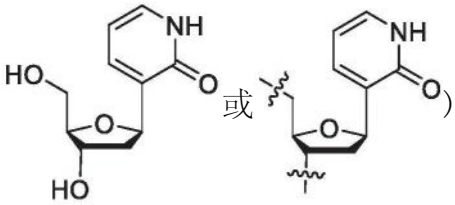
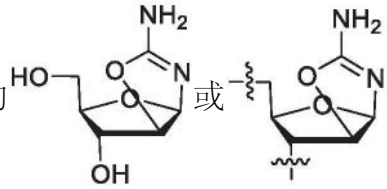
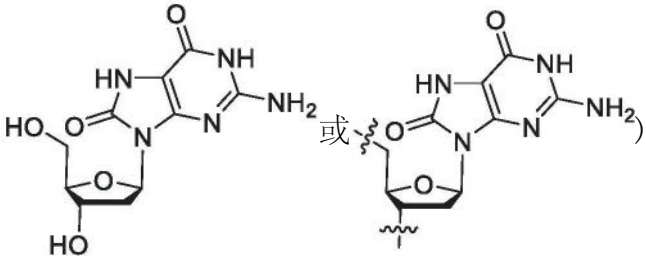
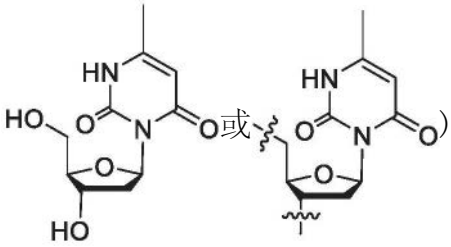
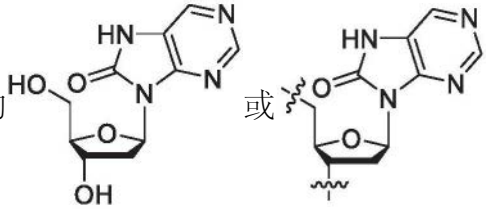
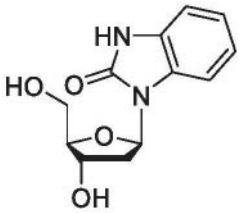
些实施例中,其是R-GNA C,本文也称为Csm12(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的 或 )。在一些实施例中,其是S-GNA b008U,本文也称为b008Usm11(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是R-GNA b008U,本文也称为b008Usm12(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是S-GNA isoC,本文也称为b009Csm11(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的 或 )。在一些实施例中,其是R-GNA isoC,本文也称为b009Csm12(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是S-GNA G,本文也称为Gsm11(除非另有说明,否则当用于

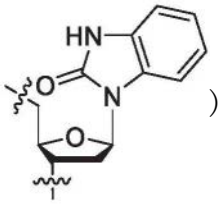
核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是R-GNAG,本文也称为Gsm12(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是S-GNAT,本文也称为Tsm11(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是R-GNA T,本文也称为Tsm12(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b004C(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b007C(除非另有说

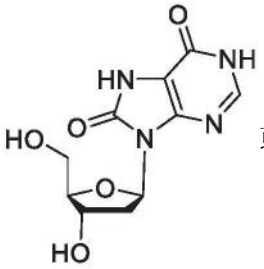
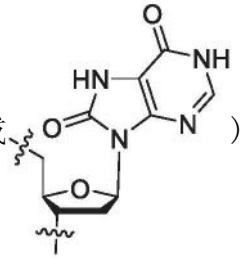
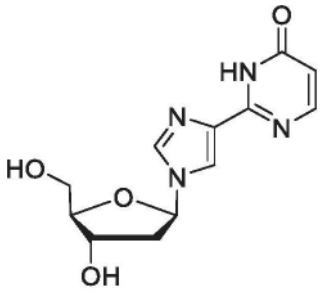
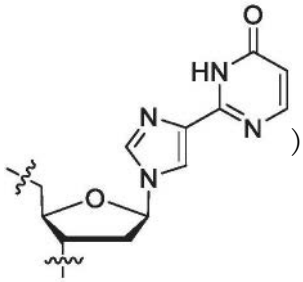
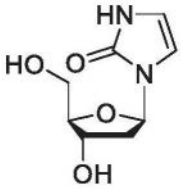
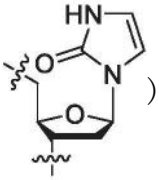
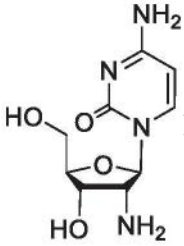
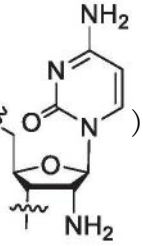
明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。

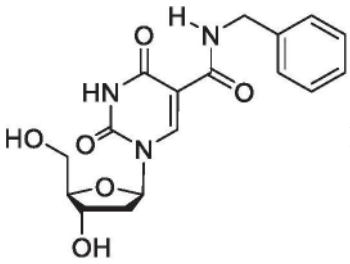
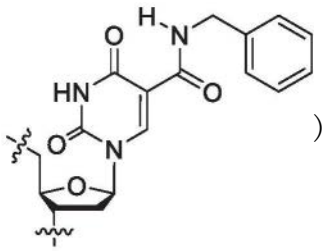
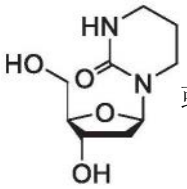
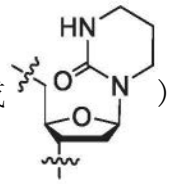
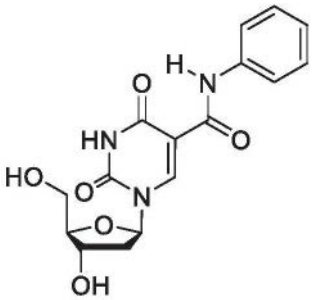
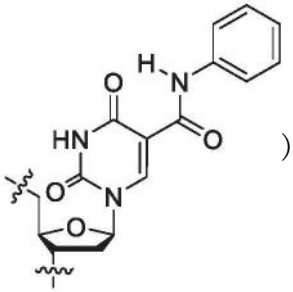
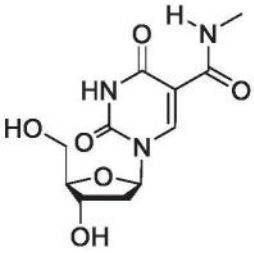
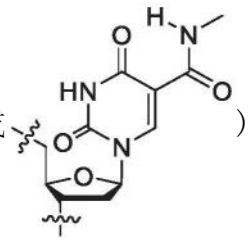
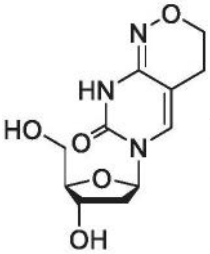
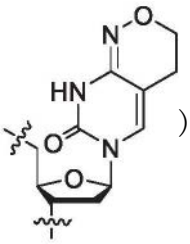
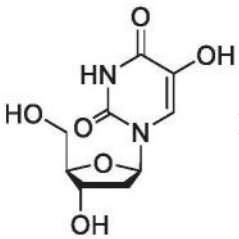
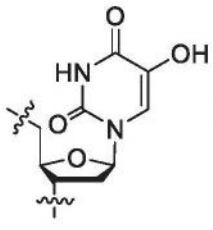
在一些实施例中，其是Csm16（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的）。在一些实施例中，其是Csm17（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的）。在一些实施例中，其是rCsm14（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其是b008U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡

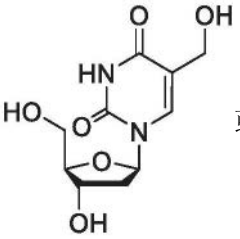
核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是fb008U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是mb008U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b010U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b001C(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b008C(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b011U(除非另有说

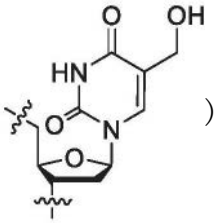
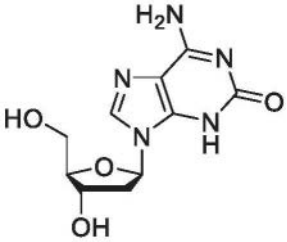
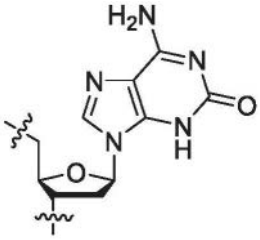
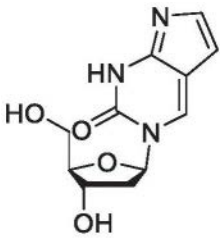
明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是b012U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是无碱基的。在一些实施例中,其是L010。在一些实施例中,其是L034(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是b002G(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是b013U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是b002A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的)。在一些实施例中,其是b003A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或

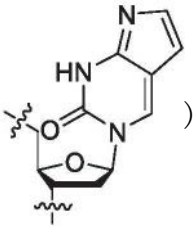
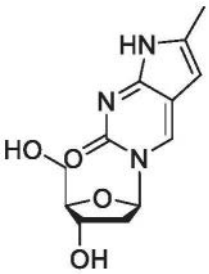
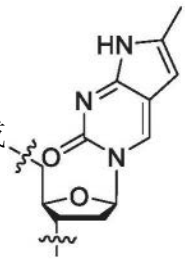
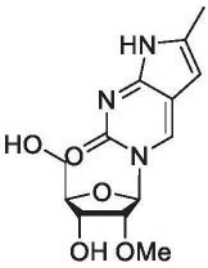
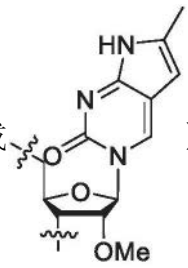


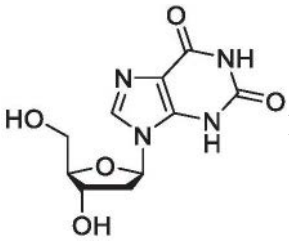
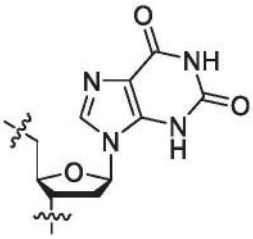
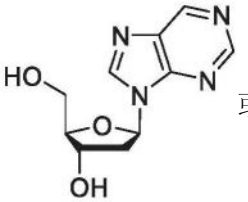
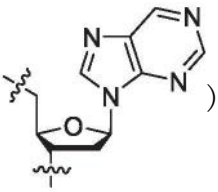
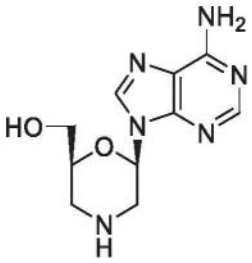
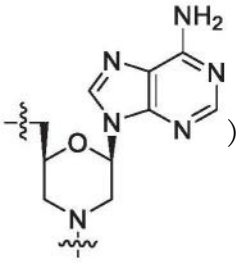
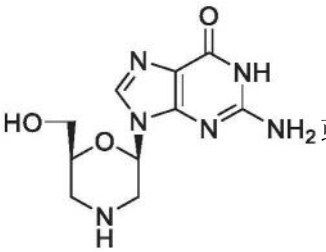
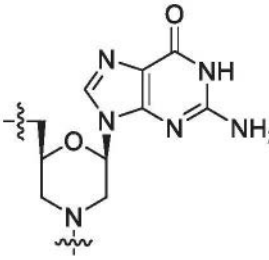
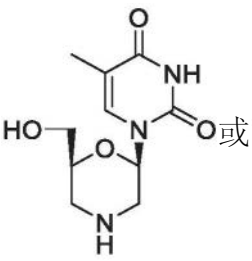
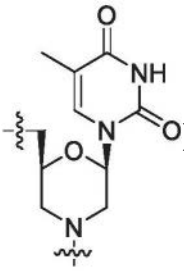
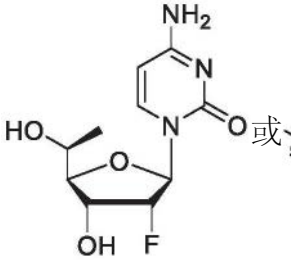
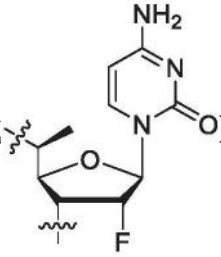
)。在一些实施例中,其是b004I(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b014I(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b009U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是aC(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b001U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的

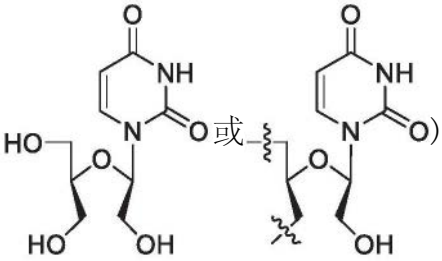
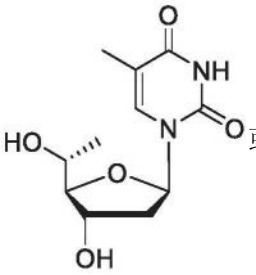
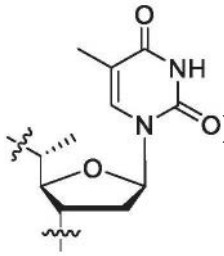
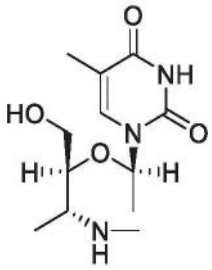
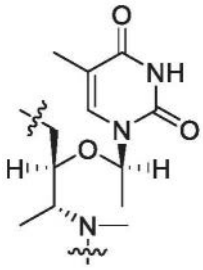
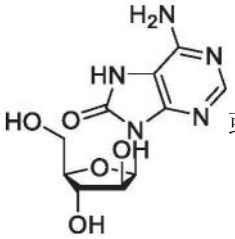
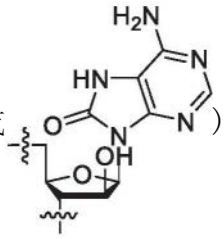
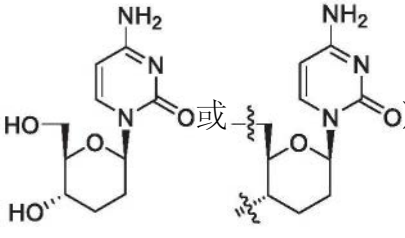

或）。在一些实施例中，其是b002U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其是b003U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其是b004U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其是b005U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其是b006U（除非另有说明，否则当用于核苷时，其是指寡核苷酸链中的或）。在一些实施例中，其

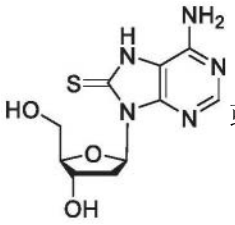
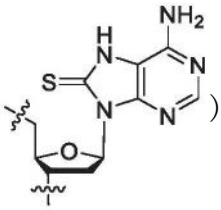
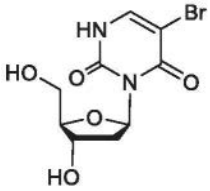
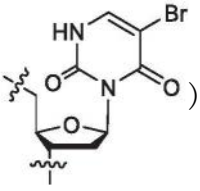
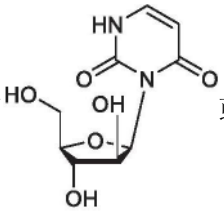
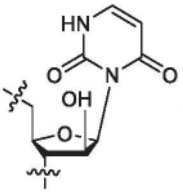
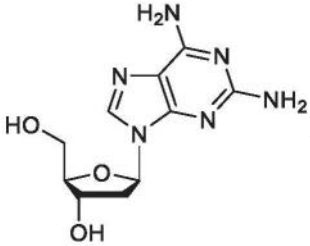
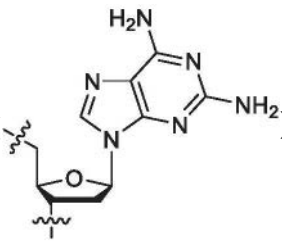
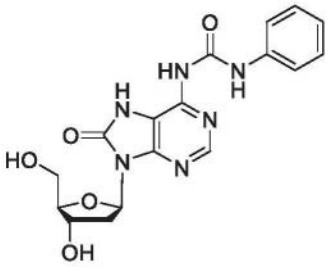
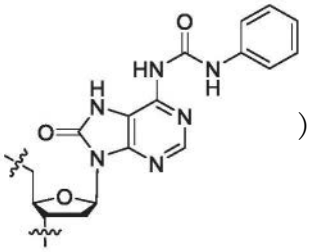
是b007U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的 或

)。在一些实施例中,其是b001G(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b002C(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的 或

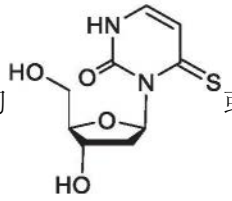
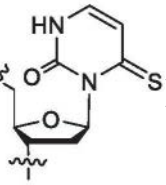
)。在一些实施例中,其是b003C(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b003mC(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b0021(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的


或
)。在一些实施例中,其是b0031(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的
或
)。在一些实施例中,其是Asm01(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的
或
);在一些实施例中,氮原子与键联磷键合。在一些实施例中,其是Gsm01(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的
或
);在一些实施例中,氮原子与键联磷键合。在一些实施例中,其是Tsm01(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的
或
);在一些实施例中,氮原子与键联磷键合。在一些实施例中,其是5MsfC(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的
或
)。在一些实施例中,其是Usm04(除非另有说明,否则当

用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是5MRdT(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是Tsm18(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或);在一些实施例中,氮原子与键联磷键合。在一些实施例中,其是b001Asm15(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是Csm19(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,

其是b006A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b014U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b008Usm15(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b004A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。在一些实施例中,其是b005A(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸链中的或)。

在一些实施例中,其是b015U(除非另有说明,否则当用于核苷时,其是指寡核苷酸

链中的或)。在一些实施例中,N_0是无碱基的。在一些实施例中,N_0是L010。

[0529] 在一些实施例中,如各种实例中所展示的,某些经修饰的核苷或核碱基(例如b001A、b008U等)可以提供改善的编辑,例如当与靶腺苷相反的位置处的dC相比时。在一些实施例中,据观察,与参考核苷相比(例如,在可比较的条件下,包括在其他方面相同的寡核苷酸中,在相同或可比较的测定中评估等),当在N_0处使用时,某些核苷(例如dC、b001A、b001rA、Csm15、b001C等)可以提供改善的腺苷编辑效率。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是b001Asm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b002A。在一些实施例中,N_0是b003A。在一些实施例中,N_0是b004A。在一些实施例中,N_0是b005A。在一些实施例中,N_0是b006A。在一些实施例中,N_0是b004I。在一些实施例中,N_0是b014I。在一些实施例中,N_0是b002G。在一些实施例中,N_0是dC。在一些实施例中,N_0是b001C。在一些实施例中,N_0是b009U。在一些实施例中,N_0是b010U。在一些实施例中,N_0是b011U。在一些实施例中,N_0是b012U。在一些实施例中,N_0是b013U。在一些实施例中,N_0是b014U。在一些实施例中,N_0是b015U。在一些实施例中,N_0是b008Usm15。在一些实施例中,N_0是b008Usm19。在一些实施例中,N_0是Csm04。在一些实施例中,N_0是Csm11。在一些实施例中,N_0是Csm12。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是Csm19。在一些实施例中,N_0是b009Csm11。在一些实施例中,N_0是b009Csm12。在一些实施例中,N_0是Gsm11。在一些实施例中,N_0是Gsm12。在一些实施例中,N_0是Tsm11。在一些实施例中,N_0是Tsm12。在一些实施例中,参考核苷是rU。在一些实施例中,参考核苷是dU。在一些实施例中,参考核苷是dT。在一些实施例中,N_0位置处没有核碱基。在一些实施例中,在N_0位置处,其是L010。在一些实施例中,N_0的糖是sm15。

[0530] 在一些实施例中,在位置-1处用次黄嘌呤代替鸟嘌呤(例如,用dI代替dG)可以提供改善的编辑。某些数据在附图中提供并且其他数据作为实例。

[0531] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',其中N_1、N_0、和N_{-1}各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}`和N_{-2}各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}$-3',其中$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、和$N_{-3}$各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}$-3',其中$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、和$N_{-4}$各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_5N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}$-3',其中$N_5$、$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$、和$N_{-5}$各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_6N_5N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}N_{-6}$-3',其中$N_6$、$N_5$、$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$、$N_{-5}$、和$N_{-6}$各自独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,$N_n$(其中n是正数,例如$N_1$)也可以称为$N_{+1}$。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可以与核酸(例如,RNA核酸)形成双链体并且可以编辑与N_0相反的靶腺苷。在一些实施例中,N_{-6}是寡核苷酸的最后一个核苷(从5'-末端计数)。

[0532] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}、和N_{-2}各自独

立地是核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}、和N_{-2}各自独立地是核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}、和N_{-2}各自独立地是核苷,N_0与靶腺苷相反,并且N_2、N_1、N_0、N_{-1}、和N_{-2}中的每两个(如本领域技术人员将理解的,彼此相邻)独立地与如本文所述的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_1、N_0、和N_{-1}中的一个或多个或所有独立地具有天然RNA糖。在一些实施例中,N_1、N_0、和N_{-1}中的一个或多个或所有独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖或2′-F修饰的糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是2′-修饰的糖,并且N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是2'-F糖,并且N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是经修饰的糖。在一些实施例中,N_1的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_1的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N_0的糖不是经修饰的糖。在一些实施例中,N_0的糖不是2'-修饰的糖。在一些实施例中,N_0的糖不是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,N_0的糖不是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_0的糖不是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖不是经修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖不是2'-修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖不是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,N_{-1}的糖不是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖不是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}各自独立地具有天然RNA糖。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}各自独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中,N_1具有2'-F修饰的糖,并且N_0和N_{-1}各自独立地具有天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,N_1具有2'-F修饰的糖,并且N_0和N_{-1}各自独立地具有天然DNA糖(例如WV-22434)。在一些实施例中,N_1、N_0、和N_{-1}中的两个独立地具有天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,N_1、N_0、和N_{-1}中的两个独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中,N_1和N_0各自独立地具有2'-F修饰的糖,并且N_{-1}是天然DNA糖。

[0533] 在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的两个核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且寡核苷酸中的每个其他硫代磷酸酯核苷酸间键联(如果有的话)独立地是Sp。在一些实施例中,与N_1键合的5'核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_1和N_0键合的核苷酸间键联(即,与N_1键合的3'核苷酸间键联)是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}和N_0键合的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}键合的3'核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与N_0键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_0或N_1键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_0或N_{-1}键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与N_1键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,每个Rp核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个其他手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,N_0N_{-1}之间的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,N_0N_{-1}之间的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,$N_{-1}N_{-2}$之间的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,$N_{-1}N_{-2}$之间

的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_1、N_0、和N_{-1}键合的所有核苷酸间键联均独立地是Sp。在一些实施例中,与N_1、N_0、和N_{-1}键合的所有核苷酸间键联均独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_2、N_1、N_0、N_{-1}和N_{-2}键合的所有核苷酸间键联均独立地是Sp。在一些实施例中,与N_2、N_1、N_0、N_{-1}、和N_{-2}键合的所有核苷酸间键联均独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_1键合的两个核苷酸间键联独立地是Sp(例如Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,N_1和N_0之间的核苷酸间键联是Sp(例如Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,N_{-1}和N_0之间的核苷酸间键联是Sp(例如Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,N_2包含经修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}包含经修饰的糖。在一些实施例中,N_2和N_{-2}各自独立地包含经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2'-修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,2'-修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖、cEt糖等。

[0534] 在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷(例如N_0)的3'-侧存在至少2、3、4、5、6、7、8、9个或更多个核苷(例如2-30、3-30、4-30、5-30、2-20、3-20、4-20、5-20、2-15、3-15、4-15、5-15、2-10、3-10、4-10、5-10个,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等,"3'-侧核苷")。在一些实施例中,存在至少2个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少3个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'-侧核苷(例如,包含5'-$N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}$-3'的寡核苷酸,其中$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$、和$N_{-5}$各自独立地是核苷)。在一些实施例中,存在至少6个3'-侧核苷(例如,包含5'-$N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}N_{-6}$-3'的寡核苷酸,其中$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$、$N_{-5}$、和$N_{-6}$各自独立地是核苷)。在一些实施例中,存在至少7个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在2个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在3个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在4个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在5个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在6个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在7个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在8个3'-侧核苷。在一些实施例中,存在9个3'-铡核苷。在一些实施例中,存在10个3'-侧核苷。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷(例如N_0)的5'-铡存在至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个核苷(例如15-50、20-50、21-50、22-50、23-50、24-50、25-50、26-50、27-50、28-50、29-50、30-50、15-40、20-40、21-40、22-40、23-40、24-40、25-40、26-40、27-40、28-40、29-40、30-40、15-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30、29-30,15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个等)。在一些实施例中,存在至少15个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少16个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少17个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少18个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少19个5'-侧

核苷。在一些实施例中,存在至少20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少23个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少24个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少25个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少26个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少27个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少28个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少29个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少30个5’-铡核苷。在一些实施例中,存在15个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在16个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在17个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在18个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在19个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在23个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在24个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在25个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在26个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在27个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在28个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在29个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在30个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3’-侧核苷和至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3’-侧核苷和至少23个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3’-侧核苷和至少24个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3’-侧核苷和至少25个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3’-侧核苷和至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3’-侧核苷和至少23个5’-铡核苷。在一些实施例中,存在至少5个3’-侧核苷和至少24个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3’-铡核苷和至少25个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3’-侧核苷和至少21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3’-侧核苷和至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3’-侧核苷和至少23个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3’-侧核苷和至少24个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3’-侧核苷和至少20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3’-侧核苷和至少21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3’-侧核苷和至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3’-侧核苷和至少23个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3’-侧核苷和至少19个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3’-侧核苷和至少20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3’-侧核苷和至少21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3’-侧核苷和至少22个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3’-侧核苷和至少18个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3’-侧核苷和至少19个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3’-侧核苷和至少20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3’-侧核苷和至少21个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3’-侧核苷和至少17个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3’-侧核苷和至少18个5’-铡核苷。在一些实施例中,存在至少10个3’-侧核苷和至少19个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3’-侧核苷和至少20个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3’-侧核苷和至少16个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3’-侧核苷和至少17个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3’-侧核苷和至少18个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3’-侧核苷和至少19个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3’-侧核苷和至少15个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3’-侧核苷和至少16个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3’-侧核苷和至少17个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3’-侧核苷和至少18个5’-侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3’-侧核苷和至少14个5’-侧

核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'-侧核苷和至少15个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'-侧核苷和至少16个5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'-侧核苷和至少17个5'-侧核苷。在一些实施例中,5'-侧和/或3'-侧的某些有用长度和/或与靶腺苷相反的核苷定位在本文中描述。

[0535] 如本文所述,其中修饰可以用于N_1,包括糖修饰、核碱基修饰等。在一些实施例中,N_1含有天然DNA糖。在一些实施例中,N_1含有天然RNA糖。在一些实施例中,N_1含有如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,糖是UNA糖。在一些实施例中,糖是GNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是sm01。在一些实施例中,其是sm11。在一些实施例中,其是sm12。在一些实施例中,其是sm18。在一些实施例中,当施用于系统(例如,细胞、组织、生物体等)时,与参考糖(例如,天然RNA糖、不同的经修饰的糖等)相比,修饰的糖(例如2'-F修饰的糖或DNA糖)提供更高的编辑效率。在一些实施例中,N_1含有天然核碱基,例如U。在一些实施例中,N_1含有如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,N_1的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp6o8A]、[ipr6o8A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。在一些实施例中,N_1的核碱基是T。在一些实施例中,其是U。在一些实施例中,其是b002A。在一些实施例中,其是b003A。在一些实施例中,其是b008U。在一些实施例中,其是b010U。在一些实施例中,其是b011U。在一些实施例中,其是b012U。在一些实施例中,其是b001C。在一些实施例中,其是b004C。在一些实施例中,其是b007C。在一些实施例中,其是b008C。在一些实施例中,N_1是天然核苷。在一些实施例中,N_1是经修饰的核苷。在一些实施例中,N_1是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、fI、aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnp、和Tsm18。在一些实施例中,N_1是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、或fI。在一些实施例中,N_1是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、或dG。在一些实施例中,N_1是dT。在一些实施例中,N_1是b001A。在一些实施例中,N_1是b002A。在一些实施例中,N_1是b003A。在一些实施例中,N_1是b004A。在一些实施例中,N_1是b005A。在一些实施例中,N_1是b006A。在一些实施例中,N_1是fU。在一些实施例中,N_1是b008U。在一些实施例中,N_1是b001C。在一些实施例中,N_1是b004C。在一些实施例中,N_1是b007C。在一些实施例中,N_1是b008C。在一些实施例中,N_1是b001U。在一些实施例中,N_1是b008U。在一些实施例中,N_1是b010U。在一些实施例中,N_1是b011U。在一些实施例中,N_1是b012U。在一些实施例中,N_1是b013U。在一些实施例中,N_1是b014U。在一些实施例中,N_1是b015U。在一些实施例中,N_1是Csm11。在一些实施例中,N_1是Gsm11。在一些实施例中,N_1是

Tsm11。在一些实施例中,N_1是b009Csm11。在一些实施例中,N_1是Csm12。在一些实施例中,N_1是Gsm12。在一些实施例中,N_1是Tsm12。在一些实施例中,N_1是b009Csm12。在一些实施例中,N_1是Gsm01。在一些实施例中,N_1是Tsm01。在一些实施例中,N_1是Csm17。在一些实施例中,N_1是Tsm18。在一些实施例中,N_1是b014I。在一些实施例中,N_1是无碱基的。在一些实施例中,N_1是L010。如本文所述,在位置N_1处,在一些实施例中,当寡核苷酸与核酸(例如,其用于腺苷编辑的靶转录物)形成双链体时,其是匹配。在一些实施例中,其是错配。在一些实施例中,其是摆动。在一些实施例中,N_1与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,N_1与如本文所述的经修饰的核苷酸间键联(在各种实施例中,具有定义的立体化学)键合。在一些实施例中,N_1与天然磷酸酯键联和经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_1与两个天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,N_1与两个经修饰的核苷酸间键联键合,其可以各自独立地且任选地是立体控制的并且可以是Rp或Sp。

[0536] 如本文所述,其中修饰可以用于N_{-1},包括糖修饰、核碱基修饰等。在一些实施例中,N_{-1}含有天然DNA糖。在一些实施例中,N_{-1}含有天然RNA糖。在一些实施例中,N_{-1}含有如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{-1-6}烷基。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,糖是UNA糖。在一些实施例中,糖是GNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是sm01。在一些实施例中,其是sm11。在一些实施例中,其是sm12。在一些实施例中,其是sm18。在一些实施例中,当施用于系统(例如,细胞、组织、生物体等)时,与参考糖(例如,天然RNA糖、不同的经修饰的糖等)相比,修饰的糖(例如2'-F修饰的糖或DNA糖)提供更高的编辑效率。在一些实施例中,N_{-1}含有天然核碱基,例如U。在一些实施例中,N_{-1}含有如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,N_{-1}的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nfl5U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。在一些实施例中,N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,其是U。在一些实施例中,其是b001A。在一些实施例中,其是b002A。在一些实施例中,其是b003A。在一些实施例中,其是b004A。在一些实施例中,其是b005A。在一些实施例中,其是b006A。在一些实施例中,其是b008U。在一些实施例中,其是b011U。在一些实施例中,其是b012U。在一些实施例中,其是b013U。在一些实施例中,其是b014U。在一些实施例中,其是b015U。在一些实施例中,其是b001C。在一些实施例中,其是b004C。在一些实施例中,其是b007C。在一些实施例中,其是b008C。在一些实施例中,其是b009C。在一些实施例中,其是b002G。在一些实施例中,其是b014I。在一些实施例中,其是[3nT]。在一些实施例中,其是[3ne5U]。在一些实施例中,其是[3nfl5U]。在一些实施例中,其是[3npry5U]。在一些实施例中,其是[3ncn5U]。在一些实施例中,其是[nathp608A]。在一些实施例中,其是[ipr6o8A]。在一些实施例中,其是[c7In]。在一些实施例中,其是[c39z48In]。在一些实施例中,其是[z2c3In]。在一些实施例中,其是[z5C]。在一些实施例中,在本文所述的技术的高灵活性和效率的情况下,可以在N_{-1}处利用各种核碱基和糖以提供编辑。例如,如所证实的,各种核碱

基,例如G、b006C、b007C、b004A、b007A、b002I、b003I、b004I等,和/或各种糖,例如天然DNA糖、sm11、sm12等可以在与C相反的N_{-1}处使用,以提供编辑,在一些实施例中编辑水平与某些其他核碱基和/或糖相比更高;并且各种核碱基,例如C、b008U、b005U、b009U、b012U、b005C、b008C、b001A、b004A、b007A、b002I、b004I、b001G、无碱基等,和/或各种糖,例如天然DNA糖、sm11、sm12、sm15等可以在与G相反的N_{-1}处使用,以提供编辑,在一些实施例中编辑水平与某些其他核碱基和/或糖相比更高;并且各种核碱基,例如A、b004U、b009U、b010U、b011U、b012U、b006C、b008C、b009C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b003I、b004I、b001G、无碱基等,和/或各种糖,例如天然DNA糖、sm11、sm12、sm15等可以在与U/T相反的N_{-1}处使用,以提供编辑,在一些实施例中编辑水平与某些其他核碱基和/或糖相比更高;并且各种核碱基,例如U、T、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G、无碱基等,和各种糖,例如天然DNA糖、sm11、sm12、sm15、sm17等可以在与A相反的N_{-1}处使用,以提供编辑,在一些实施例中编辑水平与某些其他核碱基和/或糖相比更高。在一些实施例中,核碱基G可以在N_{-1}处与C相反使用,以提供有效编辑,例如,当N_0的核碱基是b008U时。在一些实施例中,N_0是b008U并且N_{-1}是G。在一些实施例中,当靶腺苷的相邻核苷(例如,5'-侧)是A时,在N_{-1}位置(与5'相邻腺苷相反)处的某些核碱基、糖等提供与其他相比更高的编辑效率和/或选择性。在一些实施例中,与其他核碱基(例如,C)相比,N_0处的某些核碱基(例如,b008U)提供靶腺苷编辑,其选择性高于相邻A(例如,5'-侧A)。在一些实施例中,N_0是b008U,以提供编辑效率和选择性。在一些实施例中,N_{-1}是天然核苷。在一些实施例中,N_{-1}是经修饰的核苷。在一些实施例中,N_{-1}是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、fI、aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnp、和Tsm18。在一些实施例中,N_{-1}是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、或fI。在一些实施例中,N_{-1}是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、或dG。在一些实施例中,N_{-1}是dI。在一些实施例中,N_{-1}是rI。在一些实施例中,N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_{-1}是b001A。在一些实施例中,N_{-1}是b002A。在一些实施例中,N_{-1}是b003A。在一些实施例中,N_{-1}是b004A。在一些实施例中,N_{-1}是b005A。在一些实施例中,N_{-1}是b006A。在一些实施例中,N_{-1}是b007A。在一些实施例中,N_{-1}是fU。在一些实施例中,N_{-1}是b001C。在一些实施例中,N_{-1}是b002C。在一些实施例中,N_{-1}是b003C。在一些实施例中,N_{-1}是b004C。在一些实施例中,N_{-1}是b005C。在一些实施例中,N_{-1}是b006C。在一些实施例中,N_{-1}是b007C。在一些实施例中,N_{-1}是b008C。在一些实施例中,N_{-1}是b009Csm12。在一些实施例中,N_{-1}是b001G。在一些实施例中,N_{-1}是b002G。在一些实施例中,N_{-1}是b001U。在一些实施例中,N_{-1}是b003U。在一些实施例中,N_{-1}是b004U。在一些实施例中,N_{-1}是b005U。在一些实施例中,N_{-1}是b006U。在一些实施例中,N_{-1}是b007U。在一些实施例中,N_{-1}是b008U。在一些实施例中,N_{-1}是b009U。在一些实施例中,N_{-1}是b010U。在一些实施例中,N_{-1}是b011U。在一些实施例中,N_{-1}是b012U。在一些实施例中,N_{-1}是b013U。在一些实施例中,N_{-1}是b014U。在一些实施例中,N_{-1}是b015U。在一些实施例中,N_{-1}是b002I。在一些实施例中,

N_{-1}是b003I。在一些实施例中,N_{-1}是b004I。在一些实施例中,N_{-1}是Gsm01。在一些实施例中,N_{-1}是Tsm01。在一些实施例中,N_{-1}是Csm11。在一些实施例中,N_{-1}是b009Csm11。在一些实施例中,N_{-1}是Gsm11。在一些实施例中,N_{-1}是Tsm11。在一些实施例中,N_{-1}是Csm12。在一些实施例中,N_{-1}是b009Csm12。在一些实施例中,N_{-1}是Gsm12。在一些实施例中,N_{-1}是Tsm12。在一些实施例中,N_{-1}是Csm17。在一些实施例中,N_{-1}是Tsm18。在一些实施例中,N_{-1}是无碱基的。在一些实施例中,N_{-1}是L010。在一些实施例中,N_{-1}是b002G。在一些实施例中,N_{-1}是b014I。如本文所述,在位置N_{-1}处,在一些实施例中,当寡核苷酸与核酸(例如,其用于腺苷编辑的靶转录物)形成双链体时,其是匹配。在一些实施例中,其是错配。在一些实施例中,其是摆动。在一些实施例中,N_{-1}与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,N_{-1}与如本文所述的经修饰的核苷酸间键联(在各种实施例中,具有定义的立体化学)键合。在一些实施例中,N_{-1}与天然磷酸酯键联和经修饰的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_{-1}与两个天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,N_{-1}与两个经修饰的核苷酸间键联键合,其可以各自独立地且任选地是立体控制的并且可以是Rp或Sp。

[0537] 在一些实施例中,N_2含有天然糖。在一些实施例中,N_2的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0538] 在一些实施例中,N_1和N_2之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0539] 在一些实施例中,N_3含有天然糖。在一些实施例中,N_3的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0540] 在一些实施例中,N_2和N_3之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。在一些实施例中,N_4含有天然糖。在一些实施例中,N_4的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0541] 在一些实施例中,N_3和N_4之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0542] 在一些实施例中,N_5含有天然糖。在一些实施例中,N_5的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0543] 在一些实施例中,N_4和N_5之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0544] 在一些实施例中,N_6含有天然糖。在一些实施例中,N_6的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0545] 在一些实施例中,N_5和N_6之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0546] 如本文所述,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域等)可以包含一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)嵌段或由其组成,其各自独立地包含一个或多个(例如1-50、1-40、1-30、1-25、1-24、1-23、1-22、1-21、1-20、1-10、1-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30个等)糖,其中嵌段中每个糖共享相同的结构。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域等)可以包含一个或多个(例如1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)嵌段或由其组成,其各自独立地包含一个或多个(例如1-50、1-40、1-30、1-25、1-24、1-23、1-22、1-21、1-20、1-10、1-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30个等)糖,其中嵌段中每个糖是相同的经修饰的

糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地含有1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地含有1-5个糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地含有1、2、或3个糖。在一些实施例中,一个或多个嵌段(例如1-15、1-10个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)独立地含有两个或三个或更多个糖。在一些实施例中,一个或多个嵌段(例如1-15、1-10个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)独立地含有两个或三个糖。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的约或至少约30%、40%或50%嵌段独立地含有两个或更多个(例如两个或三个)糖。在一些实施例中,第一结构域的寡核苷酸中约50%嵌段独立地含有两个或更多个(例如两个或三个)糖。在一些实施例中,嵌段是2'-F嵌段,其中嵌段中的每个糖是2'-F修饰的嵌段。在一些实施例中,嵌段是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,其中嵌段中的每个糖均是相同的2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,嵌段是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,嵌段是双环糖嵌段,其中嵌段中的每个糖均是相同的双环糖(例如LNA糖、cEt等)。在一些实施例中,两个或更多个嵌段是2'-F嵌段。在一些实施例中,每个其他嵌段是2'-F嵌段。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地含有不超过2、3、4、5、6、7、8、9、或10个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段含有不超过5个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段含有不超过4个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段含有不超过3个糖。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或一个双环糖嵌段。在一些实施例中,一部分中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或一个双环糖嵌段。在一些实施例中,寡核苷酸中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,第一结构域中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,第一结构域中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OMe嵌段。在一些实施例中,第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-OMe嵌段。在一些实施例中,第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段。在一些实施例中,第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段和2'-OMe嵌段。在一些实施例中,第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段和2'-OMe嵌段,且不存在2'-F嵌段。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地与2'-OR嵌段(其中R是C_{1-6}脂肪族基)或双环糖嵌段键合。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地与2'-OR嵌段键合,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖嵌段。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,键合2'-OR嵌段(其中R是C_{1-6}脂肪族基)或双环糖嵌段的第一结构域中的每个嵌段独立地是不同的2'-OR嵌段(其中R是C_{1-6}脂肪族基)或双环糖嵌段的2'-F嵌段。在一些实施例中,键合2'-OR嵌段(其中R是C_{1-6}脂肪族基)的第一结构域中的每个嵌段独立地是不同的2'-OR嵌段(其中R是C_{1-6}脂肪族基)的2'-F嵌段。在一些实施例中,2'-OR嵌段是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,2'-OR嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,至少一个嵌段是2'-OMe

嵌段。在一些实施例中,约或约至少2、3、4、或5个嵌段独立地是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,至少一个嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,约或约至少2、3、4、或5个嵌段独立地是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-MOE嵌段以及一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)2'-F嵌段。在一些实施例中,第一结构域中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,第一结构域中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-F嵌段。在一些实施例中,第一结构域中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-F嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,第一结构域中有一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个)2'-MOE嵌段以及一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)2'-F嵌段。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中,2'-F修饰的糖的百分比约为20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%,20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%,并且2'-OR修饰的糖(其各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)的百分比约为20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%,20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%。在一些实施例中,在第一结构域中,2'-F修饰的糖的百分比约为20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%,20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%,并且2'-OR修饰的糖(其各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)的百分比约为20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%,20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%。在一些实施例中,2'-F修饰的糖的百分比与2'-OR修饰的糖(其各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)的百分比之间的差异小于约50%、40%、30%、20%、或10%(通过从两个百分比中较大的百分比减去两个百分比中较小的一个来计算)。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0547] 例如,在一些实施例中,N_2、N_5、和N_6中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N_3和N_4中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是C_{1-6}脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,N_2、N_5、和N_6中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N_3和N_4中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,N_2、N_5、和N_6中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N_3和N_4中的每一个的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_2、N_5、和N_6中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N_3和N_4中的每一个的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,至少一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_3的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_3的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_4的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_3和N_4两者的糖均是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_2形成2'-F嵌段。在一些实施例中,N_3和N_4形成2'-OMe嵌段。在一些实施例中,N_3和N_4形成2'-

MOE嵌段。在一些实施例中,N_5、N_6和/或N_7形成2'-F嵌段。如本文所展示的,在多种位置处的包含经修饰的糖(例如2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等)的寡核苷酸尤其可以提供高水平的腺苷编辑。例如,2'-MOE修饰的糖可以掺入多种位置,以提供能够进行腺苷编辑的寡核苷酸;在一些实施例中,N_1的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_2的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_3的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_4的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_5的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_6的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_7的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_8的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-1}的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-2}的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-3}的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-4}的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-5}的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N_{-6}的糖是2'-MOE修饰的糖。

[0548] 如本文所述,各种核苷酸间键联可以用于寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中。例如,各种键联可以用于第一结构域中。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联以及一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联均是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联均是Sp。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个磷酰基胍核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,第一结构域含有约1-5个,例如1、2、3、4、或5个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,这样的不带负电荷的核苷酸间键联各自独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其各自独立地是n001。在一些实施例中,其中的一个或多个独立地是手性控制的。在一些实施例中,其中的每个是手性控制的。在一些实施例中,其中的每个是Rpn001。在一些实施例中,一个或多个糖(其是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-OMe糖与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-MOE糖与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,一个或多个2'-F修饰的糖与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中的约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中的约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中的约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域、第二结构域等

中的约或至少约20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域中约或至少约20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域中约或至少约20％、30％、40％、50％、60％、70％、80％或90％2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域、第二结构域等中的约或至少约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域中约或至少约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-OMe修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,第一结构域中约或至少约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-MOE修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖键合的一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个天然磷酸酯键联独立地与2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖键合。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖键合的每个天然磷酸酯键联独立地与2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖键合。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖键合的一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个天然磷酸酯键联独立地与2'-MOE修饰的糖键合。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖键合的每个天然磷酸酯键联独立地与2'-MOE修饰的糖键合。

[0549] 尤其是,本披露展示了与可比较的参考寡核苷酸(例如先前在以下中报道的那些)相比,包含如本文所述的各种嵌段和模式(例如2'-F嵌段、2'-OMe嵌段、2'-MOE嵌段等)和/或如本文所述的核苷酸间键联及其模式的寡核苷酸可以提供改善的药效学、药代动力学和/或腺苷编辑水平等:WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301A1、WO 2019/158475、WO 2019/219581、WO 2020/157008、WO 2020/165077、WO 2020/201406或WO 2020/252376。在一些实施例中,参考寡核苷酸是WO 202I/071858中报道的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸是WO 2022/099159中报道的寡核苷酸。

[0550] 在一些实施例中,N_{-2}含有天然糖。在一些实施例中,N_{-2}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0551] 在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。在一些实施例中,N_{-1}是dI,并且N_{-1}和N_{-2}之间的键联是Sp磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}是dI,并且N_{-1}和N_{-2}之间的键联是Sp n001。

[0552] 在一些实施例中,N_{-3}含有天然糖。在一些实施例中,N_{-3}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一

些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0553] 在一些实施例中,N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0554] 在一些实施例中,N_{-4}含有天然糖。在一些实施例中,N_{-4}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0555] 在一些实施例中,N_{-3}和N_{-4}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0556] 在一些实施例中,N_{-5}含有天然糖。在一些实施例中,N_{-5}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0557] 在一些实施例中,N_{-4}和N_{-5}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0558] 在一些实施例中,N_{-6}含有天然糖。在一些实施例中,N_{-6}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是天然RNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,其是2'-OR修饰的糖,其中R是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,其是2'-OMe修饰的。在一些实施例中,其是2'-MOE修饰的糖。

[0559] 在一些实施例中,N_{-5}和N_{-6}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,其是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,其是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,其是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,其是n001。在一些实施例中,

其是Sp。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp n001。在一些实施例中,其是Rp n001。

[0560] 在一些实施例中,N_{-1}、N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的至少一个糖是双环糖,例如LNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的一个糖是2'-F修饰的糖,并且其他糖中的每个独立地是如本文所述的2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等),或双环糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的一个糖是2'-F修饰的糖,并且其他糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的一个糖是2'-F修饰的糖,并且其他糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的一个糖是2'-F修饰的糖,并且其他糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是DNA糖,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖,并且N_{-2}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的每一个的糖独立地是如本文所述的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)或双环糖(例如LNA糖、ENA糖等)。在一些实施例中,N_{-1}的糖是DNA糖,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖,并且N_{-2}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,N_{-1}的糖是DNA糖,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖,并且N_{-2}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的每一个的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是DNA糖,N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖,并且N_{-2}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的每一个的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N_{-2}形成2'-OMe嵌段。在一些实施例中,N_{-3}形成2'-F嵌段。在一些实施例中,N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}形成2'-OMe嵌段。

[0561] 在一些实施例中,N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个与天然磷酸酯键联键合。在一些实施例中,N_{-2}和N_{-3}之间的键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,N_{-2}与不带负电荷的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个与不带负电荷的核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_{-5}和N_{-6}之间的键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}、和N_{-6}中的至少一个与硫代磷酸酯核苷酸间键联键合。在一些实施例中,N_{-3}、N_{-4}和N_{-5}各自独立地与硫代磷酸酯核苷酸间键联键合。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,N_{-2}和v-3之间的键联是天然磷酸酯键联,N_{-3}和N_{-4}之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,N_{-4}和N_{-5}之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且N_{-5}和N_{-6}之间的键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联(例如Rp磷酰基胍核苷酸间键联,如Rp n001)。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与至少一个经修饰的糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与至少一个2'-OR修饰的糖(其中R是C_{1-6}脂肪族基)或双环糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与2'-OMe修饰的糖键合。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与

2'-MOE修饰的糖键合。在一些实施例中,与天然磷酸酯键联键合的两个糖独立地是如本文所述的经修饰的糖。

[0562] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如本文所述的第一结构域(例如其中多个或大多数或所有糖均是2'-F修饰的糖的第一结构域)和如本文所述的第二结构域(例如其中多个或大多数或所有糖均是非-2'-F修饰的糖(例如2'-OMe修饰的糖)的第二结构域)。在一些实施例中,第一结构域位于第二结构域的5'侧。在一些实施例中,第一结构域位于第二结构域的3'侧。在一些实施例中,当第一结构域位于第二结构域的3'侧时,存在至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个(例如1-20、2-20、3-20、4-20、5-20、6-20、7-20、7-11个等)与靶腺苷相反的核苷的5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少3个。在一些实施例中,存在至少4个。在一些实施例中,存在至少5个。在一些实施例中,存在至少6个。在一些实施例中,存在至少7个。在一些实施例中,存在至少8个。在一些实施例中,存在至少9个。在一些实施例中,存在至少10个。在一些实施例中,存在3个。在一些实施例中,存在4个。在一些实施例中,存在5个。在一些实施例中,存在6个。在一些实施例中,存在7个。在一些实施例中,存在8个。在一些实施例中,存在9个。在一些实施例中,存在10个。在一些实施例中,存在11个。在一些实施例中,存在7-11个。在一些实施例中,存在9-11个。在一些实施例中,存在10或11。在一些实施例中,另外地或替代性地,存在至少15、16、17、18、19、20个或更多个(例如15-30、16-30、17-30、18-30、18-25、18-22个等)与靶腺苷相反的核苷的5'-侧核苷。在一些实施例中,存在至少15个。在一些实施例中,存在至少16个。在一些实施例中,存在至少17个。在一些实施例中,存在至少18个。在一些实施例中,如上所述,存在至少约5个(例如5-50、5-40、5-30、5-20、5-10、5-9个,5、6、7、8、9、或10个等)3'-锕核苷和至少约15个(例如15-50、15-40、15-30、15-20、20-30、20-25个,15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个等)5'-侧核苷。在一些实施例中,独立地约1-10个(例如2-10、3-10、3-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)双环或2'-OR修饰的糖独立地在编辑区(例如$N_1N_0N_{-1}$)的5'-、或3'-、或两侧,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,独立地约1-10个(例如2-10、3-10、3-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)2'-OR修饰的糖独立地在编辑区的5'-、或3'-、或两侧,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,独立地约1-10个(例如2-10、3-10、3-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)2'-OMe修饰的糖独立地在编辑区的5'-、或3'-、或两侧。在一些实施例中,其在5'侧。在一些实施例中,其在3'侧。在一些实施例中,其在两侧。在一些实施例中,有利的是,在编辑区(例如$N_1N_0N_{-1}$)周围,两侧均存在双环或2'-OR修饰的糖(例如独立地约1-10个(例如2-10、3-10、3-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个),其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,有利的是,在编辑区(例如$N_1N_0N_{-1}$)周围,两侧均存在2'-OR修饰的糖(例如独立地约1-10个(例如2-10、3-10、3-5个,1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个),其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,在每一侧上存在至少2个。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。

[0563] 所提供的技术的许多优点之一是,与其他的传统技术相比,短得多的寡核苷酸可以提供可比较的或更高水平的腺苷编辑。阅读本披露的本领域技术人员将理解,掺入本披露的寡核苷酸的一个或多个结构元件(例如,糖修饰、核碱基修饰、核苷酸间键联修饰、立体化学和/或其模式)的更长的寡核苷酸(例如,延伸靶腺苷的5'侧、3'侧或两侧)也可以是有

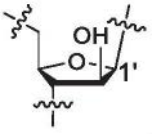
用的,例如,用于本文所述的各种用途,包括腺嘌呤编辑和预防和/或治疗可有益于靶腺苷编辑的病症、障碍或疾病。

[0564] 在一些实施例中,ADAR1 p150比ADAR1 p110更能容忍5'-侧和/或3'-侧的长度和/或与靶腺苷相反的核苷定位的变化。在一些实施例中,本披露提供了特别地有用的5'-侧和/或3'-侧的长度和/或与靶腺苷相反的核苷定位,以用于编辑(例如通过ADAR1 p110和/或ADAR1 p150)。在一些实施例中,某些有用的5'-侧和/或3'-侧的长度和/或核苷定位(例如,提供编辑的那些寡核苷酸,诸如WV-12027、WV-42028、WV-42029、WV-42030、WV-42032和WV-420333;在一些实施例中,WV-42027;在一些实施例中,WV-42028;在一些实施例中,WV-42029;在一些实施例中,WV-42030;在一些实施例中,WV-42031)可用于在表达ADAR1(例如,ADAR1 p110和/或p150)的细胞中进行编辑。对于寡核苷酸结构,参见例如WO 2022/099159。

[0565] 在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷键合的每个硫代磷酸酯独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,N_0和N_{-1}之间的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}和N_{-2}之间的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0566] 在一些实施例中,本披露提供了包含可提供高编辑效率的编辑区的寡核苷酸。在一些实施例中,所提供的编辑区是或包含如本文所述的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'。

[0567] 在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的寡核苷酸。

[0568] 在一些实施例中,N_0如本文所述。在一些实施例中,N_0包含如本文所述的糖和核碱基。在一些实施例中,N_0具有天然DNA糖。在一些实施例中,N_0具有天然RNA糖。在一些实施例中,N_0具有经修饰的糖,例如2'-F修饰的糖。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核碱基或N_0的糖是阿拉伯呋喃糖。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核碱基或N_0的糖是

,其中C1'与如本文所述核碱基键合。在一些实施例中,N_0具有天然核碱基。在一些实施例中,N_0的核碱基是C。在一些实施例中,N_0的核碱基是b001A。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是胞苷。在一些实施例中,N_0是2'-F C(其中胞苷的2'-OH被-F代替)。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,N_0的核碱基不是T或U。在一些实施例中,N_0的核碱基不是T。在一些实施例中,N_0的核碱基不是U。在一些实施例中,N_0与A不匹配。

[0569] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0570] 在一些实施例中,N_1的核碱基是T,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是胸苷,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例

中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0571] 在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0572] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是鸟嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U,并且N_{-1}是脱氧鸟苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'对于用于编辑靶腺苷A的靶向包含5'-CAA-3'的RNA特别有用。在一些实施例中,N_0的3'侧存在6或至少6个核苷(例如当存在6个时,N_{-1}至N_{-6})。

[0573] 在一些实施例中,N_1的核碱基是C并且N_{-1}的核碱基是鸟嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧鸟苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'对于用于编辑靶腺苷A的靶向包含5'-CAA-3'的RNA特别有用。在一些实施例中,N_0的3'铡存在6或至少6个核苷(例如当存在6个时,N_{-1}至N_{-6})。

[0574] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-FG,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0的核碱基是如本文所述的,诸如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0575] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是C并且N_{-1}的核碱基是胸腺嘧啶。在一些实施例中,N_1是2'-FC,并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施

例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-AAA-3的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0576] 在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-AAU-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0577] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-FC并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-AAG-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0578] 在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-AAC-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0579] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实

施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-FG并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-UAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0580] 在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-FU并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-UAU-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0581] 在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-FA并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-FC并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-UAG-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0582] 在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-FC并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的

核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-UAC-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0583] 在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-FU并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-GAA-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0584] 在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-GAU-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0585] 在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-GAG-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0586] 在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-

F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-FG,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是T。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dT。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是C。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dC。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-GAC-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0587] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAU-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0588] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAG-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0589] 在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F A,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'F G,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是G。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dG。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_0是如本文所述的,诸如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,N_0是脱氧胞苷。在一些实施例中,N_0是b001A。在一些实施例中,N_0是Csm15。在一些实

施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-CAC-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0590] 在一些实施例中,N_1的核碱基是U,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F C并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是G,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F G并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_1的核碱基是C,并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F C,并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是U并且N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,N_1是2'-F U并且N_{-1}是脱氧肌苷。在一些实施例中,N_1的核碱基是A,并且N_{-1}的核碱基是A。在一些实施例中,N_1是2'-F A并且N_{-1}是dA。在一些实施例中,N_0是b001rA。在一些实施例中,N_0是b008U。在一些实施例中,这样的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'特别地用于靶向包含5'-UAG-3'的RNA,以编辑靶腺苷A。

[0591] 在一些实施例中,核碱基U可以被T代替而不降低编辑水平。在一些实施例中,核碱基U可以被T代替,以提高编辑水平。在一些实施例中,2'-F U可以被胸苷代替。在一些实施例中,N_1是胸苷。在一些实施例中,N_1是胸苷,N_0是如本文所述的,例如b001A、b008U等。在一些实施例中,N_1是胸苷,N_0是如本文所述的,例如b001A、b008U等,并且N_{-1}是I。

[0592] 在一些实施例中,当与靶序列比对和/或与靶核酸杂交时,N_0是与A的摆动或与A错配。在一些实施例中,N_1与其相反核碱基不匹配。在一些实施例中,N_{-1}与其相反核碱基不匹配。在一些实施例中,N_{-1}、N_0和N_1中的两个独立地不与其相反核碱基匹配。在一些实施例中,N_0和N_1独立地不与其相反核碱基匹配。在一些实施例中,N_0和N_{-1}独立地不与其相反核碱基匹配。在一些实施例中,当其不是匹配时,其是摆动。在一些实施例中,当其不是匹配时,其是错配。在一些实施例中,N_1的核碱基是C并且其相反核碱基是A。在一些实施例中,N_0的3'侧有更多个核苷(例如,6个或更多个)可以容忍更多5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的错配/摆动。

[0593] 在一些实施例中,与N_0键合的每个核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_1键合的每个核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,与N_{-1}键合的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,与N_{-1}(例如与其位置3')键合的磷酰基胍核苷酸间键联(例如n001)是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,与N_{-1}(例如与其位置3')键合的磷酰基胍核苷酸间键联(例如n001)是手性控制的并且是Sp(例如在一些实施例中,当N_{-1}是dI)。

碱基序列

[0594] 如本领域技术人员所理解的,本披露的结构特征,如核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学等及其组合可与多种合适的碱基序列一起使用以提供具有所需特性和/或活性的寡核苷酸和组合物。例如,用于腺苷修饰(例如,在ADAR蛋白存在下转化成I)的寡核苷酸典型地具有与包含靶腺苷的靶核酸序列充分互补的序列。与靶腺苷相反的核苷可存在于寡核苷酸的多种位置。在一些实施例中,一个或多个相反核苷在第一结构域中。在一些实施例中,一个或多个相反核苷在第二结构域中。在一些实施例中,一个或多个相反核苷在第一子结构域中。在一些实施例中,一个或多个相反核苷在第二子结构域中。在一些实施例中,一个或多个相反核苷在第三子结构域中。本披露的寡核苷酸可以靶向一个

或多个靶腺苷。在一些实施例中,一个或多个相反核苷各自独立地在具有第二子结构域的结构特征的部分中,并且各自独立地具有如本文所述的相反核苷的一个或多个或所有结构特征。在许多实施例中,例如,为了靶向G至A突变,寡核苷酸可以选择性地靶向一个且仅一个靶腺苷进行修饰,例如通过ADAR以转化成I。在一些实施例中,相反核苷更靠近寡核苷酸的3'-末端而不是5'-末端。

[0595] 在一些实施例中,寡核苷酸具有本文所述(例如,在表中)的碱基序列或其具有0-5个(例如,0、1、2、3、4或5个)错配的部分(例如,10-50、10-40、10-30、10-20或10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或至少10、至少15、至少20、至少25个连续核碱基的跨度),其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸包含本文所述的碱基序列或其部分,其中部分是具有0-5个错配的至少10个连续核碱基的跨度、或至少15个连续核碱基的跨度。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有本文所述的碱基序列或其部分,其中部分是至少10个连续核碱基的跨度、或具有1-5个错配的至少10个连续核碱基的跨度,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。

[0596] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列包含以下或由以下组成:碱基序列的10-60(例如约或至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60个;在一些实施例中,至少15个;在一些实施例中,至少16个;在一些实施例中,至少17个;在一些实施例中,至少18个;在一些实施例中,至少19个;在一些实施例中,至少20个;在一些实施例中,至少21个;在一些实施例中,至少22个;在一些实施例中,至少23个;在一些实施例中,至少24个;在一些实施例中,至少25个;在一些实施例中,至少26个;在一些实施例中,至少27个;在一些实施例中,至少28个;在一些实施例中,至少29个;在一些实施例中,至少30个;在一些实施例中,至少31个;在一些实施例中,至少32个;在一些实施例中,至少33个;在一些实施例中,至少34个;在一些实施例中,至少35个)个碱基(任选地连续的),该碱基序列与核酸(例如基因或其转录物(例如mRNA))的碱基序列相同或互补。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含与基因或其转录物中的靶序列互补的序列。在一些实施例中,序列的长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60个或更多个核碱基。

[0597] 在一些实施例中,靶序列是或包含核酸序列(例如,基因或其转录物的)的特征性序列,因为其定义该核酸序列超过相关生物体中的其他核酸序列;例如,特征性序列不存在于相关生物体中的其他基因组核酸序列(例如,基因)或其转录物中或至少与其具有多种错配。在一些实施例中,转录物的特征序列定义了该转录物优于相关生物体中的其他转录物;例如,在一些实施例中,特征序列不在从不同核酸序列(例如,不同基因)转录的转录物中。在一些实施例中,来自核酸序列的转录物变体(例如,基因的mRNA变体)可共享共同特征性序列,该特征性序列定义它们来自例如其他基因的转录物。在一些实施例中,特征性序列包含靶腺苷。在一些实施例中,寡核苷酸选择性地与包含靶腺苷的核酸形成双链体,其中靶腺苷在双链体区域内并且可以被蛋白如ADAR1或ADAR2修饰。

[0598] 如本领域技术人员所理解的,所提供的寡核苷酸的碱基序列典型地具有足够的长度和与其靶核酸例如RNA转录物(例如,前体mRNA、成熟mRNA等)的互补性,以用于例如靶腺苷的定点编辑。在一些实施例中,寡核苷酸与靶RNA序列的包含靶腺苷的一部分互补(如本

领域技术人员所理解的,在许多情况下,靶核酸长于本披露的寡核苷酸,并且可基于两个寡核苷酸中较短的寡核苷酸来适当地评估互补性)。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有90%或更高的同一性,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有95%或更高的同一性,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列包含表中披露的寡核苷酸的15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40或更多个碱基的连续跨度,其中每个T可独立地被U取代并且反之亦然,但该跨度内的一个或多个碱基是无碱基的(例如,核碱基不存在于核苷酸中)。

[0599] 在一些实施例中,本披露涉及具有碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列包含本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0600] 在一些实施例中,本披露涉及具有作为本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0601] 在一些实施例中,本披露涉及具有包含本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列的至少15个连续碱基的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0602] 在一些实施例中,本披露涉及具有与本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列至少90%相同的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0603] 在一些实施例中,本披露涉及具有与本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列至少95%相同的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0604] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含本文所述的任何寡核苷酸的碱基序列的10-40个,例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40个连续碱基,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0605] 在一些实施例中,寡核苷酸是本文表中呈现的寡核苷酸。

[0606] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与靶核酸(例如,包含靶腺苷的部分)的碱基序列互补。

[0607] 在一些实施例中,寡核苷酸具有包含表中寡核苷酸的至少15个连续碱基(例如,15、16、17、18、19或20个)的碱基序列,其中每个T可独立地被U取代并且反之亦然。

[0608] 在一些实施例中,寡核苷酸包含任一表中所述的碱基序列或其部分(例如,包含10-40个,例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40个核碱基的部分),其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然,和/或任一表中所述的糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰和/或立体化学和/或其模式,和/或任一表中所述的另外的化学部分(除寡核苷酸链之外,例如还有靶部分、脂质部分、碳水化合物部分等)。

[0609] 在一些实施例中,术语“互补的’’、“完全互补的“和“基本上互补的即可用于寡核苷酸与靶序列之间的碱基匹配,如本领域技术人员从其使用的上下文将理解的。应注意,用U取代T或反过来通常都不会改变互补的量。如本文所用,与靶序列“基本上互补”的寡核苷酸在很大程度上或大部分是互补的,但不必是100%互补的。在一些实施例中,基本上互补的序列(例如,寡核苷酸)在与其靶序列最大比对时具有一个或多个,例如1、2、3、4或5个错配。在一些实施例中,寡核苷酸具有与靶核酸的靶序列基本上互补的碱基序列。在一些实施

例中,寡核苷酸具有与本文披露的寡核苷酸的序列的互补序列基本上互补的碱基序列。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,寡核苷酸的序列不需要与寡核苷酸的靶标100%互补即可执行其功能(例如,在核酸中将A转化成I)。在一些实施例中,错配在寡核苷酸的5'和/或3'末端或中间被良好耐受。在一些实施例中,一个或多个错配优选用于如本文所展示的腺苷修饰。在一些实施例中,寡核苷酸包含用于与靶核酸互补的部分,和任选地不主要用于与靶核酸互补的部分;例如,在一些实施例中,寡核苷酸可以包含用于蛋白结合的部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的碱基序列与其靶序列完全互补(A-T/U和C-G碱基配对)。在一些实施例中,除了在与靶核苷(例如,腺苷)相反的核苷处,所提供的寡核苷酸的碱基序列与其靶序列完全互补(A-T/U和C-G碱基配对)。

[0610] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含在表中所述的寡核苷酸中发现的序列,其中一个或多个U独立地并且任选地被T代替,或反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸可以包含至少一个T和/或至少一个U。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含在本文表中所述的寡核苷酸中发现的序列,其中所述序列与表中描述的寡核苷酸的序列具有超过50%的同一性。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其碱基序列是表中所披露的寡核苷酸的序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供了包含在表中的寡核苷酸中发现的序列的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有本文表中的相同寡核苷酸或另一种寡核苷酸的骨架键联模式、骨架手性中心模式和/或骨架磷修饰模式。

[0611] 在一些实施例中,本披露提供了具有以下碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列是本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸的碱基序列或包含本其一部分,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然,其中该寡核苷酸任选地进一步包含化学修饰、立体化学、形式、本文描述的另外的化学部分(例如,靶向部分、脂质部分、碳水化合物部分等)和/或另一结构特征。

[0612] 在一些实施例中,"部分"(例如,碱基序列或修饰模式或其他结构元件的部分)为至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个单体单元长。

[0613] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解,本文的技术可以用于靶向包含用于编辑的靶腺苷的多种靶核酸。在一些实施例中,靶核酸是PiZZ等位基因的转录物。在一些实施例中,靶腺苷是…atcgacAagaaagggactgaagc…。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸具有合适的碱基序列,使得它们具有足够的互补性以选择性地与包含用于编辑的靶腺苷的转录物的一部分形成双链体。

[0614] 如本文所述,与靶核苷(例如,A)相反的核苷可以位于多种位置。在一些实施例中,相反核苷在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置3或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置4或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置5或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置6或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置7或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置8或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置9或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的5'-末端的位置10或更远的位置处。在一些实施例中,相反核苷在相对于寡核苷酸的

3’-末端的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置3或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置4或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置5或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置6或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置7或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置8或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置9或更远的位置处。在一些实施例中,其在相对于寡核苷酸的3’-末端的位置10或更远的位置处。在一些实施例中,当进行最大互补性比对时,在相对于5’-末端和/或3’-末端的位置1处的核碱基与靶序列中的相应核碱基互补。在一些实施例中,某些位置,例如位置6、7或8,可以提供更高的编辑效率。

[0615] 作为实例,下表1中呈现了某些寡核苷酸,这些寡核苷酸包含某些示例碱基序列、核碱基修饰及其模式、糖修饰及其模式、核苷酸间键联及其模式、键联磷立体化学及其模式、接头和/或另外的化学部分。尤其是,这些寡核苷酸可用于校正基因或基因产物中的G至A突变(例如,通过将A转化成I)。在一些实施例中,表中列出的是立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物。

[0616] 在一些实施例中,碱基序列是或包含特定序列。在一些实施例中,碱基序列与是或包含与特定序列互补的碱基序列的碱基序列互补。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过1、2、3、4、或5个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列的约15-30(例如,15-25、15-20、20-30、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)个连续核碱基在不超过1、2、3、4、或5个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过1个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过2个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过3个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过4个位置处不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含与特定序列在不超过5个位置处不同的序列。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1(例如,表1A至表1I、1J至10、1P至1U等中的任一个)的碱基序列。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列的5-30、10-30、15-30、20-30、或25-30个(例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个)连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的10个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的11个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的12个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的13个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的14个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的15个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的16个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的17个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的18个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的19个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的20个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的21个连续碱

基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的22个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的23个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的24个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的25个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的26个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的27个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的28个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的29个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的30个连续碱基。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1A的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1H的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1P的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1Q的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1R的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1S的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1T的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1U的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1V的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1W的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1X的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1Y的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1Z的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1ZA的碱基序列。在一些实施例中,碱基序列选自WO 2021/071858的表1(例如,1A、1B、1C、1D、1E、1F、1 G、1H、和/或1I),其全部内容通过援引并入本文。在一些实施例中,碱基序列选自WO 2022/099159的表1(例如,1A、1B、1C、1D、1E、1F、1G、1H、和/或1I),其全部内容通过援引并入本文。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含

CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU。在一些实施例中,特定序列是或包含ACAUAAUUUACACGAAAGCAAUGCCAUCAC,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含ACAUAAUUUACACGAAAGCAAUGCCAUCAC。在一些实施例中,特定序列是或包含AUCCACUGUGGCACCCAGAUUAUCCAUGUU,其中每个U可以独立地被T代替,并且反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含

AUCCACUGUGGCACCCAGAUUAUCCAUGUU。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU。

[0617] 某些寡核苷酸和/或组合物描述于下表1中,其含有多个部分,例如1A、1B、1C等,它们可以单独地称为表1A、1B、1C等。本披露中提及的某些寡核苷酸和/或组合物描述于WO 202I/071858或WO 2022/099159中,例如WO 202I/071858或WO 2022/099159的表1中。WO 202I/071858和WO 2022/099159的所有寡核苷酸和/或组合物均通过援引并入本文。

表 1.示例寡核苷酸和/或组合物。

表 1A.示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-49090	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSnSOSSnR
WV-46312	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSnROSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-49092	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUCCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSSnROOSSSnSOSSnR

表 1H. 靶向 NRF2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-50	Mod001L001mCn001RmG*SmA*SfC*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfC*SfU*SfA*SfU*SfG	CGACUUACUCCAAGA	OnRSSSSSSSSSSSSS

603	*SfU*SfC*ST*Sb008U*SGn001RmCfC*SmUn001RmC	UCUAUGUCTUGCCUC	SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 604	Mod001L001mUn001RmC*SmU*SfC*SfG*SfA*SfC*SfU*Sf U*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfC*SfU *SfA*SfU*SG*Sb008U*SCn001RmUfU*SmGn001RmC	UCUCGACUUACUCCA AGAUCUAUGUCUUGC	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 605	Mod001L001mCn001RmU*SmU*SfC*SfU*SfC*SfG*SfA*Sf C*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU *SfC*SfU*SA*Sb008U*SGn001RmUfC*SmUn001RmU	CUUCUCGACUUACUC CAAGAUCUAUGUCUU	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 607	Mod001L001mCn001RmG*SmA*SfC*SfU*SfU*SfA*SfC*Sf U*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfC*SfU*SfA*SfU*SfA *SfU*SfC*ST*Sb008U*SGn001RmCfC*SmUn001RmC	CGACUUACUCCAAGA UCUAUAUCTUGCCUC	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 608	Mod001L001mUn001RmC*SmU*SfC*SfG*SfA*SfC*SfU*Sf U*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfC*SfU *SfA*SfU*SA*Sb008U*SCn001RmUfU*SmGn001RmC	UCUCGACUUACUCCA AGAUCUAUAUCUUGC	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 609	Mod001L001mCn001RmU*SmU*SfC*SfU*SfC*SfG*SfA*Sf C*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU *SfC*SfU*SA*Sb008U*SAn001RmUfC*SmUn001RmU	CUUCUCGACUUACUC CAAGAUCUAUAUCUU	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-50 610	Mod001L001mGn001RmG*SmG*SfC*SfU*SfG*SfG*SfC*Sf U*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfG*SfA*SfG*SfA*SfA *SfA*ST*Sb008U*SCn001RmAfC*SmC*SmUn001RmG	GGGCUGGCUGAAUU GGGAGAAATUCACCU G	OnRSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnROSSnR

表 1P. 靶向 SERPINA1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-50024	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmU*SmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOSOOSSSnSOSSnR
WV-50025	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCfUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSSnSOSSnR
WV-50026	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RfUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSSnSOSSnR
WV-50027	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfU*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSSnSOSSnR
WV-50028	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmUfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUUAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSSnSOSSnR
WV-50029	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfU*SmUmUn001RmUfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUUAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSSSSnSOSSnR

WV-500 30	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfU mU*SfUn001RmUfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUUAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 31	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn026SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 32	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*Sb008C*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCCUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn
WV-500 24	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmU*S mUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOSOOSSSnSOSSn R
WV-500 25	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCfUn001 RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-500 26	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RfUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-500 27	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf U*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR

WV-500 28	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmUfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUUAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-500 29	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf U*SmUmUn001RmUfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUUAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-500 30	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfU mU*SfUn001RmUfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUUUAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 31	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn026SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 32	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*Sb008C*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCCUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-502 34	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC *SmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmU mUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSSSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-502 35	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfU*SmC*SfC*SfC*SfU*SmU mUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn RSSSSSOOSSSnSOSSnR

WV-502 36	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC *SmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfU*SmC*SfC*SfC*SfU*Sm UmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSSSnROSn RSSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502 37	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfU*Sm5Ceo*SfC*SmCmUn 001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001R mU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSn RSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-500 50	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnSSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 51	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001SmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnSOSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 52	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001SfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn SOSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 53	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn S
WV-500 54	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001SmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnSSSSSOSSOSnSOSn ROSSSSOOSSSnSOSSn

	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-500 55	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001SmCfA*SfGn001SfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUf C*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnSSSSSOSSOSnSOSnS OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-500 56	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001SmCfA*SfGn001SfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUf C*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnSSSSSOSSOSnSOSnS OSSSSOOSSSnSOSSnS
WV-500 57	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmGfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIGCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 58	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmG fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUGCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 59	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmGmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUGUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 60	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfG*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCGUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfGmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCAGCAGCUUCAGG	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn

61	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
WV-500 62	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfGn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUGCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 63	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mG*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCGUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 64	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmAfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIACGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 65	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmA fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUACTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 66	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmAmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUAUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 67	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfA*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCAUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfAmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCAGCAGCUUCAGA	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn

68	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
WV-500 69	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfAn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUACAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-500 70	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mA*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCAUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-502 51	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sm5I C*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502 52	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SIT*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502 53	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSOSSOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502 54	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CAGCAGCUUCAGUCC CUUUCTUIUCGAU	nRSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mAn001RmG*SmC*SmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfG n001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001S	AGCAGCUUCAGUCCC	nRSSSSOSnROSnROSS

55	mUfC*SmG*SmAn001RmU	UUUCTUIUCGAU	SSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mGn001RmC*SmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001Rf	GCAGCUUCAGUCCCU	nRSSSOSnROSnROSSS
56	UmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*S mG*SmAn001RmU	UUCTUIUCGAU	SOOSSSnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
57	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmGn001RmA	CCCUUUCTUIUCGA	OSSSSOOSSSnSOSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
58	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfCn001RmG	CCCUUUCTUIUCG	OSSSSOOSSSnSOnR
WV-502	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC	CCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSOSSOSnROSnRO
59	fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmGn001RmA	CCUUUCTUIUCGA	SSSSOOSSSnSOSnR
WV-502	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S	CAGCAGCUUCAGUCC	nRSSOSSOSnROSnROS
60	fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmGn001RmA	CUUUCTUIUCGA	SSSOOSSSnSOSnR
WV-502	mAn001RmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn00	AGCAGCUUCAGUCCC	nRSOSSOSnROSnROSS
61	1RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUf C*SmGn001RmA	UUUCTUIUCGA	SSOOSSSnSOSnR
WV-502	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S	CCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSOSSOSnROSnRO

62	In001SmUfCn001RmG	CCUUUCTUIUCG	SSSSOOSSSnSOnR
WV-502	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S	CAGCAGCUUCAGUCC	nRSSOSSOSnROSnROS
63	fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfCn001RmG	CUUUCTUIUCG	SSSOOSSSnSOnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
64	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSRnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
65	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*n001RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSnRnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
66	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*n001SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSnSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
12	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001rA*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
13	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001Asm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SCsm		

14	15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
15	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SUsm 15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
16	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SCsm 19*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
17	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 6A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
18	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb01 4U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
19	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8Usm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
20	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 4A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR

21	5A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
22	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb01 5U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
23	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
24	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
25	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb001rA*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
26	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* SCsm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
27	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmG*Sb004An001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR

28	8U*SIn001Sb004AfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIACGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
29	RmCb004A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*S b008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
30	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Szdn p*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTZIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSn
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
51	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sm5l C*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
52	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SIT*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC	CCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSOSSOSnROSnRO
53	fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUIUCGAU	SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S	CAGCAGCUUCAGUCC	nRSSOSSOSnROSnROS
54	fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CUUUCTUIUCGAU	SSSOOSSSnSOSSnR
WV-502	mAn001RmG*SmC*SmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfG n001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001S	AGCAGCUUCAGUCCC	nRSSSSOSnROSnROSS

55	mUfC*SmG*SmAn001RmU	UUUCTUIUCGAU	SSOOSSSnSOSSnR
WV-502 56	mGn001RmC*SmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001Rf UmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*S mG*SmAn001RmU	GCAGCUUCAGUCCCU UUCTUIUCGAU	nRSSSOSnROSnROSSS SOOSSSnSOSSnR
WV-502 57	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGA	nRSSSOSSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOSnR
WV-502 58	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfCn001RmG	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCG	nRSSSSOSSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOnR
WV-502 59	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmGn001RmA	CCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGA	nRSSSOSSOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSnR
WV-502 60	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmGn001RmA	CAGCAGCUUCAGUCC CUUUCTUIUCGA	nRSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSnR
WV-502 61	mAn001RmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn00 1RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUf C*SmGn001RmA	AGCAGCUUCAGUCCC UUUCTUIUCGA	nRSOSSOSnROSnROSS SSOOSSSnSOSnR
WV-502	mCn001RmC*SmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmC fA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*S	CCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSOSSOSnROSnRO

62	In001SmUfCn001RmG	CCUUUCTUIUCG	SSSSOOSSSnSOnR
WV-502	mCn001RmA*SmG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*S	CAGCAGCUUCAGUCC	nRSSOSSOSnROSnROS
63	fGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfCn001RmG	CUUUCTUIUCG	SSSOOSSSnSOnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
64	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSRnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
65	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSnRnSOSSnR
WV-502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
66	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*n001SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSnSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
12	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001rA*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
13	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001Asm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SCsm		

14	15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
15	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SUsm 15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
16	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SCsm 19*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
17	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 6A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
18	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb01 4U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
19	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8Usm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
20	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 4A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR

21	5A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
22	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb01 5U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
23	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
24	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
25	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* Sb001rA*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCAIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
26	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb008C* SCsm15*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCCCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
27	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmG*Sb004An001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR

28	8U*SIn001Sb004AfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIACGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
29	RmCb004A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*S b008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR
30	RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Szdn p*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTZIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-504	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCTeo*SmUn	CCCAGCAGCTUCAGU	nRSSSSOOSOSnROSnR
96	001RmCfA*SfGn001RmUm5CeomC*SfC*SfU*STeoTeofC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUTTCTUIUCGAU	OOSSSOOSSSnSOSSnR
WV-504	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn0	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOOSSOnROSnR
97	01RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC* ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU	OSSOnROOSSSnSOSSn R
WV-504	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn00	CCCAGCAGCTUCAGU	nRSSSSOOSSOnROSnR
98	1RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfU*SfUn001RTeoTeofC*S T*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUTTCTUIUCGAU	OSSSnROOSSSnSOSSn R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
25	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSORSn R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnROSSn

26	fC*ST*Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	ROSSSSOOSSRnSOSSn
27	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
	fC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
28	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSRSnSOSSn
	fC*ST*Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
29	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOORSSnSOSSn
	fC*RT*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
30	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*RmUm	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSROOSSSSnSOSSn
	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
31	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*RfU*SmUm	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSRSOOSSSSnSOSSn
	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
32	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*RfC*SfU*SmUm	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSRSSOOSSSSnSOSSn
	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*RfC*SfC*SfU*SmUm		RORSSSOOSSSSnSOSSn

33	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnRORn
34	mU*SfUn001RmCfA*RfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUm	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSORnROSn
35	mU*RfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUm	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	UfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*RfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSROSnROSn
36	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*RfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSORSOSnROSn
37	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*RmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSROSSOSnROSn
38	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSRSOSSOSnROSn
39	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSOSSn
	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU		R
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSRSSOSSOSnROSn
	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU		ROSSSSOOSSSnSOSSn

40	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
WV-506 41	Mod001L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRRSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 42	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSRn R
WV-501 30	L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnSSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-501 31	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001SmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*S b008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnSOSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-501 32	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001SfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*S b008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn SOSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-501 33	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn S
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSRn

43	Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn R
WV-506 44	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSnSORSn R
WV-506 45	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnROSSn R
WV-506 46	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSRnSOSSn R
WV-506 47	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOORSnSOSSn R
WV-506 48	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*RT* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOORSSnSOSSn R
WV-506 49	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*RmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSROOSSSnSOSSn R
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*RfU*SmUmUfC*ST*	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSRSOOSSSnSOSSn

50	Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSRSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 51	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*RfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSRSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 52	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*SfGn001RfUmC*RfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn RORSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 53	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU n001RmCfA*RfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST* Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnRORn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 54	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*Rf Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSORnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 55	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*RfCmU*Sf Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSROSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506 56	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*RfG*SfCmU*Sf Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSORSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn R
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*RmCmA*SfG*SfCmU*Sf Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSROSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn

57	*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	R
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*SmCmA*SfG*SfCmU*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSRSOSSOSnROSn
58	Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSSnSOSSn R
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSRSSOSSOSnROSn
59	Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSSnSOSSn R
WV-506	L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRRSSSOSSOSnROSn
60	Un001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST *Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTUIUCGAU	ROSSSSOOSSSSnSOSSn R
WV-509	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn
11	mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	ROSSSSOOSSSSnSOSSn R
WV-509	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*S	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn
12	mUfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RmUm UfC*ST*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTAIUCGAU	ROSSSnROOSSSSnSOSS nR
WV-509	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn
13	C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTAIUCGAU	ROSSOnROOSSSSnSOSS nR
WV-509	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00	CCCAGCAGCTTCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSSnSOSS

14	1RTeoTeofC*ST*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUTTCTAIUCGAU	nR
WV-507 57	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSOSS nS
WV-507 58	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001Rm U	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSOSR nR
WV-507 59	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSORS nR
WV-507 60	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnROSS nR
WV-507 61	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSRnSOSS nR
WV-507	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00	CCCAGCAGCTUCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSRSnSOSS

62	1RTeoTeofC*ST*Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCUTTCTUIUCGAU	nR
WV-507 63	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*RT*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROORSSnSOSS nR
WV-507 64	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1STeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnSOOSSSnSOSS nR
WV-507 65	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*RfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSRnROOSSSnSOSS nR
WV-507 66	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*RfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSRSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 67	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*RfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn RORSSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 68	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001SfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001 RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn SOSSSnROOSSSnSOSS nR

WV-507 69	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*RfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROR nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 70	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001SmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001 RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnSOSn ROSSSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 71	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*RTeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSROnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 72	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Rf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOORSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 73	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Rm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSROOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 74	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSRSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 75	Mod001L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSRSSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR

WV-507 76	Mod001L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRRSSSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 77	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnSSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 78	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSOSS nS
WV-507 79	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSOSR nR
WV-507 80	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnSORS nR
WV-507 81	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSnROSS nR
WV-507 82	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSRnSOSS nR

WV-507 83	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSRSnSOSS nR
WV-507 84	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*RT*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROORSSnSOSS nR
WV-507 85	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001STeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnSOOSSSnSOSS nR
WV-507 86	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*RfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSRnROOSSSnSOSS nR
WV-507 87	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*RfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSRSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 88	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*RfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn RORSSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 89	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001SfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn SOSSSnROOSSSnSOSS nR

WV-507 90	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*RfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROR nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 91	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001SmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnSOSn ROSSSnROOSSSnSOSS nR
WV-507 92	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*RTeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSROnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 93	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*RfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOORSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 94	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Rm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSROOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 95	L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSRSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR
WV-507 96	L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRSRSSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSnSOS SnR

WV-507 97	L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnRRSSSOOSSOnROS nROSSSnROOSSSSnSOS SnR
WV-507 98	L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeof Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTCAGU CCCUTTCTUIUCGAU	OnSSSSSOOSSOnROSn ROSSSnROOSSSSnSOSS nR
WV-506 77	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSSnSOSS nS
WV-506 78	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001Rm U	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSSnSOS RnR
WV-506 79	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSSnSOR SnR
WV-506 80	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSSSnROS SnR
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn

81	C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU	ROSSOnROOSSRnSOSSnR
WV-506 82	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOSRSnSOSSnR
WV-506 83	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTeofC*RT*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnROOORSSnSOSSnR
WV-506 84	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001SmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSSOnSOOSSSnSOSSSnR
WV-506 85	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*RmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnROSRORnROOSSSSnSOSSnR
WV-506 86	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*RfC*SmCmUn001RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSnRORSOnROOSSSSnSOSSnR

WV-506 87	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001SfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn SOSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-506 88	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*RfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn0 01RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROR nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-506 89	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001SmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnSOSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-506 90	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*RmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn0 01RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSROnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-506 91	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Rf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOORSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-506 92	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Rm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00 1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUTCTUIUCGAU	OnRSSSROOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSRSOOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS

93	1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU		SnR
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRSRSSOOSSOnROS
94	C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00	CCCUUTCTUIUCGAU		nROSSOnROOSSSnSOS
	1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU			SnR
WV-506	Mod001L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRRSSSOOSSOnROS
95	C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00	CCCUUTCTUIUCGAU		nROSSOnROOSSSnSOS
	1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU			SnR
WV-506	Mod001L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf	CCCAGCAGCUUCAGU		OnSSSSSOOSSOnROSn
96	C*SmUmUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn00	CCCUUTCTUIUCGAU		ROSSOnROOSSSnSOSS
	1RmUTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU			nR
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRSSSSOOSSOnROSn
97	mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT	CCCUUTCTUIUCGAU		ROSSOnROOSSSnSOSS
	eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001SmU			nS
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRSSSSOOSSOnROSn
98	mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT	CCCUUTCTUIUCGAU		ROSSOnROOSSSnSOS
	eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*RmAn001RmU			RnR
WV-506	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRSSSSOOSSOnROSn
99	mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT	CCCUUTCTUIUCGAU		ROSSOnROOSSSnSOR
	eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*RmG*SmAn001RmU			SnR
WV-507	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU	CCCAGCAGCUUCAGU		OnRSSSSOOSSOnROSn
	mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT			ROSSOnROOSSSnROS

00	eofC*ST*Sb008U*SIn001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU	SnR
WV-507 01	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*RIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSSRnSOS SnR
WV-507 02	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Rb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROOSRSnSOS SnR
WV-507 03	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*RT*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnROORSSnSOS SnR
WV-507 04	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001SmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSOnSOOSSSnSOSS nR
WV-507 05	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*RmCmUn001RmU TeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSROnROOSSSnSOS SnR
WV-507 06	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*RfC*SmCmUn001RmU TeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn RORSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001SfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOOSSOnROSn SOSSOnROOSSSnSOSS

07	eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU	nR
WV-507 08	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*RfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmU TeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROR nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507 09	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001SmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnSOSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-507 10	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*RmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSROnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507 11	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*RfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOORSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507 12	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Rm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSROOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507 13	L001mCn001RmC*SmC*SfA*RfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRSSRSOOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507	L001mCn001RmC*SmC*RfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSRSSOOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS

14	eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUTCTUIUCGAU	SnR
WV-507 15	L001mCn001RmC*RmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmU mUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUT eofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnRRSSSOOSSOnROS nROSSOnROOSSSnSOS SnR
WV-507 16	L001mCn001SmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUm Un001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUTe ofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUTCTUIUCGAU	OnSSSSSOOSSSOnROSn ROSSOnROOSSSnSOSS nR
WV-509 19	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*S b008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-509 20	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*ST*Sb008U*SIn001SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUICGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSSSnR
WV-509 21	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUfC* ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOSSSnSOSSnR
WV-509 22	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU fC*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSnSOSSnR
WV-509	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmU	CCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSOOSSSnSOSSn

23	fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmAn001Rm U	CCCUUUCTUIUCGAAU	RnR
WV-509 24	Mod001L001mCn001RmCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA *SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*Sf U*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001Rm U	CCCCAGGCAGCUUCAG UCCCUUUCTUIUCGAU	OnRnRSSSSOSSOSnRO SnROSSSSOOSSSSnSOS SnR
WV-509 25	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfC mU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SmC*SfC*SfC*SfU*S mUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSn ROSSSSSOOSSSSnSOSS nR
WV-509 26	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*Sf G*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*S mUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCCAGCAGCUUCAG UCCCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSSOSSOSnROS nROSSSSOOSSSSnSOSS nR
WV-509 27	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfG*SfCmU*S fUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*S T*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-509 28	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAUCC CUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROS OSSSnROOSSSnSOSSn R
WV-509 29	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*STeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSOOSSSnSOSSnR

WV-509 30	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeomCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn001RTeoTeo fC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOOSnR OSSSnROOSSSnSOSSn R
WV-509 31	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC*SfUn00 1RfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmA n001RmU	CCCAGCAGCTUCAGU CCCUUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn ROSSSnRnROOSSSnSO SSnR
WV-509 32	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RfUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC *SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn 001RmU	CCCAGCAGCTUUCAG UCCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnRnR OSnROSSSnROOSSSnS OSSnR
WV-509 33	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sf C*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfC *SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn 001RmU	CCCAGCAGCTUCAGG UCCCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSSOnROSn RnROSSSnROOSSSnSO SSnR
WV-509 34	Mod001L001mCn001RmCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5Ceo AeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*Sf C*SfUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*Sm An001RmU	CCCCAGCAGCTUCAG UCCCUTTCTUIUCGAU	OnRnRSSSSOOSSOnR OSnROSSSnROOSSSnS OSSnR
WV-511 23	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SAn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 24	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SA*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 25	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SA*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 26	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*STn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 27	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*ST*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 28	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*ST*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 29	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 30	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SC*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR

WV-511 31	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SC*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 32	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SGn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 33	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SG*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 34	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SG*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSn
WV-373 17	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SAn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-423 40	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-423 48	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SGn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 23	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SAn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 24	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SA*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 25	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SA*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 26	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*STn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 27	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*ST*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 28	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*ST*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 29	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 30	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SC*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 31	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SC*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 32	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SGn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 33	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SG*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 34	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SG*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSSnR
WV-511 35	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb008Un001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 36	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb008Un001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 37	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb003U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 38	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb003U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 39	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb004U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 40	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb004U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 41	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb005U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 42	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb005U*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 43	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb009Un001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 44	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb009Un001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 45	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb010U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 46	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb010U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 47	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb011U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 48	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb011U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 49	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb012U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 50	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb012U*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-511 51	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb001Cn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 52	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb001Cn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 53	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb002C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 54	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb002C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 55	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb003C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 56	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb003C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 57	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb004C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-511 58	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb004C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 59	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb005C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 60	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb005C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 61	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb006C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 62	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb006C*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 63	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb007C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 64	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb007C*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-511 65	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb008Cn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 66	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb008Cn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 67	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCsm17*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnR
WV-511 68	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCsm17*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnR
WV-511 69	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCsm15*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnR
WV-511 70	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCsm15*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnR
WV-511 71	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb001An001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 72	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb001An001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 73	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb003A*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSnR
WV-511 74	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb003A*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSnR
WV-511 75	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb004An001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 76	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb004An001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 77	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb006An001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-511 78	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb006An001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

WV-511 79	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb007An001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 80	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb007An001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 81	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb002I*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCIUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 82	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb002I*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUIUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSXSSnR
WV-511 83	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb003In001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCIUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 84	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb003In001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUIUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnXSSnR
WV-511 85	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb004I*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCIUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-511 86	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb004I*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUIUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 87	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb001G*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 88	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb001G*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 89	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb002G*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 90	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb002G*mU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSXSSnR
WV-511 91	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 92	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-511 93	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 94	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SCsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 95	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb009Csm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 96	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb009Csm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 97	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*Sb009Csm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 98	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*Sb009Csm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUCUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-511 99	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SGsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-512 00	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SGsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 01	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SGsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 02	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SGsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUGUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 03	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*STsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCTUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 04	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*STsm11*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 05	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*STsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCTUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR
WV-512 06	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*STsm12*SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUTUCAC	nRSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSSSnR

WV-512 07	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SL010n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-512 08	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*Sb008U*SL010n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCUUCAC	nRSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

表 1Q. 示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-436 95	fCn001RfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU* SfC*SfA*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfU*SC*SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUUCAG UCCCUUUCUCGUCGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnRSSnR
WV-420 27	fCn001RfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU* SfC*SfA*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfU*SC*SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUUCAG UCCCUUUCUCIUCGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV-445 15	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb00 8U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnR OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-473	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001 RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SC*S	CCCAGCAGCUUCAGU	nRSSSSOSSOSnROSnR

64	In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCUUUCTCIUCGAU	OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-37317	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SAn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-42340	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SCn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCCCUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR
WV-42348	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*S fC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU *SmG*SfC*SC*SGn001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAAUUUACACGAA AGCAAUGCCGUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSnRSn RSSSSSSSSSnRSSnR

表 1R. 靶向 CTLA4 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-50897	mAn001RmA*SmA*SfC*SfG*SfA*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*S fA*SfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfA*SfU*ST *Sb008U*SAn001RmAfU*SmUn001RmA	AAACGACCACCACAG AUUUUUAUTUAAUUA	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR
WV-50898	mCn001RmG*SmG*SfA*SfA*SfA*SfC*SfG*SfA*SfC* SfC*SfA*SfC*SfC*SfA*SfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfU*S T*Sb008U*SAn001RmUfU*SmUn001RmA	CGGAAAACGACCACC ACAGAUUUTUAUUUA	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR

WV-50855	mGn001RmG*SmC*SfU*SfA*SfU*SfA*SfA*SfA*SfC*SfG*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA*SfU*SfA*SfC*SfG*SfU*SfA*SfA*SA*Sb008U*SAn001RmUfA*SmAn001RmG	GGCUAUAAACGUCUCAUACGUAAAUAUAAG	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-50910	mGn001RmU*SmC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfA*SfA*SA*Sb008U*STn001RmGfU*SmAn001RmG	GUCUUUCUACUCCUUUGCUUUAAAUTGUAG	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR

表 1S. 靶向 LDLR 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-49979	mCn001RmA*SmA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfG*SfG*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfA*SfA*SA*Sb008U*SAn001RmGfA*SmU*SmUn001RmU	CAACCAGGGUUUGCAAAAAUAAAUAGAUU U	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-49980	mGn001RmC*SmA*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfG*SfG*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*SfA*SfA*Sb008U*SAn001RmGfA*SmUn001RmU	GCAACCAGGGUUUGCAAAAAUAAAUAGAU U	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-49	mAn001RmC*SmA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfG*SfG*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SA*Sb	ACAGCAACCAGGGUUUGCAAAAAUAAAUA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS

981	008U*SAn001RmAfA*SmU*SmAn001RmG	G	SSSSSSSnROSSnR
WV-49 982	mUn001RmA*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfC*SfC*SfA*S fG*SfG*SfG*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SA *Sb008U*SAn001RmAfA*SmUn001RmA	UACAGGCAACCAGGG UUUGCAAAAAUAAAU A	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR

表 1T. 靶向 FGF21 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-50 872	mAn001RmA*SmA*SfU*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfA*SfA*S fA*SfU*SfA*SfA*SfC*SfC*SfU*SfA*SfA*SfU*SfA*SfA*SA *Sb008U*SAn001RmAfA*SmGn001RmA	AAAUAAGAUAAAUAA CCUAAUAAAUAAAGA	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR
WV-50 873	mAn001RmA*SmG*SfU*SfA*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfA* SfA*SfU*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfA*SfA*S A*Sb008U*SAn001RmAfG*SmAn001RmU	AAGUAAGAAAAAUAA AAAAAUAAAUAAGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR
WV-50 874	mAn001RmA*SmG*SfU*SfA*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfA* SfA*SfU*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfA*SfA*S A*Sb008U*SAn001RmAfG*SmAn001RmU	AAGUAAGAAAAAUAA AAAAAUAAAUAAGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnROSnR

表 1U. 靶向 Klotho 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-50905	mUn001RmA*SmC*SfU*SfA*SfC*SfU*SfU*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfA*SA*Sb008U*STn001RmUfA*SmGn001RmA	UACUACUUCCAGAAAAACAUUAAAUTUAGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-50907	mAn001RmA*SmG*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SfA*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*SfA*SfG*SfG*SfC*SfA*SfG*SfA*SfU*ST*Sb008U*SAn001RmUfU*SmAn001RmU	AAGGCAAAAAGUUGCAGGCAGAUTUAUUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-50908	mGn001RmG*SmU*SfU*SfC*SfU*SfG*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfG*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*ST*Sb008U*SAn001RmUfU*SmUn001RmU	GGUUCUGAGAUUAUAGAUAAUUUTUAUUU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR
WV-50909	mAn001RmC*SmU*SfU*SfG*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfA*SfG*SfC*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfU*SfU*ST*Sb008U*SAn001RmAfU*SmAn001RmA	ACUUGAUUCUCUAGCAUCCAAUUTUAAUAA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnROSnR

表 1V. 示例寡核苷酸和/或组合物

ID	描述	碱基序列
ADR-01	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[	AUCCACUGU

02055	Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C|Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02436	[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04956	[fl2r]A[n001R]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04955	[fl2r]A[n001R]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C|Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04953	[fl2r]A[n001R]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C|Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04952	[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]U[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]G[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]A[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]|[fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU

	]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	GUU
ADR-01 04951	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04950	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04949	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02437	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04977	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[	AUCCACUGU

04975	Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]C|n001R|[fl2r]C|Ssp]m C|Ssp]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|n00 1R]mU|Ssp]mG|Ssp]mU|Ssp]mU	GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04974	[fl2r]A|n001R]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G| Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|n001R]|[fl2r]C|Ssp]m C|n001R]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA| Ssp]mU|Ssp]mG|Ssp]mU|Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04957	[fl2r]A|n001R]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G| Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]mC|n 001R]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|Ssp] mU|Ssp]mG|Ssp]mU|n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04973	[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ss p]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]mC|Ssp]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|n001R]m U|Ssp]mG|Ssp]mU|n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04972	[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ss p]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]mC|n00 1R]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|Ssp]m U|Ssp]mG|Ssp]mU|n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04971	[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ss p]|[fl2r]U|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]G|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]A|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]|[fl2r]C|Ssp]mC|n00 1R]mA|Ssp]mG|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp|[fl2r]C|Ssp]dC|Ssp]dA|n001R	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU

	]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	GUU
ADR-01 04970	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04969	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04968	[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04967	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04966	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01	[fl2r]A[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[	AUCCACUGU

04965	Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|mC|n001R|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04963	[fl2r|A|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|mC|Ssp|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|n001R|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04962	[fl2r|A|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|mC|Ssp|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|n001R|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04961	[fl2r|A|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|mC|n001R|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04960	[fl2r|A|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|n001R|fl2r|C|Ssp|mC|Ssp|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04959	[fl2r|A|n001R|fl2r|U|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|U|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|G|Ssp|fl2r|A|Ssp|fl2r|C|Ssp|fl2r|C|Ssp|mC|Ssp|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|m	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU

	U|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	GUU
ADR-01 02041	[fl2r|A|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|C|Ssp|mC|Ssp|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|[fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02057	[fl2r|A|sp|][fl2r|U|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|U|sp|][fl2r|G|sp|][fl2r|U|s p|][fl2r|G|sp|][fl2r|G|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|C|sp|mC|sp|mA|sp|mG|sp|mA|s p|mU|sp|mU|sp|mA|sp|mU|sp|][fl2r|C|sp|dC|sp|dA|sp|mU|sp|mG|sp|mU|sp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 04979	[fl2r|A|n001|][fl2r|U|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|U|sp|][fl2r|G|sp|][fl2r| U|sp|][fl2r|G|sp|][fl2r|G|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|C|n001|][fl2r|C|sp|mC|n001|mA|sp|mG| sp|mA|sp|mU|sp|mU|sp|mA|sp|mU|sp|][fl2r|C|sp|dC|sp|dA|n001|mU|sp|mG|sp|mU|n001|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02041	[fl2r|A|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G|Ss p|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|C|Ssp|mC|Ssp |mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|[fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA|Ssp|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|Ssp|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02055	[fl2r|A|n001R|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G| Ssp|][fl2r|U|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|G|Ssp|][fl2r|C|Ssp|][fl2r|A|Ssp|][fl2r|C|n001R|][fl2r|C|Ssp|m C|n001R|mA|Ssp|mG|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|mU|Ssp|mA|Ssp|mU|Ssp|[fl2r|C|Ssp|dC|Ssp|dA| n001R|mU|Ssp|mG|Ssp|mU|n001R|mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01	[fl2r|A|sp|][fl2r|C|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|U|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|A|sp|][fl2r|U|sp|][fl2r|U|s	ACAUAAUUU

01530	p|fl2r|A|sp|fl2r|C|sp|fl2r|A|sp|fl2r|C|sp|fl2r|G|sp|fl2r|A|sp|mA|sp|mG|sp|mC|sp|mA|sp|mU|sp|mG|sp|fl2r|C|sp|dC|sp|dA|sp|mU|sp|mC|sp|mA|sp|mC	ACACGAAAG CAAUGCCAU CAC
ADR-01 01527	[fl2r|A|n001|[fl2r|C|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|G|n001|[fl2r|A|sp|mA|n001|mA|sp|mG|sp|mC|sp|mA|sp|mU|sp|mG|sp|[fl2r|C|sp|dC|sp|dA|n001|mU|sp|mC|sp|mA|n001|mC	ACAUAAUUU ACACGAAAG CAAUGCCAU CAC
ADR-01 01204	[fl2r|A|Ssp|[fl2r|C|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|U|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|U|Ssp|[fl2r|U|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|C|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|G|Ssp|[fl2r|A|Ssp|mA|Ssp]mA|Ssp]mG|Ssp]mC|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mG|Ssp|[fl2r|C|Ssp]dC|Ssp]dA|Ssp]mU|Ssp]mC|Ssp]mA|Ssp]mC	ACAUAAUUU ACACGAAAG CAAUGCCAU CAC
ADR-01 01520	[fl2r|A|n001R]|fl2r|C|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|U|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|C|Ssp|[fl2r|A|Ssp|[fl2r|C|Ssp|[fl2r|G|n001R]|fl2r|A|Ssp]mA|Ssp]n001R]mA|Ssp]mG|Ssp]mC|Ssp]mA|Ssp]mU|Ssp]mG|Ssp|[fl2r|C|Ssp]dC|Ssp]dA|n001R]mU|Ssp]mC|Ssp]mA|n001R]mC	ACAUAAUUU ACACGAAAG CAAUGCCAU CAC
ADR-01 02038	[fl2r|U|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|p|[fl2r|C|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|mA|sp|mG|sp|mA|sp|mU|sp|p|mA|sp|mU|sp|mG|sp|mU|sp|[fl2r|C|sp|dC|sp|dA|sp|mC|sp|mA|sp|mG|sp|mA	UUAAUCCAU CUCUUCAGA UAUGUCCAC AGA
ADR-01 04978	[fl2r|U|n001|[fl2r|U|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|A|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|C|sp|[fl2r|U|sp|[fl2r|U|n001|[fl2r|C|sp|mA|n001|mG|sp|mA|sp|mU|sp|mA|sp|mU|sp|mG|sp|mU|sp|[fl2r|C|sp|dC|sp|dA|n001|mC|sp|mA|sp|mG|n001|m	UUAAUCCAU CUCUUCAGA UAUGUCCAC

	A	AGA
ADR-01 02036	[fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[Ssp]mA	UUAAUCCAU CUCUUCAGA UAUGUCCAC AGA
ADR-01 02037	[fl2r]U[n001R][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[n001R][fl2r]C[Ssp]mA[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mA[Ssp]mU[Ssp]mG[Ssp]mU[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mC[Ssp]mA[Ssp]mG[n001R]mA	UUAAUCCAU CUCUUCAGA UAUGUCCAC AGA
ADR-01 05051	mA[Ssp]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mU[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]mUp[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[Ssp]mUp[fl2r]G[Ssp]mU[Ssp]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 02506	mA[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mUp[fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]A[Ssp][fl2r]Cp[fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]mUp[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGU GGCACCCAG AUUAUCCAU GUU
ADR-01 06361	GalNAc3C12oyInC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][3nU]	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA

	r]A[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAGUG
ADR-01 06362	GalNAc3C12oylnC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp]||fl2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2 r]A[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA[3nU] AAGUG
ADR-01 06363	GalNAc3C12oylnC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]G[Ssp]mAp[fl 2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]U[n001R]||fl2r]A|Ssp][fl2r]Cp[fl2r]C[n001 R][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp]||fl2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]A[Ssp]mUp[fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]dA [Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA[3nU] AAGUG
ADR-01 06365	GalNAc3C12oylnC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]G[Ssp]mAp[fl 2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]U[n001R]||fl2r]A|Ssp][fl2r]C[n001R]||fl2r]C [Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]G[Ssp]||fl2r]U|Ssp][fl2r]A|Ssp]||fl2r]A|Ssp]mUp|fl2r]A|Ssp]||fl2r]A|Ssp] dA[Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA[3nU] AAGUG
ADR-01 06368	GalNAc3C12oylnC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU|Ssp][fl2r]A[Ssp]||fl2r]G[Ssp]mAp[fl 2r]U|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[n001R]||fl2r]A[Ssp]||fl2r]U[n001R]||fl2r]A|Ssp][fl2r]Cp[fl2r]C|n0 01R]||fl2r]C[n001R]||fl2r]G[Ssp]||fl2r]U|Ssp]||fl2r]A|Ssp][fl2r]A|Ssp]mUp|fl2r]A|Ssp]||fl2r]A|Ss p]dA|Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mAp|fl2r]G|Ssp]mU|n001R]mG	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA[3nU] AAGUG
ADR-01 06370	GalNAc3C12oylnC6opmA[n001R]mA[Ssp]mU|Ssp][fl2r]A|Ssp]||fl2r]G|Ssp]||fl2r]A [Ssp]||fl2r]U|Ssp]||fl2r]A[Ssp][fl2r]A[n001R]||fl2r]A[Ssp]||fl2r]U[n001R]||fl2r]A|Ssp]||fl2r]C|Ssp]||fl2r]C[n001R]||fl2r]C[n001R]||fl2r]G|Ssp]||fl2r]U|Ssp]||fl2r]A|Ssp]||fl2r]U|Ssp]||fl2 r]A|Ssp]||fl2r]A|Ssp]dA|Ssp]d[3nU]||Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]G|Ssp]mU|n001R]mG	AAUAAGAUA AAUACCCGU AAUAAA[3nU] AAGUG

表 1W. 示例寡核苷酸和/或组合物

ID	描述	碱基序列
ADR-0106 955	mA[n001R]mU[Ssp]mU[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dC[Ssp]dC[Ssp]dC [n001R]mCp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mG	AUUGUAGAAA CUAGCAUAGA UAUCCCCAUG
ADR-0106 956	mA[n001R]mU[Ssp]mU[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dC[Ssp]d[3nU]]Ss p]dC[n001R]mCp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mG	AUUGUAGAAA CUAGCAUAGA UAUC[3nU]CC AUG
ADR-0106 957	mA[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dA [n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mA	AAGCCAGAAU UGUAGAAACU AGCACAGAUA
ADR-0106 958	mA[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]]Ss p]dA[n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mA	AAGCCAGAAU UGUAGAAACU AGCA[3nU]AG AUA
ADR-0106 959	mA[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]dC[Ssp]dA	AAGGUAUCGA GCAAGCCAGA AUUGCAGAAA

	[n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mA	
ADR-0106 960	mA[n001R]mA[Ssp]mG[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]d[3nU]]Ss p]dA[n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mA	AAGGUAUCGA GCAAGCCAGA AUUG[3nU]AG AAA
ADR-0106 961	mU[n001R]mC[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dC [n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mG[n001R]mC	UCUUUGCCUU CUUCUAUAAA GGUACCGAGC
ADR-0106 962	mU[n001R]mC[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]]Ss p]dC[n001R]mGp[fl2r]A[Ssp]mG[n001R]mC	UCUUUGCCUU CUUCUAUAAA GGUA[3nU]CG AGC
ADR-0106 965	mA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp]dT [n001R]mGp[fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mU	AUGUUAGACA CAAAAAUAUA CUCTCTGCCU
ADR-0106 966	mA[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp]dT[Ssp]d[3nU]]Ssp]dT[n001R]mGp[fl2r]C[Ssp]mC[n001R]mU	AUGUUAGACA CAAAAAUAUA CUCT[3nU]TGC CU
ADR-0106	mA[n001R]mC[Ssp]mU[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A	ACUGUGGCAC

967	[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]dC[Ssp]dT[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mA[n001R]mC	CCAGAUUAUC UAUGCTAGAC
ADR-0106 968	mA[n001R]mC[Ssp]mU[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]d[3nU]]Ssp]dT[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mA[n001R]mC	ACUGUGGCAC CCAGAUUAUC UAUG[3nU]TAG AC
ADR-0106 969	mA[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dC[n001R]mUp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mG	AGAUCCACUG UGGCACCCAG AUUACCUAUG
ADR-0106 970	mA[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]]Ssp]dC[n001R]mUp[fl2r]A[Ssp]mU[n001R]mG	AGAUCCACUG UGGCACCCAG AUUA[3nU]CU AUG
ADR-0106 971	mA[n001R]mA[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mA	AAAGAUCCAC UGUGGCACCC AGATCAUCUA
ADR-0106 972	mA[n001R]mA[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp]dT[Ssp]d[3nU]]Ssp]dT[n001R]mAp[fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mC	AAAGAUCCAC UGUGGCACCC AGAT[3nU]AUC

	p]dA[n001R]mUp[fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mA	UA
ADR-0106 973	mU[n001R]mA[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dT[n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mC[n001R]mU	UAAAGAUCCACUGUGGCACCCAGACTAUCU
ADR-0106 974	mU[n001R]mA[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]||Ssp]dT[n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mC[n001R]mU	UAAAGAUCCACUGUGGCACCCAGA[3nU]TAUCU
ADR-0106 975	mG[n001R]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]dC[Ssp]dG[n001R]mGp[fl2r]C[Ssp]mA[n001R]mC	GAUUAAGAAUAUAAAGAUCCACUGCGGCAC
ADR-0106 976	mG[n001R]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]d[3nU]||Ssp]dG[n001R]mGp[fl2r]C[Ssp]mA[n001R]mC	GAUUAAGAAUAUAAAGAUCCACUG[3nU]GGCAC
ADR-0106 977	mG[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]dC[Ssp]dG[n001R]mUp[fl2r]G[Ssp]mG[n001R]mC	GUGAUUAAGAAUAUAAAGAUCCACCGUGGC
ADR-0106	mG[n001R]mU[Ssp]mG[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G	GUGAUUAAGA

978	|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|dC|Ssp]d[3nU]|Ssp]dG[n001R]mUp[fl2r]G|Ssp]mG[n001R]mC	AUAUAAAGAU CCAC[3nU]GU GGC
ADR-0106 979	mU[n001R]mA|Ssp]mC|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]dC|Ssp]dC|Ssp][n001R]mCp[fl2r]U|Ssp]mG[n001R]mG	UACAAUCUUG UUCUCUAACA CGGCCCCUGG
ADR-0106 980	mU[n001R]mA|Ssp]mC|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]dC|Ssp]d[3nU]|Ssp]dC[n001R]mCp[fl2r]U|Ssp]mG[n001R]mG	UACAAUCUUG UUCUCUAACA CGGC[3nU]CC UGG
ADR-0106 981	mG[n001R]mA|Ssp]mA|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]G|Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp][n001R]mUp[fl2r]C|Ssp]mU[n001R]mA	GAAGGUUUCC AGAUACAAUC UUGTCCUCUA
ADR-0106 982	mG[n001R]mA|Ssp]mA|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]G|Ssp]dT[Ssp]d[3nU]|Ssp]dC[n001R]mUp[fl2r]C|Ssp]mU[n001R]mA	GAAGGUUUCC AGAUACAAUC UUGT[3nU]CU CUA
ADR-0106 983	mA[n001R]mU|Ssp]mC|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]G|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]C|Ssp][fl2r]A|Ssp][fl2r]U|Ssp][fl2r]dC|Ssp]dT	AUCCGAAGGU UUCCAGAUAC AAUCCTGUUC

	[n001R]mGp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mC	
ADR-0106 984	mA[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dC[Ssp]d[3nU]]Ss p]dT[n001R]mGp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mC	AUCCGAAGGU UUCCAGAUAC AAUC[3nU]TG UUC
ADR-0106 985	mG[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dC [n001R]mUp[fl2r]U[Ssp]mG[n001R]mU	GGAUCCGAAG GUUUCCAGAU ACAACCUUGU
ADR-0106 986	mG[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]]Ss p]dC[n001R]mUp[fl2r]U[Ssp]mG[n001R]mU	GGAUCCGAAG GUUUCCAGAU ACAA[3nU]CU UGU
ADR-0106 987	mU[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp]dT [n001R]mCp[fl2r]C[Ssp]mA[n001R]mG	UUCAGUGAUC CAGGAUCCGA AGGTCTCCAG
ADR-0106 988	mU[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp]dT[Ssp]d[3nU]]Ss p]dT[n001R]mCp[fl2r]C[Ssp]mA[n001R]mG	UUCAGUGAUC CAGGAUCCGA AGGT[3nU]TC CAG
ADR-0106	mU[n001R]mG[Ssp]mU[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A	UGUAUCUGAA

989	[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]dG[Ssp]dC[Ssp]dG [n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mC[n001R]mC	AGUGCUUAUU UCAGCGAUCC
ADR-0106 990	mU[n001R]mG[Ssp]mU[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp]dG[Ssp]d[3nU]Ss p]dG[n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mC[n001R]mC	UGUAUCUGAA AGUGCUUAUU UCAG[3nU]GA UCC
ADR-0106 991	mA[n001R]mA[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp]dC [n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAAGUGUAUC UGAAAGUGCU UAUTCCAGUG
ADR-0106 992	mA[n001R]mA[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dT[Ssp]d[3nU]Ss p]dC[n001R]mAp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mG	AAAGUGUAUC UGAAAGUGCU UAUT[3nU]CA GUG
ADR-0106 993	mC[n001R]mC[Ssp]mC[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dC[Ssp]d G[n001R]mAp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mG	CCCAUAAUUA GUAGAAAGUG UAUCCGAAAG
ADR-0106 994	mC[n001R]mC[Ssp]mC[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U [Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A [Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]dC[Ssp]d[3nU]Ss p]dG[n001R]mAp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mG	CCCAUAAUUA GUAGAAAGUG UAUC[3nU]GA AAG

ADR-0106995	mU[n001R]mU[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mG	UUAGCCCAUAAUUAGUAGAAAGUGCAUCUG
ADR-0106996	mU[n001R]mU[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp]dG[Ssp]d[3nU]|Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mG	UUAGCCCAUAAUUAGUAGAAAGUG[3nU]AUCUG
ADR-0106997	mU[n001R]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp]dA[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mA	UAUUAUAAGAAACUCUUUAGCCCACAAUUA
ADR-0106998	mU[n001R]mA[Ssp]mU[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]C[Ssp]dA[Ssp]d[3nU]|Ssp]dA[n001R]mAp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mA	UAUUAUAAGAAACUCUUUAGCCCA[3nU]AAUUA
ADR-0106999	mA[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]dC[Ssp]dC[n001R]mUp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mA	AGAGGAUAUUUUAUUAUAAGAAACCCCUUUA
ADR-0107000	mA[n001R]mG[Ssp]mA[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp]dC[Ssp]d[3nU]|Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mU[n001R]mG	AGAGGAUAUUUUAUUAUAAGAAAC[3nU]CU

	p]dC[n001R]mUp[fl2r]U[Ssp]mU[n001R]mA	UUA
ADR-0107001	mU[n001R]mU[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp]dT[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mG	UUAUAAUCUUAGAGGAUAUUUUATCAUAAG
ADR-0107002	mU[n001R]mU[Ssp]mA[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]A[Ssp]dT[Ssp]d[3nU]]Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]A[Ssp]mA[n001R]mG	UUAUAAUCUUAGAGGAUAUUUUAT[3nU]AUAAG

表 1X. 靶向 KEAP1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列
WV-49578	mAn001RmG*SmG*SfU*SfA*SfG*SfC*SfU*SfG*SfA*SfG*SfC*SfG*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfC*SfG*SfA*SfG*SG*Sb008U*SAn001RmGfC*SmCn001RmG	AGGUAGCUGAGCGACUGUCGGAAGUAGCCG
WV-49579	mUn001RmG*SmU*SfU*SfG*SfC*SfC*SfG*SfU*SfC*SfG*SfG*SfC*SfG*SfA*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfC*SC*Sb008U*SIn001RmCfC*SmGn001RmC	UGUUGCCGUCGGGCGAGUUGUUCCUICCGC
WV-49580	mAn001RmG*SmU*SfC*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*SfG*SfU*SfC*SfG*SfU*SfG*SfC*SfG*SfA*SfG*ST*Sb008U*SIn001RmUfU*SmCn001RmC	AGUCGGUGUUGCCGUCGGGCGA

		GTUIUUCC
WV-495 81	mCn001RmU*SmG*SfU*SfC*SfC*SfA*SfG*SfG*SfA*SfA*SfC*SfG*SfU*SfG*SfU*SfG*S fA*SfC*SfC*SfA*SfU*SfC*SA*Sb008U*SAn001RmGfC*SmCn001RmU	CUGUCCAGGAA CGUGUGACCAU CAUAGCCU

表 1Y. 靶向 NRF2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列
WV-495 82	mCn001RmG*SmA*SfC*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SfC*Sf U*SfA*SfU*SfA*SfU*SfC*ST*Sb008U*SGn001RmCfC*SmUn001RmC	CGACUUACUCC AAGAUCUAUAU CTUGCCUC
WV-495 83	mUn001RmC*SmU*SfC*SfG*SfA*SfC*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*Sf A*SfU*SfC*SfU*SfA*SfU*SA*Sb008U*SCn001RmUfU*SmGn001RmC	UCUCGACUUAC UCCAAGAUCUA UAUCUUGC
WV-495 84	mCn001RmU*SmU*SfC*SfU*SfC*SfG*SfA*SfC*SfU*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfC*SfA*Sf A*SfG*SfA*SfU*SfC*SfU*SA*Sb008U*SAn001RmUfC*SmUn001RmU	CUUCUCGACUU ACUCCAAGAUC UAUAUCUU
WV-495 85	mGn001RmG*SmG*SfC*SfU*SfG*SfG*SfC*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfG* SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*ST*Sb008U*SCn001RmAfC*SmC*SmUn001RmG	GGGCUGGCUG AAUUGGGAGAA ATUCACCUG

表 1Z. 示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列
WV-47364	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*Sf C*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SC*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUU CAGUCCCUUUC TCIUCGAU
WV-47347	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*Sf C*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUU CAGUCCCUUUC TAIUCGAU
WV-44515	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*Sf C*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUU CAGUCCCUUUC TUIUCGAU

表 1ZA. 示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列
ADR-01025 06	mA[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mUp[fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]G[Ssp][fl2r]C[n001R][fl2r]A[Ssp][fl2r]Cp[fl2r]C[n001R][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]G[Ssp]||fl2r|A[Ssp][fl2r]U[Ssp]mUp[fl2r]A[Ssp][fl2r]U[Ssp][fl2r]C[Ssp]dC[Ssp]dA[n001R]mUp[fl2r]G[Ssp]mU[n001R]mU	AUCCACUGUGG CACCCAGAUUA UCCAUGUU
ADR-01	mA[n001R]mU[Ssp]mC[Ssp][fl2r]C[Ssp][fl2r]A[Ssp][fl2r]C[Ssp]mUp[fl2r]G[Ssp][fl2r]U[Ss	AUCCACUGUGG

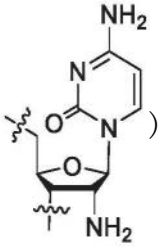
04502	p|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]Cp|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|mUp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]C|Ssp|dC|Ssp|dA[n006R]mUp|[fl2r]G|Ssp|mU[n001R]mU	CACCCAGAUUA UCCAUGUU
ADR-01 04503	mA[n001R]mU|Ssp|mC|Ssp|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]C|Ssp|mUp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]Cp|[fl2r]C[n001R]|[fl2r]C|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]G|Ssp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|mUp|[fl2r]A|Ssp|[fl2r]U|Ssp|[fl2r]C|Ssp|dC|Ssp|dA[n006sp]mUp|[fl2r]G|Ssp|mU[n001R]mU	AUCCACUGUGG CACCCAGAUUA UCCAUGUU

注意事项：

表1(例如,表1A、表1B、表1C等)中的描述、碱基序列和立体化学/键联因其长度而

可能分为多行。除非另有说明,否则表1中的所有寡核苷酸均为单链的。如本领域技术人员所理解的,除非另外指明(例如,用r、m、m5、eo等),否则核苷单元是未经修饰的并且含有未经修饰的核碱基和2′-脱氧糖;除非另外指明,否则键联是天然磷酸酯键联;并且酸性/碱性基团独立地可以盐的形式存在。如果未指定糖,则糖是天然DNA糖;并且如果未指定核苷酸间键联,则核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。天然DNA糖也可以用“d”表示,如dG、dA、dC、dT等中,并且天然磷酸酯键联可以用表1中的“p”表示。

部分和修饰:

a:2’-NH_2(例如aC:);

m:2′-OMe;

m5:C的5位处的甲基(核碱基是5-甲基胞嘧啶);

m5lC:C的5位处的甲基(核碱基是5-甲基胞嘧啶)并且糖是LNA糖;

l:LNA糖;

I:核碱基是次黄嘌呤;

f或[fl2r]:2′-F;

r:2′-OH;

eo:2′-MOE(2′-$OCH_2CH_2OCH_3$);

m5Ceo:5-甲基2′-O-甲氧基乙基C;

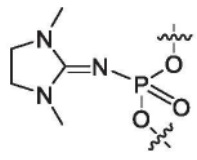
O、PO:磷酸二酯(磷酸酯)。其可以是键联或末端基团(或其组分),例如接头与寡核苷酸链之间的键联、核苷酸间键联(天然磷酸酯键联)等。磷酸二酯典型地在立体化学/键联栏中以“0”表示,典型地在描述栏中没有标记(如果它是末端基团,例如5’末端基团,则在描述栏中指出,并且典型地不在立体化学/键联栏中标记);如果在描述列中未指示键联,则除非另外指明,否则其典型地是磷酸二酯。注意,接头(例如,L001)与寡核苷酸链之间的磷酸酯键联可以不在描述列中标记,但可以在立体化学/键联列中用“0”指示;

＊、PS:硫代磷酸酯。它可以是末端基团(如果其为末端基团,例如5′末端基团,则在描述列中指示而典型地不在立体化学/键联中指示),或键联,例如,接头(例如,L001)与寡核苷酸链之间的键联、核苷酸间键联(硫代磷酸酯核苷酸间键联)等;

R、Rp或[Rsp]:呈Rp构象的硫代磷酸酯。注意,描述中的＊R表示呈Rp构型的单个硫代磷酸酯键联;

S、Sp或[Ssp]:呈Sp构象的硫代磷酸酯。注意,描述中的＊S表示呈Sp构型的单个硫代磷酸酯键联;

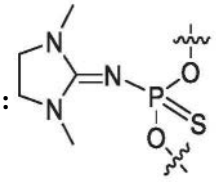
X:立体随机硫代磷酸酯;

n001:;

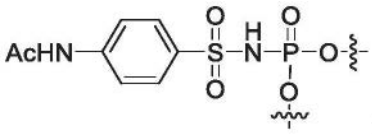
nX(用于n001时):立体随机n001;

nR(用于n001时)或n001R或[n001R]:呈Rp构型的n001;

nS(用于n001时)或n001S或[n001S]:呈Sp构型的n001;

＊n001:;

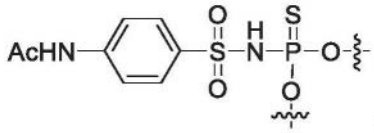
n＊X:立体随机＊n001;

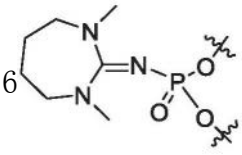
n006:;

nX(用于n006时):立体随机n006;

nR(用于n006时)或n006R:呈Rp构型的n006;

nS(用于n006时)或n006S:呈Sp构型的n006;

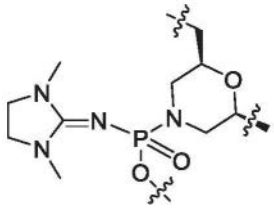
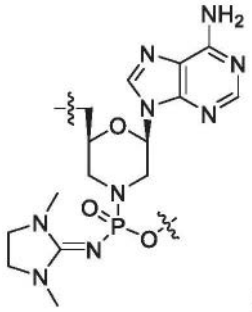
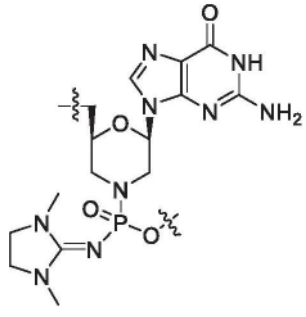
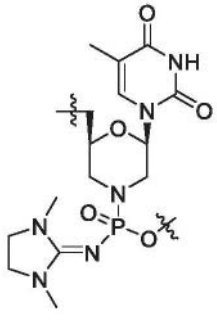
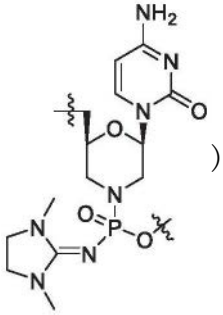
n006sp:;

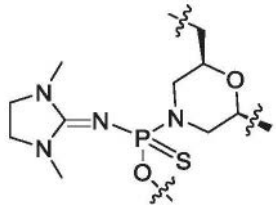
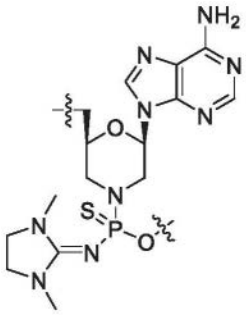
n026;

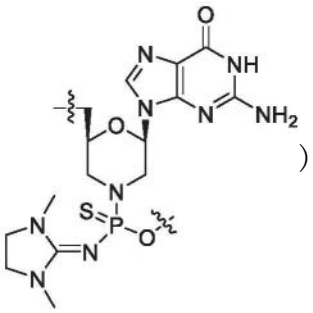
nX(使用时或n026):立体随机n026;

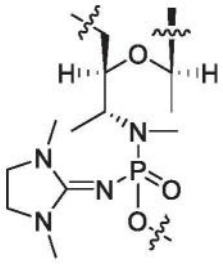
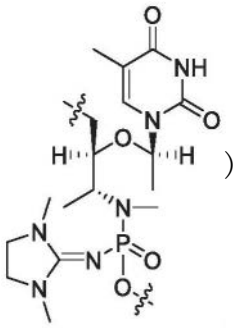
nR(使用时或n026)或n026R:呈Rp构型的n026;

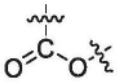
nS(使用时或n026)或n026S:呈Sp构型的n026;

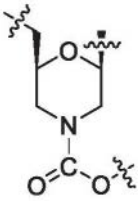
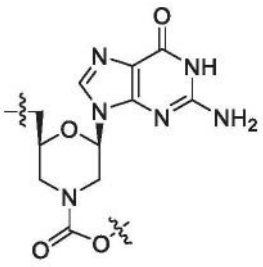
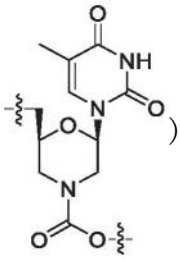
sm01n001:(例如,Asm01n001:Gsm01n001:;Tsm01n001:;Csm01n001:);

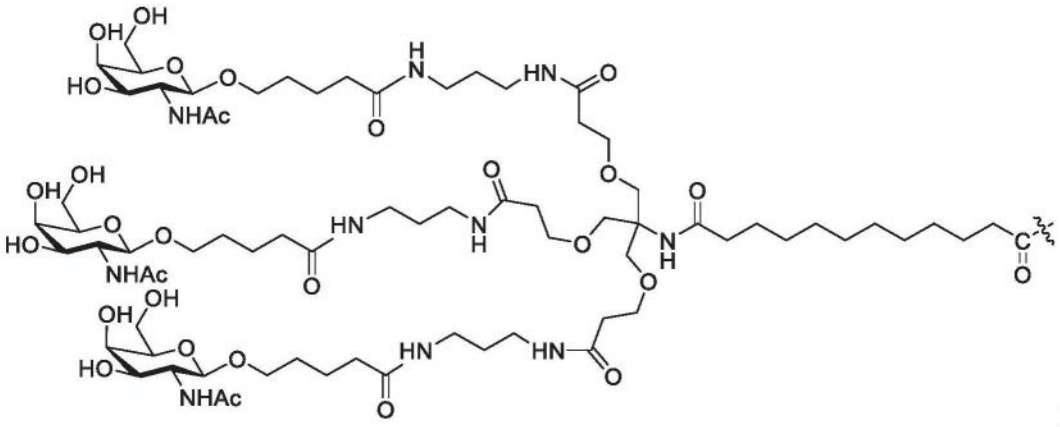
sm01＊n001：（例如，Asm01＊n001：；

Gsm01＊n001：）；

sm18n001：（例如Tsm18n001：）；

n013:n013：，其中-C(O)-与氮键合；如表中所用，n013在立体化学/键联中可以表示为0；

sm01n013：（例如Gsm01n013：Tsm01n013：）；Mod001或GalNAc3C12oyl：

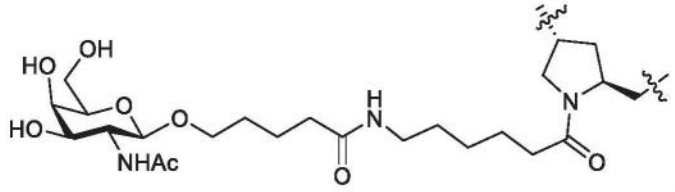


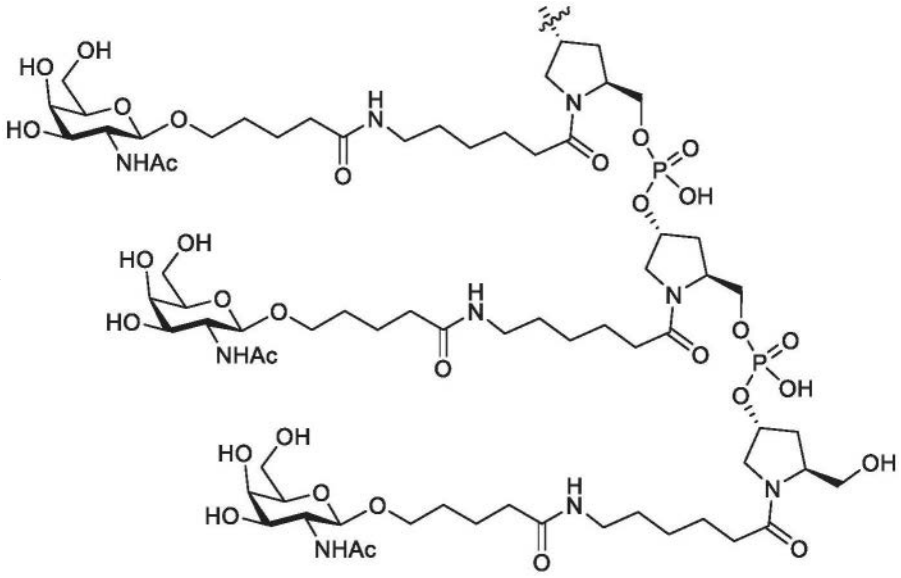
L001或nC6o:-NH-$(CH_2)_6$-接头(C6接头、C6胺接头或C6氨基接头),其通过-NH-(例如,形成酰胺基团-C(O)-NH-)连接到Mod(例如,Mod001),并且在多种情况下,通过磷酸酯键联(O或PO)连接到寡核苷酸链的5′末端。例如,在WV-50603中,L001通过-NH-(形成酰胺基团-C(O)-NH-)连接到Mod001,并且通过磷酸酯键联(O)连接到寡核苷酸链。在Mod不存在的情况下,-NH-键合到-H;

L010:  在一些实施例中,当L010存在于寡核苷酸的中间时,其作为其他糖(例如,DNA糖)与核苷酸间键联键合,例如,其5′-碳与另一单元(例如,糖的3′)连接,并且其3′-碳独立地与另一单元(例如,碳的5′-碳)连接,例如,经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的或是手性控制的(Sp或Rp)));

L012:-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$-。当L012存在于寡核苷酸的中间时,其两个末端各自独立地与核苷酸间键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的或是手性控制的(Sp或Rp)))键合;

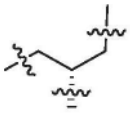
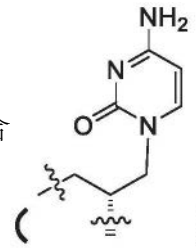
L023:HO-$(CH_2)_6$-,其中CH_2通过磷酸与分子的其余部分连接,除非另有说明。

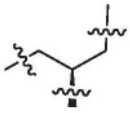
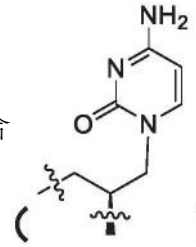
L025:  其中-CH_2-连接位点用作糖(例如,DNA糖)的C5连接位点并连接到另一单元(例如,糖的3′),并且环上的连接位点用作C3连接位点并连接到另一单元(例如,碳的5′-碳),其各自独立地例如经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的或是手性控制的(Sp或Rp)))连接。当L025在5′末端而没有任何修饰时,其-CH_2-连接位点与-OH键合。例如,多种寡核苷酸

中的L025L025L025-具有 

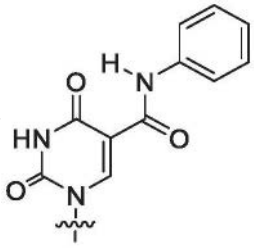
的结构(可以以多种盐形式存在)并且经由所指示的键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的或是手性控制的(Sp或Rp)))连接到寡核苷酸链的5′-碳;

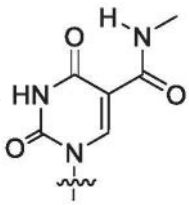
L028:-$CH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2$-。当L028存在于寡核苷酸的中间时,其两个末端各自独立地与核苷酸间键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的或是手性控制的(Sp或Rp)))键合;

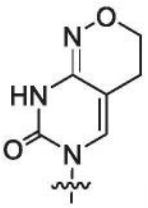
sm11:  sm11在其键合的核碱基之后;例如,在WV-47403中,“Csm11”指示C与sm11键合 ;

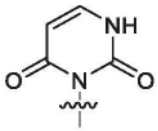
sm12:  sm12在其键合的核碱基之后;例如,在WV-47402中,“Csm12”指示C与sm12键合 ;

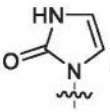
a:2′-NH_2;

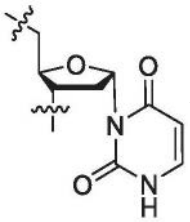
b003U:碱基为的核苷;

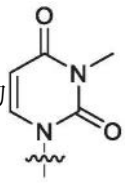
b004U:碱基为的核苷;

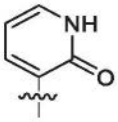
b005U或[dhpU]:碱基为的核苷;

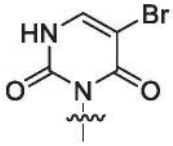
b008U或[3nU]:碱基为的核苷;

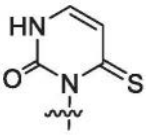
b009U或[im2o]:碱基为的核苷;

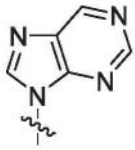
b010U:核苷具有的结构;

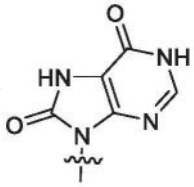
b011U:碱基为的核苷;

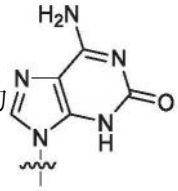
b012U或[o2pyr]:碱基为的核苷;

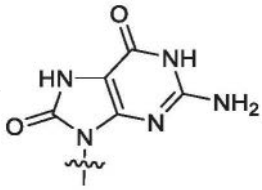
b014U:碱基为的核苷;

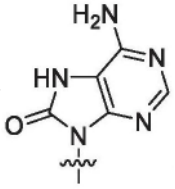
b015U:碱基为的核苷;

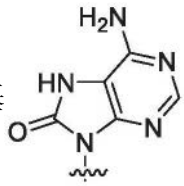
b003I:碱基为的核苷;

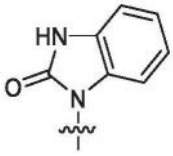
b004I:碱基为的核苷;

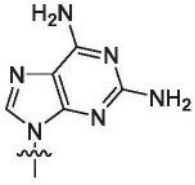
b001G:碱基为的核苷;

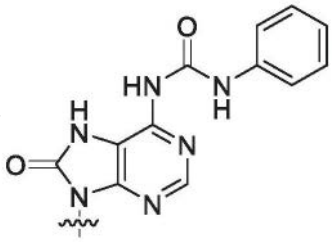
b002G:碱基为的核苷;

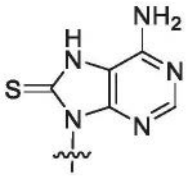
b001A:碱基为的核苷;

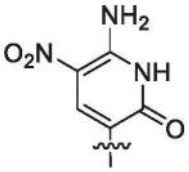
b001rA:碱基为且糖为天然RNA糖(r)的核苷;

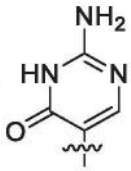
b003A:碱基为的核苷;

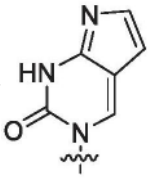
b004A或[n2A]:碱基为的核苷;

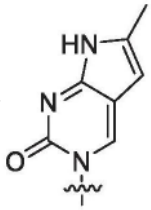
b005A:碱基为的核苷;

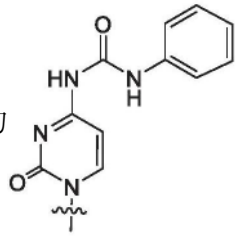
b006A:碱基为的核苷;

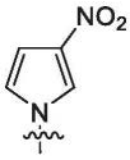
zdnp:碱基为的核苷;

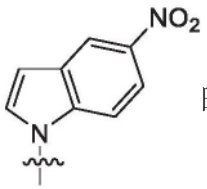
b001C:碱基为的核苷;

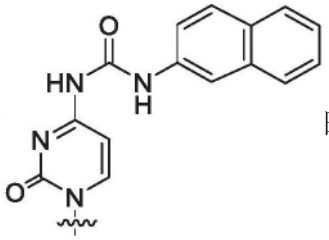
b002C:碱基为的核苷;

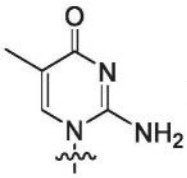
b003C:碱基为的核苷;

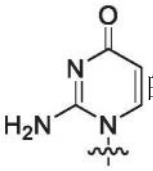
b004C:碱基为的核苷;

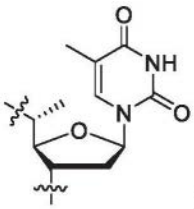
b005C或[no3pyr]:碱基为的核苷;

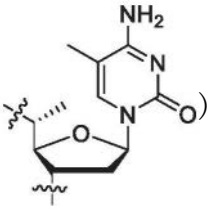
b006C:碱基为的核苷;

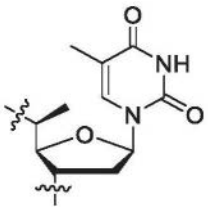
b007C:碱基为  的核苷;

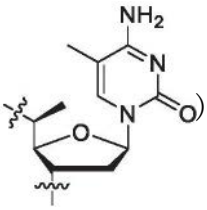
b008C或[mi5C]:碱基为  的核苷;

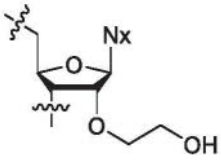
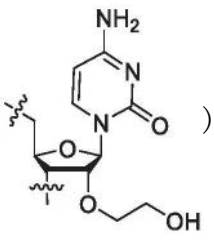
b009C:碱基为 的核苷;

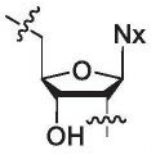
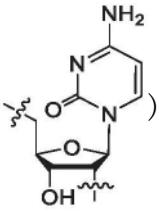
5MR:对糖进行5'-Me修饰,并且糖的5'-碳构型是R(例如,5MRdT ;

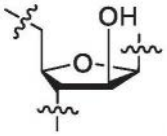
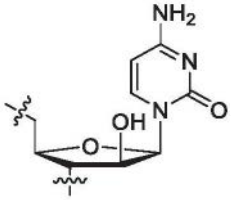
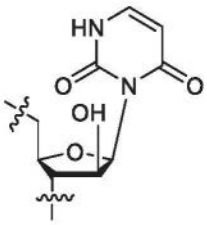
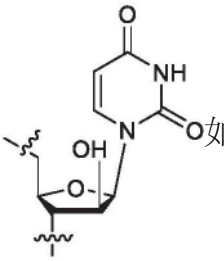
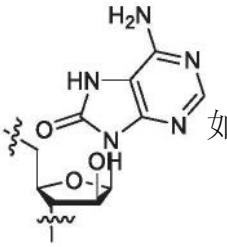
5MRm5dC: );

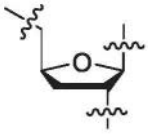
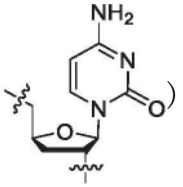
5MS:对糖进行5'-Me修饰,并且糖的5'-碳构型是S(例如,5MSdT: ;

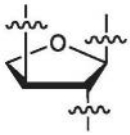
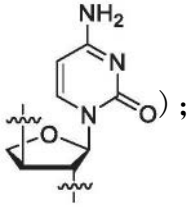
5MSm5dC: );

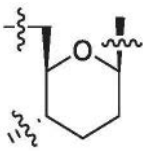
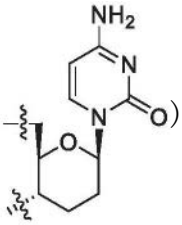
rNxsm13: , 其中Nx是核碱基(例如rCsm13: );

rNxsm14或[25r]：，其中Nx是核碱基(例如rCsm14：)；

sm15或[ar]：。sm15在其键合的核碱基之后，或[ar]在其键合的核碱基之前(例如，Csm15或[ar]C：如在WV-50314中；b008Usm15如在WV-50319中，Usm15如在WV-50315中，b001Asm15如在WV-50313中等)；

sm16：。sm16在其键合的核碱基之后(例如Csm16：)；

sm17：。sm17在其键合的核碱基之后(例如Csm17：)；和

sm19或[thpyr]：。sm19在其键合的核碱基之后，或[thpyr]在其键合的核碱基之前(例如，Csm19或[thpyr]C：)。

在一些实施例中，糖通过氧原子与核苷酸间键联键合，例如天然磷酸酯键联(如典

型的天然DNA分子)中的氧原子。在一些实施例中,糖通过非氧的原子与核苷酸间键联键合。在一些实施例中,糖通过糖的氮原子与核苷酸间键联键合。在一些实施例中,糖通过糖的环氮原子(例如,sm01中)与核苷酸间键联键合;在这样的情况下,糖的环氮原子可以直接与键联磷原子形成键(例如,参见sm01n001),并且本领域技术人员将理解,氧原子可以从键联上除去(例如,参见sm01n001)。例如,还参见sm18,如在表中的寡核苷酸中所示,其可以通过氮原子直接与键联磷键合(例如sm18n001)。用于利用各种修饰的某些试剂(例如,亚磷酰胺、核苷等)和方法(例如,本文表中例示的那些,诸如经修饰的糖、经修饰的核碱基等)描述于实例、WO 2021/071858或WO 2022/099159(其中的每个通过援引并入本文)中。

寡核苷酸组合物

[0618] 尤其是,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了本文所述的寡核苷酸的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含本披露中所述的多个寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸组合物不是手性控制的(立体随机的)。

[0619] 天然磷酸酯键联的键联磷是非手性的。许多修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷是手性的。在一些实施例中,在寡核苷酸组合物的制备期间(例如,在传统的亚磷酰胺寡核苷酸合成中),不有意地设计或控制手性键联磷的构型,从而产生非手性控制(立体随机)的寡核苷酸组合物(基本上是外消旋制备物),其是各种立体异构体的复杂的随机的混合物(非对映异构体)-对于具有n个手性核苷酸间键联(键联磷是手性的)的寡核苷酸,典型地是2n个立体异构体(例如,当n是10时,2^10=1,032;当n是20时,2^20=1,048,576)。这些立体异构体具有相同的构成,但是其键联磷的立体化学模式不同。

[0620] 在一些实施例中,立体随机的寡核苷酸组合物具有足够用于某些目的和/或应用的特性和/或活性。在一些实施例中,与手性控制的寡核苷酸组合物相比,立体随机的寡核苷酸组合物可以更便宜地、更容易地和/或更简单地生产。然而,立体随机组合物中的立体异构体可具有不同的特性、活性和/或毒性,导致特别是与某些相同构成的寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物相比,立体随机组合物的治疗效果不一致和/或非预期的副作用。

[0621] 在一些实施例中,本披露涵盖用于设计和制备手性控制的寡核苷酸组合物的技术。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,例如表1中的在其立体化学/键联中包含S和/或R的许多寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物包含控制/预定(不是如立体随机组合物中那样随机的)水平的多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸在一个或多个手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处共享相同的键联磷立体化学。在一些实施例中,寡核苷酸共享相同的骨架手性中心模式(键联磷的立体化学)。在一些实施例中,骨架手性中心模式如本披露中所述。在一些实施例中,多个寡核苷酸是结构相同的。

[0622] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处

相同的键联磷立体化学。

[0623] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中相对于共享该共同碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0624] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处相同的键联磷立体化学,

其中相对于共享共同碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0625] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

共同骨架手性中心模式,该模式包含至少一个Sp,

其中相对于共享共同碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0626] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

共同骨架手性中心模式,该模式包含至少一个Rp,

其中相对于共享共同碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0627] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

1)共同构成,以及

2)在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或更多个)手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处相同的键联磷立体化学,

其中相对于具有共同构成的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0628] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中每个手性控制的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100%(例如,85%-100%、90%-100%,约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)。

[0629] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处相同的键联磷立体化学,

其中每个手性控制的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100%(例如,85%-100%、90%-100%,约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)。

[0630] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

1)共同构成,以及

2)在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25或更多个)手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处相同的键联磷立体化学,

其中每个手性控制的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100%(例如,85%-100%、90%-100%,约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99-5%)。

[0631] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0632] 在一些实施例中,本披露提供了包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中多个寡核苷酸各自独立地共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中多个寡核苷酸各自的共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0633] 在一些实施例中,本披露提供了组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,这些寡核苷酸具有特定的寡核苷酸类型,其特征在于:

a)共同碱基序列;

b)共同骨架键联模式;

c)共同骨架手性中心模式;

d)共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性控制的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸;并且

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0634] 在一些实施例中,如本文所述,一部分可为约或至少约10-40、15-40、20-40,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个核碱基长。在一些实施例中,一部分为核酸的约或至少约或不超过约1%-50%。在一些实施例中,一部分为核酸的全长。在一些实施例中,共同碱基序列与如本文所述的核酸的一部分的碱基序列互补。在一些实施例中,除了在与靶腺苷相反的核碱基处,它在整个长度上是完全互补的。在一些实施例中,它在整个长度上是完全互补的。在一些实施例中,靶腺苷与病症、障碍或疾病有关。在一些实施例中,靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。在一些实施例中,通过所提供的寡核苷酸或组合物将靶腺苷编辑成I。在一些实施例中,如本文所述,编辑增加转录物或其产物(例如,mRNA、蛋白等)的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,如本文所述,编辑降低转录物或其产物(例如,mRNA、蛋白等)的表达、水平和/或活性。

[0635] 在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核碱基修饰和/或糖修饰。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核苷酸间键联修饰(其中核苷酸间键联可以呈多种酸、碱和/或盐形式)。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核碱基修饰、糖修饰和核苷酸间键联修饰(如果有的话)。在一些实施例中,多个寡核苷酸具有相同的形式,例如酸形式、碱形式或特定盐形式(例如,药学上可接受的盐形式,例如盐形式)。在一些实施例中,组合物中的寡核苷酸能以一种或多种形式存在,例如酸形式、碱形式和/或一种或多种盐形式。在一些实施例中,在水溶液中(例如,当溶解于缓冲液(如PBS)中时),阴离子和阳离子可以解离。在一些实施例中,多个寡核苷酸具有相同的构成。在一些实施例中,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸

组合物,其中这些寡核苷酸具有共同构成,并且在一个或多个(例如,1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个)手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处共享相同的键联磷立体化学,其中该组合物相对于具有共同构成的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该多个寡核苷酸。

[0636] 在一些实施例中,至少一个手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,至少2个核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联的数目为至少3。在一些实施例中,其为至少4。在一些实施例中,其为至少5。在一些实施例中,其为至少6。在一些实施例中,其为至少7。在一些实施例中,其为至少8。在一些实施例中,其为至少9。在一些实施例中,其为至少10。在一些实施例中,其为至少11。在一些实施例中,其为至少12。在一些实施例中,其为至少13。在一些实施例中,其为至少14。在一些实施例中,其为至少15。在一些实施例中,其为至少20。在一些实施例中,其为至少25。在一些实施例中,其为至少30。

[0637] 在一些实施例中,所有核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性控制的。在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性控制的。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性控制的。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,百分比为至少60%。在一些实施例中,百分比为至少70%。在一些实施例中,百分比为至少80%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。

[0638] 在一些实施例中,不超过1-10个,例如不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,不超过1个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,不超过2个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,不超过3个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,不超过4个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,不超过5个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,非手性控制的核苷酸间键联的数目为1。在一些实施例中,其为2。在一些实施例中,其为3。在一些实施例中,其为4。在一些实施例中,其为5。

[0639] 在一些实施例中,本披露提供了包含多种寡核苷酸的组合物,其中该多个寡核苷酸各自独立地是特定的寡核苷酸或其盐。在一些实施例中,本披露提供了包含多种寡核苷酸的组合物,其中该多种寡核苷酸中的每种寡核苷酸独立地是特定的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,这样的组合物相对于基本上外消旋的制备物而言富集特定寡核苷酸。如本领域技术人员所理解的,该多个寡核苷酸共享共同的序列,该序列是特定寡核苷酸的碱基序列。在一些实施例中,该组合物中共享该特定寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸中的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,该组合物中共享该特定寡核苷酸或其盐构成的所有寡核苷酸中的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,百分比为至少10%。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,其为至少60%。在一些实施例中,其为至少70%。在一些实施例中,其为至少80%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。在一些实施例中,其为约5%-100%。在一些实施例中,其为约10%-100%。在一些实施例中,其为约20%-100%。在一些实施例中,其为约30%-90%。在一些实施例中,其为约30%-80%。在一些实施例中,其为约30%-70%。在一些实施例中,其为约40%-90%。在一些实施例中,其为约40%-80%。在一些实施例中,其为约40%-70%。在一些实施例中,特定寡核苷酸是本文示例的寡核苷酸,例如表1或另一表格的寡核苷酸。

[0640] 在一些实施例中,相对于基本上外消旋的制备物的富集是:组合物中的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同构成的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20%-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20%-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20%-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20%-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20%-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20%-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%为该多个寡核苷酸。在一些实施例中,百分比为至少10%。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,其为至少60%。在一些实施例中,其为至少70%。在一些实施例中,其为至少80%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。在一些实施例中,其为约5%-100%。在一些实施例中,其为约10%-100%。在一些实施例中,其为约20%-100%。在一些实施例中,其为约30%-90%。在一些实施例中,其为约30%-80%。在一些实施例中,其为约30%-70%。在一些实施例中,其为约40%-90%。在一些实施例中,其为约40%-80%。在一些实施例中,其为约40%-70%。

[0641] 在一些实施例中,该组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸中的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,百分比为至少10%。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,其为至少60%。在一些实施例中,其为至少70%。在一些实施例中,其为至少80%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。在一些实施例中,其为约5%-100%。在一些实施例中,其为约10%-100%。在一些实施例中,其为约20%-100%。在一些实施例中,其为约30%-90%。在一些实施例中,其为约30%-80%。在一些实施例中,其为约30%-70%。在一些实施例中,其为约40%-90%。在一些实施例中,其为约40%-80%。在一些实施例中,其为约40%-70%。

[0642] 对手性控制的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸的水平进行控制。相比之下,在非手性控制的(或立体随机的、外消旋的)寡核苷酸组合物(或制备物)中,寡核苷酸的水平是随机的且不进行控制的。在一些实施例中,相对于基本上外消旋的制备物的富集是本文

描述的水平。

[0643] 在一些实施例中,百分比水平(例如,控制水平、预定水平、富集)为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS(各个核苷酸间键联的非对映纯度)为90%-100%,并且nc为如本披露所述的手性键联磷的数目(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)。在一些实施例中,百分比水平(例如,控制水平、预定水平、富集)为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS(各个核苷酸间键联的非对映纯度)为90%-100%,并且nc为如本披露所述的手性控制的核苷酸间键联的数目(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性控制的,并且nc为手性核苷酸间键联的数目。在一些实施例中,DS为90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更大。在一些实施例中,DS为或至少为90%。在一些实施例中,DS为或至少为91%。在一些实施例中,DS为或至少为92%。在一些实施例中,DS为或至少为93%。在一些实施例中,DS为或至少为94%。在一些实施例中,DS为或至少为95%。在一些实施例中,DS为或至少为96%。在一些实施例中,DS为或至少为97%。在一些实施例中,DS为或至少为98%。在一些实施例中,DS为或至少为99%。在一些实施例中,水平(例如,控制水平、预定水平、富集)是组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸的百分比,其中该百分比为或至少为$(DS)^{nc}$。例如,当DS为99%并且nc为10时,该百分比为或至少为90%($(99\%)^{10}\approx 0.90=90\%$)。如本领域技术人员所理解的,在立体随机制备物中,该百分比通常为约$1/2^{nc}$-当nc为10时,该百分比为约$1/2^{10}\approx 0.001=0.1\%$。在一些实施例中,富集(例如,相对于基本上外消旋的制备物)、水平等是:组合物中的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同构成的所有寡核苷酸的至少约$(DS)^{nc}$为该多个寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中的所有寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中共享多个寡核苷酸的共同构成的所有寡核苷酸。在一些实施例中,可以适当地认为寡核苷酸的多种形式(例如,多种盐形式)具有相同的构成。

[0644] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)手性控制的手性核苷酸间键联,其键联磷的非对映过量(d.e.)独立地为约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中,包含手性键联磷的所有手性核苷酸间键联的约或至少约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地为这样的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联的约或至少约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地为这样的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地为这样的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,包含手性键联磷的每个手性核苷酸间键联独立地为这样的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,d.e.为约或至少约80%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约85%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约90%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约95%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约96%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约97%。在一些实施例中,d.e.为约或至少约98%。

[0645] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物(也称为寡核苷酸组合物)是包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列，

共同骨架键联模式，以及

在一个或多个手性核苷酸间键联（手性控制的核苷酸间键联）处的相同键联磷立体化学，

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸的百分比为至少$(DS)^{nc}$，其中DS为90％-100％，并且nc为手性键联磷的数目。

[0646] 在一些实施例中，寡核苷酸组合物（也称为寡核苷酸组合物）是包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物，其中这些寡核苷酸共享：

共同碱基序列，

共同骨架键联模式，以及

在一个或多个手性核苷酸间键联（手性控制的核苷酸间键联）处的相同键联磷立体化学，

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸的百分比为至少$(DS)^{nc}$，其中DS为90％-100％，并且nc为手性控制的核苷酸间键联的数目。

[0647] 在一些实施例中，寡核苷酸组合物（也称为寡核苷酸组合物）是包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物，其中这些寡核苷酸共享：

共同碱基序列，

共同骨架键联模式，以及

共同骨架手性中心模式，该模式包含至少一个Sp，

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸的百分比为至少$(DS)^{nc}$，其中DS为90％-100％，并且nc为手性键联磷的数目。

[0648] 在一些实施例中，寡核苷酸组合物（也称为寡核苷酸组合物）是包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物，其中这些寡核苷酸共享：

共同碱基序列，

共同骨架键联模式，以及

共同骨架手性中心模式，该模式包含至少一个Sp，

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸的百分比为至少$(DS)^{nc}$，其中DS为90％-100％，并且nc为手性控制的核苷酸间键联的数目。

[0649] 在一些实施例中，可以将组合物中的多个寡核苷酸的非对映纯度的水平确定为寡核苷酸中每个手性控制的核苷酸间键联的非对映纯度的乘积。在一些实施例中，连接寡核苷酸（或核酸）中的两个核苷的核苷酸间键联的非对映纯度由连接相同的两个核苷的二聚体的核苷酸间键联的非对映纯度表示，其中使用可比较的条件，在一些情况下，相同的合成循环条件制备二聚体（例如，对于寡核苷酸.....NxNy.....中Nx与Ny之间的键联，二聚体是NxNy）。

[0650] 在一些实施例中，手性控制的寡核苷酸组合物包含两种或更多种多个寡核苷酸，其中多个寡核苷酸各自独立地是如本文所述的多个寡核苷酸（例如，在多种手性控制的寡核苷酸组合物中）。例如，在一些实施例中，多个寡核苷酸各自独立地共享共同碱基序列，以

及在一个或多个手性核苷酸间键联处的相同的键联磷立体化学,并且多个寡核苷酸各自与该多个寡核苷酸的立体随机制备物相比独立地富集,或者多个寡核苷酸各自独立地具有如本文所述的水平。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的腺苷。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向相同或不同核酸的不同转录物。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向不同基因的转录物。尤其是,在一些实施例中,这样的组合物可用于同时和在同一系统中靶向两个或更多个靶标。

[0651] 在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联都是手性控制的,并且组合物是完全手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,不是所有的手性核苷酸间键联都是手性控制的核苷酸间键联,并且组合物是部分地手性控制的寡核苷酸组合物。

[0652] 寡核苷酸可以包含骨架手性中心的多种模式(手性键联磷的立体化学模式)或由其组成。在本披露中描述了骨架手性中心的某些有用的模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享共同骨架手性中心模式,其是或包含本披露中描述的模式(例如,如在“键联磷立体化学及其模式”、表1中的手性控制的寡核苷酸的骨架手性中心模式等中)。

[0653] 在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物是手性纯的(或立体纯的,立体化学纯的)寡核苷酸组合物,其中该寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸是相同的[包括这些寡核苷酸的每个手性元素,包括每个手性键联磷,是独立定义的(立体限定的)],并且该组合物不含其他立体异构体。寡核苷酸立体异构体的手性纯(或立体纯,立体化学纯)的寡核苷酸组合物不含其他立体异构体(如本领域技术人员所理解的,一个或多个非预期的立体异构体可以作为杂质存在)。

[0654] 手性控制的寡核苷酸组合物相对于立体随机的寡核苷酸组合物可以显示许多优点。尤其是,就寡核苷酸结构而言,手性控制的寡核苷酸组合物比相应的立体随机的寡核苷酸组合物更均匀。通过控制立体化学,可以制备和评估各个立体异构体的组合物,从而可以开发具有所需特性和/或活性的立体异构体的手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,与例如相应的立体随机的寡核苷酸组合物相比,手性控制的寡核苷酸组合物提供了更好的递送、稳定性、清除率、活性、选择性和/或毒性特征。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物提供更好的功效、更少的副作用和/或更方便和有效的剂量方案。尤其是,如本文所述的骨架手性中心模式任选地与本文所述的其他结构特征(例如,核碱基、糖、核苷酸间键联等的修饰)组合可用于以高效率提供定向腺苷编辑。

[0655] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含一个或多个立体控制的(手性控制的;在一些实施例中,立体纯的)核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含一个或多个立体控制的(手性控制的;在一些实施例中,立体纯的)核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。

[0656] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含一个或多个立体控制的(例如,手性控制的或立体纯的)核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。这样的寡核苷酸可以靶向多种核酸并且可以具有多种碱基序列,并且可以提供有效的腺苷编辑(例如,将A转化成I)。

[0657] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,所提供的手性控制的寡核苷酸组合物包含具有相同构成的多个寡核苷酸,并且具有一个或多

个核苷酸间键联。在一些实施例中,例如在手性控制的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸是选自表1的多个寡核苷酸(和/或其多种盐形式中的一种或多种),其中该寡核苷酸在手性控制的核苷酸间键联中包含至少一个Rp或Sp键联磷。在一些实施例中,例如在手性控制的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸是选自表1的多个寡核苷酸(和/或其多种盐形式中的一种或多种),其中寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的(每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Rp或Sp)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物,例如寡核苷酸组合物是单一寡核苷酸的基本上纯的制备物,因为在一些情况下,在某些纯化程序后,在该组合物中的不是该单一寡核苷酸的寡核苷酸是来自该单一寡核苷酸的制备过程中的杂质。在一些实施例中,单一寡核苷酸是表1的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联是手性控制的(例如,在"立体化学/键联"中表示为S或R,但不是X)。

[0658] 在一些实施例中,相对于相应的立体随机的寡核苷酸组合物,手性控制的寡核苷酸组合物可以具有增加的活性和/或稳定性、增加的递送和/或降低引起不良作用(诸如补体,TLR9活化等)的能力。在一些实施例中,立体随机的(非手性控制的)寡核苷酸组合物与手性控制的寡核苷酸组合物的不同之处在于其相应的多个寡核苷酸不包含任何手性控制的核苷酸间键联,但是立体随机的寡核苷酸组合物在其他方面与手性控制的寡核苷酸组合物相同。

[0659] 在一些实施例中,本披露涉及能够调节基因或其基因产物的水平、活性或表达的手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,与参考条件相比(例如,不存在本披露的寡核苷酸和/或组合物,和/或存在参考寡核苷酸和/或寡核苷酸组合物(例如,具有相同碱基序列但不同修饰的寡核苷酸、具有可比较结构(例如,碱基序列、修饰等)但缺乏立体化学控制的寡核苷酸的立体随机组合物等),基因或其基因产物的水平、活性或表达增加(例如,通过将A转化成I以恢复正确的G至A突变、以增加蛋白翻译水平、以增加特定蛋白同种型的产生、以调节剪接从而增加特定剪接产物和由此编码的蛋白的水平等),而在一些实施例中,基因或其基因产物的水平、活性或表达降低(例如,通过将A转化成I以产生终止密码子和/或改变密码子、以降低蛋白翻译水平、以减少特定蛋白同种型的产生、以调节剪接从而降低特定剪接产物和由此编码的蛋白的水平等)。

[0660] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然)的跨度(例如,至少10或15个连续碱基)。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然)。

[0661] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并

且反之亦然)的跨度(例如,至少10或15个连续碱基)。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,该共同碱基序列是本文披露的碱基序列(例如,在表1中,其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然)。

[0662] 在一些实施例中,所提供的手性控制的寡核苷酸组合物是包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物是手性纯的(或"立体化学纯的")寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了表1中的寡核苷酸的手性纯的寡核苷酸组合物,其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的(Rp或Sp,例如,可以从"立体化学/键联"中的R或S而不是X来确定)。如本领域普通技术人员将理解的那样,化学选择性很少(如果有的话)达到完全性(绝对100%)。在一些实施例中,手性纯的寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸在结构上相同并且都具有相同的结构(相同的立体异构形式;在寡核苷酸的情况下,通常与通常在寡核苷酸中存在的多个手性中心相同的非对映形式),并且手性纯的寡核苷酸组合物不含有任何其他立体异构体(在寡核苷酸的情况下,通常如通常在寡核苷酸中存在的多个手性中心的非对映体;其程度例如可通过立体选择性制备实现)。如本领域技术人员所理解的,立体随机的(或"外消旋的"、"非手性控制的")寡核苷酸组合物是许多立体异构体的随机混合物(例如,2n个非对映异构体,其中n是寡核苷酸的手性键联磷的数目,其中其他手性中心(例如,糖中的碳手性中心)是手性控制的,各自独立地以一种构型存在,并且仅手性键联磷中心不是手性控制的)。

[0663] 显示手性控制的寡核苷酸组合物(例如,手性控制的寡核苷酸组合物在调节靶基因和/或其产物的水平、活性和/或表达方面)的特性和/或活性的某些数据显示在例如本披露的实例中。

[0664] 在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有Rp构型。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有Sp构型。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有Rp构型并且键联磷具有Sp构型。在一些实施例中,这样的寡核苷酸组合物是手性控制的,并且Rp和/或Sp核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

[0665] 在一些实施例中,与参考寡核苷酸或寡核苷酸组合物相比,所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物(例如,手性控制的寡核苷酸组合物)出人意料地有效。在一些实施例中,所需的生物效应(例如,如通过mRNA、蛋白等的水平增加(如果期望增加的话)和/或降低(如果期望降低的话)所测量的,这些mRNA、蛋白等的水平以增加为目标)可以增强超过1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50或100倍(例如,如通过所需的mRNA、蛋白等的水平所

测量的)。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比所需的mRNA和/或蛋白水平的增加或不期望的mRNA和/或蛋白水平的降低来衡量。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比所需的mRNA和/或蛋白水平的增加来衡量。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比不期望的mRNA和/或水平的降低来衡量。在一些实施例中,参考条件分别是不存在所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物,和/或存在参考寡核苷酸或寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸共享相同的碱基序列,但具有不同的核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰和/或键联磷立体化学。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同的碱基序列但不同的核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰和/或键联磷立体化学的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,用于手性控制的寡核苷酸组合物的参考组合物是具有相同碱基序列、核碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰(但缺乏键联磷立体化学控制和/或具有低水平的键联磷立体化学控制)或具有相同构成的寡核苷酸的相应立体随机组合物。

[0666] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中至少一个手性控制的核苷酸间键联的键联磷是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中手性控制的核苷酸间键联的大部分键联磷是Sp。在一些实施例中,所有手性控制的核苷酸间键联(或所有手性核苷酸间键联或所有核苷酸间键联)中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是Sp。在一些实施例中,所有手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是Sp。在一些实施例中,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个硫代磷酸酯核苷酸间键联是非手性控制的或是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,其不超过1。在一些实施例中,其不超过2。在一些实施例中,其不超过3。在一些实施例中,其不超过4。在一些实施例中,其不超过5。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中大部分手性核苷酸间键联是手性控制的并且在其键联磷处是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中每个手性核苷酸间键联是手性控制的并且每个手性键联磷是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,例如手性控制的寡核苷酸组合物,其中至少一个手性控制的核苷酸间键联具有Rp键联磷。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中至少一个手性控制的核苷酸间键联包含Rp键联磷并且至少一个手性控制的核苷酸间键联包含Sp键联磷。

[0667] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中至少两个手性控制的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的键联磷立体化学和/或不同的P-修饰,其中P-修饰是在键联磷处的修饰。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,其中至少两个手性控制的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的立体化学,并且寡核苷酸的骨架手性中心模式的特征在于交替立体化学的重复模式。

[0668] 在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合

物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然磷酸酯键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然磷酸酯键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然磷酸酯键联和硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的P-修饰,并且每个寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和硫代磷酸三酯核苷酸间键联。

[0669] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,这些寡核苷酸共享共同碱基序列,该共同碱基序列是本文披露的寡核苷酸的碱基序列,其中至少一个核苷酸间键联是手性控制的。

键联磷立体化学和骨架手性中心模式

[0670] 尤其是,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了本文所述的寡核苷酸的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含本披露中所述的多个寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸组合物不是手性控制的(立体随机的)。

[0671] 与天然磷酸酯键联形成对比,手性修饰的核苷酸间键联(例如硫代磷酸酯核苷酸间键联)的键联磷是手性的。尤其是,本披露提供了包括控制手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)。在一些实施例中,如本文所展示的,对立体化学的控制可以提供改善的特性和/或活性,包括所需的稳定性、降低的毒性、改善的靶核酸修饰、改善的其编码的转录物和/或产物(例如,mRNA、蛋白质等)的水平的调节等。在一些实施例中,本披露提供了对于寡核苷酸和/或其区域有用的骨架手性中心模式,该模式包括手性键联磷的每个手性键联磷(Rp或Sp)的立体化学的组合,每个非手性键联磷(Op,如有)等从5’到3’指示。在各个表中(例如,作为实例的立体化学/键联)提供了某些模式;这样的模式可以应用于具有多种碱基序列和修饰(例如,本文所述的那些,包括其模式)的多种寡核苷酸。

[0672] 本文广泛描述了骨架手性中心的有用模式,例如用于寡核苷酸、第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等的那些。例如,在一些实施例中,寡核苷酸或其一个或多个部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域和/或第三子结构域,和/或其中的5′-末端部分和/或3′-末端部分)的高水平的Sp核苷酸间

键联提供高稳定性和/或活性。在一些实施例中,第一结构域包含高水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域包含高水平的Sp核苷酸间键联(以相对于天然磷酸酯键联和/或Rp核苷酸间键联的数量和/或百分比计)。在一些实施例中,第一子结构域包含高水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域包含高水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域包含高水平的Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,如本文所展示的,可以在多种位置和/或部分使用Rp核苷酸间键联。例如,在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个或高水平的Rp核苷酸间键联,并且在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个或高水平的Rp核苷酸间键联。

[0673] 在一些实施例中,在手性控制的核苷酸间键联中的许多键联磷是Sp。在一些实施例中,至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的手性控制的核苷酸间键联具有Sp键联磷。在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联中的至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有核苷酸间键联中的至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联中的至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%具有Sp键联磷。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,百分比为至少60%。在一些实施例中,百分比为至少65%。在一些实施例中,百分比为至少70%。在一些实施例中,百分比为至少75%。在一些实施例中,百分比为至少80%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,百分比为至少95%。在一些实施例中,所有手性控制的核苷酸间键联具有Sp键联磷。在一些实施例中,所有手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联具有Sp键联磷。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少5个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少6个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少7个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少8个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少9个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少10个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少11个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少12个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少13个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少14个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少15个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、

37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的一个且不超过一个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的2个且不超过2个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的3个且不超过3个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的4个且不超过4个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的5个且不超过5个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性控制的核苷酸间键联。

[0674] 在一些实施例中,除了一个或少数核苷酸间键联(例如,寡核苷酸中所有手性控制的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中1、2、3、4或5个,和/或低于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)呈Rp构型外,寡核苷酸或其一部分中所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,寡核苷酸中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第一结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,第一结构域中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第一结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,第二结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,第二结构域中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第二结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外,第二结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,第二结构域的子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,第二结构域的第一子结构域中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第二结构域的第一子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外,第二结构域的第一子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个或少量呈Rp构型的核苷酸间键联外,第二结构域的第二子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,第二结构域的第二子结构域中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷

酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50％-100％、55％-100％、60％-100％、65％-100％、70％-100％、75％-100％、80％-100％、85％-100％、90％-100％、55％-95％、60％-95％、65％-95％，或约55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％或更多)。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第二子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第二子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中，第二结构域的第三子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如，第二结构域的第三子结构域中所有手性控制的核苷酸间键联、或所有手性核苷酸间键联、或所有核苷酸间键联的约50％-100％、55％-100％、60％-100％、65％-100％、70％-100％、75％-100％、80％-100％、85％-100％、90％-100％、55％-95％、60％-95％、65％-95％，或约55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、97％、99％或更多)。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第三子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第三子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。

[0675] 在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个且不超过一个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含五个或更多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性控制的核苷酸间键联的约5％-50％是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性控制的核苷酸间键联的约5％-40％是Rp。在一些实施例中，某些部分(例如，结构域、子结构域等)可以包含相对更多(数量和/或百分比方面)的Rp核苷酸间键联，例如第二子结构域。

[0676] 在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个在一个或多个位置(例如，-1、-2、+1、+2、+7、+8等)处的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置+1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置+2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-1、-2、+1和+2处的两个或三个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置是-1和-2。在一些实施例中，位置是+1和+2。在一些实施例中，位置是-1和+1。在一些实施例中，位置是-1、+1和+2。在一些实施例中，位置是-1、-2和+1。在一些实施例中，一个且仅一个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，一个且仅一个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联并且位于位置+2、+1、1或2处。在一些实施例中，位置是+1。在一些实施例中，位置是+2。在一些实施例中，位置是-1。在一些实施例中，位置是-2。在一些实施例中，据观察，利用Rp核苷酸间键联可以提高ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2的编辑效率。在一些实施例中，ADAR1(p110和/或p150)编辑的提高大于ADAR2编辑的提高(与不存在Rp相比，没有或更少的提高或更少的编辑)。

[0677] 在一些实施例中，本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物，其中该组合物包含非随机或控制水平的多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸共享共同碱基序列，并且独立地在至少1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25个或

更多个手性核苷酸间键联处共享键联磷的相同构型。

[0678] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含2-30个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物包含5-30个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物包含10-30个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性控制的核苷酸间键联。

[0679] 在一些实施例中,所有核苷酸间键联中的约1%-100%是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联中的约1%-100%是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,百分比为约5%-100%。在一些实施例中,百分比为至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、965、96%、98%或99%。在一些实施例中,百分比为约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、965、96%、98%或99%。

[0680] 在一些实施例中,呈Sp构型的核苷酸间键联(具有Sp键联磷)是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,呈Rp构型的核苷酸间键联(具有Rp键联磷)是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,呈Sp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,呈Rp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,呈Sp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联,每个非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联,并且呈Rp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0681] 在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物中的所提供的寡核苷酸各自包含不同类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联并且独立地是手性控制的。

[0682] 在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物中的寡核苷酸各自包含至少两个相对于彼此具有不同的立体化学和/或不同的P-修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少两个核苷酸间键联具有彼此不同的立体化学。在一些实施例中,寡核苷酸各自包含骨架手性中心模式,该模式包含交替键联磷立体化学。

[0683] 在一些实施例中,硫代磷酸三酯键联包含手性助剂,其例如用于控制反应(例如,在寡核苷酸合成循环中的偶联反应)的立体选择性。在一些实施例中,硫代磷酸三酯键联不含手性助剂。在一些实施例中,有意地维持硫代磷酸三酯键联直至施用寡核苷酸组合物给受试者,和/或在施用寡核苷酸组合物给受试者期间有意地维持硫代磷酸三酯键联。

[0684] 在一些实施例中,寡核苷酸连接到固体支持物。在一些实施例中,固体支持物是寡核苷酸合成的支持物。在一些实施例中,固体支持物包括玻璃。在一些实施例中,固体支持

物是CPG(可控孔度玻璃)。在一些实施例中,固体支持物是聚合物。在一些实施例中,固体支持物是聚苯乙烯。在一些实施例中,固体支持物是高度交联的聚苯乙烯(HCP)。在一些实施例中,固体支持物是可控孔度玻璃(CPG)和高度交联的聚苯乙烯(HCP)的杂合支持物。在一些实施例中,固体支持物是金属泡沫。在一些实施例中,固体支持物是树脂。在一些实施例中,从固体支持物上切割寡核苷酸。

[0685] 在一些实施例中,许多寡核苷酸及其组合物(其中寡核苷酸中除了手性键联磷中心的所有其他手性中心已经被立体限定(例如,糖中的碳手性中心,其在例如用于寡核苷酸合成的亚磷酰胺中限定))的纯度,特别是立体化学纯度,和特别是非对映纯度可以通过在偶联步骤中当形成手性核苷酸间键联时手性键联磷处的立体选择性(如本领域技术人员所理解的,在寡核苷酸合成的许多情况(其中寡核苷酸包含多于一个手性中心)下的非对映选择性)来控制。在一些实施例中,偶联步骤在键联磷处具有60%的立体选择性(当存在其他手性中心时为非对映选择性)。在这样的偶联步骤之后,可以认为形成的新的核苷酸间键联具有60%的立体化学纯度(对于寡核苷酸,鉴于其他手性中心的存在,通常是非对映纯度)。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的立体选择性。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联通常以至少85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少85%;在一些实施例中,至少87%;在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体选择性形成。在一些实施例中,立体选择性为至少85%。在一些实施例中,立体选择性为至少87%。在一些实施例中,立体选择性为至少90%。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有几乎100%的立体选择性。

[0686] 在一些实施例中,组合物中手性中心(例如,手性键联磷)的立体纯度为至少60%、70%、80%、85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%。在一些实施例中,立体纯度是至少80%。在一些实施例中,立体纯度是至少85%。在一些实施例中,立体纯度是至少87%。在一些实施例中,立体纯度是至少90%。在一些实施例中,立体纯度为几乎100%。在一些实施例中,每个手性控制的核苷酸间键联在其手性键联磷处独立地具有至少85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少85%;在一些实施例中,至少87%;在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸,通常为非对映纯度)。在一些实施例中,手性控制的核苷酸间键联具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,大部分手性控制的核苷酸间键联独立地具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,每个手性控制的核苷酸间键联独立地具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有手性控制的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控

制的并且是Sp。

[0687] 立体选择性和立体纯度可以通过多种技术来评估。在一些实施例中,立体选择性和/或立体纯度几乎为100%,因为当通过分析方法(例如,NMR、HPLC等)分析组合物时,几乎所有可检测的立体异构体都具有预期的立体化学。

[0688] 在一些实施例中,单体(如本领域技术人员所理解的,在许多实施例中,用于寡核苷酸合成的亚磷酰胺)的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个偶联独立地具有小于约60%、70%、80%、85%或90%的立体选择性[对于寡核苷酸合成,就一个或多个形成的键联磷手性中心而言,通常是非对映选择性]。

[0689] 在一些实施例中,在立体随机(或外消旋)制备物(或立体随机/非手性控制的寡核苷酸组合物)中,寡核苷酸的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个手性核苷酸间键联独立地具有相对于核苷酸间键联的手性键联磷小于约60%、65%、70%、75%、80%或85%的立体化学纯度(对于包含多个手性中心的寡核苷酸,通常为非对映纯度)。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约60%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约65%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约70%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约75%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约80%。

[0690] 在一些实施例中,本披露的化合物(例如,寡核苷酸、手性助剂等)包含多个手性元素(例如,多个碳和/或磷(例如,手性核苷酸间键联的键联磷)手性中心)。在一些实施例中,所提供的化合物(例如,寡核苷酸)的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9个或更多个手性元素各自独立地具有如本文所述的非对映纯度。在一些实施例中,非对映纯度为至少85%。在一些实施例中,非对映纯度为至少86%。在一些实施例中,非对映纯度为至少87%。在一些实施例中,非对映纯度为至少88%。在一些实施例中,非对映纯度为至少89%。在一些实施例中,非对映纯度为至少90%。在一些实施例中,非对映纯度为至少91%。在一些实施例中,非对映纯度为至少92%。在一些实施例中,非对映纯度为至少93%。在一些实施例中,非对映纯度为至少94%。在一些实施例中,非对映纯度为至少95%。在一些实施例中,非对映纯度为至少96%。在一些实施例中,非对映纯度为至少97%。在一些实施例中,非对映纯度为至少98%。在一些实施例中,非对映纯度为至少99%。

[0691] 如本领域普通技术人员所理解的,在一些实施例中,可以通过在相同的或可比较的条件下二聚体形成的非对映选择性或所制备的二聚体的非对映纯度来评估偶联的非对映选择性或手性键联磷中心的非对映纯度,其中二聚体具有相同的5′-和3′-核苷以及核苷酸间键联。

[0692] 多种技术可用于鉴定或证实手性元素的立体化学(例如,手性键联磷的构型)和/或骨架手性中心模式,和/或用于评估立体选择性(例如,寡核苷酸合成中的偶联步骤的非对映选择性)和/或立体化学纯度(例如,核苷酸间键联、化合物(例如,寡核苷酸)等的非对映纯度)。示例技术包括NMR[例如1D(一维)和/或2D(二维)^{1}H-^{31}PHETCOR(异核相关光谱)]、HPLC、RP-HPLC、质谱、LC-MS以及立体特异性核酸酶对核苷酸间键联的切割等,它们可以单独或组合使用。有用的核酸酶的实例包括苯甲酸酶、微球菌核酸酶和svPDE(蛇毒磷酸二酯酶),其对于具有Rp键联磷(例如,Rp硫代磷酸酯键联)的某些核苷酸间键联具有特异性;以及核酸酶P1、绿豆核酸酶和核酸酶S1,其对于具有Sp键联磷的核苷酸间键联(例如,Sp硫代

磷酸酯键联)具有特异性。不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,在至少一些情况下,特定核酸酶对寡核苷酸的切割可能受到结构元件例如化学修饰(例如,糖的2′-修饰)、碱基序列或立体化学环境的影响。例如,观察到在一些情况下,对具有Rp键联磷的核苷酸间键联有特异性的苯甲酸酶和微球菌核酸酶无法切割侧接有Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联的分离的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0693] 在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸共享共同骨架磷修饰模式和共同碱基修饰模式。在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸组合物共享共同骨架磷修饰模式和共同核苷修饰模式。在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸具有相同的结构。

[0694] 在一些实施例中,本披露提供了包含能够指导靶核酸中的靶腺苷脱氨的多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸具有特定的寡核苷酸类型,该组合物是手性控制的,因为相对于具有相同碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物而言,该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0695] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸或特定寡核苷酸类型的寡核苷酸是寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列;

共同骨架键联模式;和

在一个或多个手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处的相同键联磷立体化学,

其中相对于共享共同碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0696] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列;

共同骨架键联模式;和

共同骨架手性中心模式,该组合物是单一寡核苷酸的基本上纯的制备物,因为该组合物中至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%或99%的寡核苷酸具有共同碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架手性中心模式。

[0697] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物类型进一步由以下方面定义:4)另外的化学部分,如果有的话。

[0698] 在一些实施例中,百分比为至少约10%。在一些实施例中,百分比为至少约20%。在一些实施例中,百分比为至少约30%。在一些实施例中,百分比为至少约40%。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约91%。在一些实施例中,百分比为至少约92%。在一些实

施例中,百分比为至少约93%。在一些实施例中,百分比为至少约94%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为至少约96%。在一些实施例中,百分比为至少约97%。在一些实施例中,百分比为至少约98%。在一些实施例中,百分比为至少约99%。在一些实施例中,百分比为或大于$(DS)^{nc}$,其中DS和nc各自独立地如本披露中所述。

[0699] 在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的构成。在一些实施例中,多个寡核苷酸是相同的(相同的立体异构体)。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物是立体纯寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸是相同的(相同的立体异构体),并且该组合物不合任何其他立体异构体。本领域技术人员将理解,一种或多种其他立体异构体可能作为杂质存在,因为工艺、选择性、纯化等可能无法实现完全性。

[0700] 在一些实施例中,所提供的组合物的特征在于当它与靶核酸接触[例如,转录物(例如,前体mRNA,成熟mRNA,与组合物的寡核苷酸杂交的其他类型的RNA等)]时,靶核酸和/或由此编码的产物的水平与在参考条件下观察到的相比降低。在一些实施例中,核酸和/或其产物的水平增加,该核酸是靶核酸的A至I编辑的产物。在一些实施例中,参考条件选自由以下组成的组:不存在组合物、存在参考组合物、及其组合。在一些实施例中,参考条件是不存在组合物。在一些实施例中,参考条件是存在参考组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不与靶核酸杂交的组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不含与靶核酸充分互补的序列的组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸共享相同的碱基序列但不共享相同的核碱基、糖和/或核苷酸间键联修饰的组合物。在一些实施例中,所提供的组合物是手性控制的寡核苷酸组合物,而参考组合物是非手性控制的寡核苷酸组合物,其在其他方面相同但不是手性控制的(例如,与手性控制的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的外消旋制备物)。

[0701] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸组合物,该组合物包含能够指导靶核酸中的靶腺苷脱氨的多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个手性核苷酸间键联(手性控制的核苷酸间键联)处的相同键联磷立体化学,

其中相对于共享共同碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸,

该寡核苷酸组合物的特征在于:当它与靶序列接触时,靶核酸中的靶腺苷脱氨相对于在参考条件下观察到的脱氨有所改善,该参考条件选自由以下组成的组:不存在该组合物、存在参考组合物及其组合。

[0702] 如本领域技术人员所理解的,可以使用多种技术来评估靶腺苷的脱氨。在一些实施例中,技术是测序,其中脱氨的腺苷被检测为G或I。在一些实施例中,通过产物(例如,RNA、蛋白(例如,由其中靶A被I代替但在其他方面与靶核酸相同的序列编码)等)的水平来评估脱氨。

[0703] 如本文所展示的,寡核苷酸结构单元(例如,糖修饰、骨架键联、骨架手性中心、骨架磷修饰、其模式等)及其组合可以提供令人惊讶地改善的特性和/或生物活性。

[0704] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是单一寡核苷酸立体异构体的基本上纯的制备

物,因为组合物中具有相同构成但不具有立体异构体的寡核苷酸是来自所述寡核苷酸立体异构体的制备过程的杂质,在一些情况下,在某些纯化程序之后。

[0705] 在一些实施例中,本披露提供了手性控制的寡核苷酸和寡核苷酸组合物,并且在一些实施例中,提供了立体纯的寡核苷酸和寡核苷酸组合物。例如,在一些实施例中,所提供的组合物包含非随机水平或控制水平的一种或多种单独的寡核苷酸类型。在一些实施例中,同一寡核苷酸类型的寡核苷酸是相同的。

核碱基

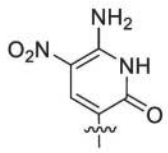
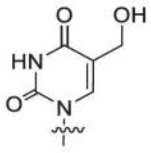
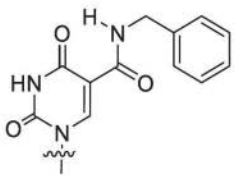
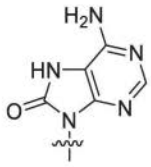
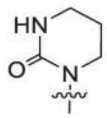
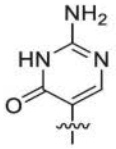
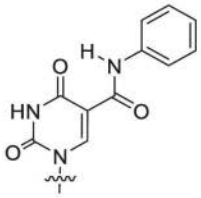
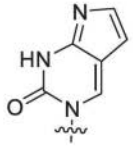
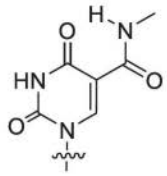
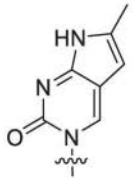
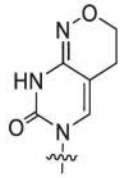
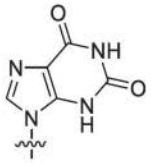
[0706] 根据本披露,多种核碱基可用于所提供的寡核苷酸中。在一些实施例中,核碱基是天然核碱基,最常见存在的天然核碱基是A、T、C、G和U。在一些实施例中,核碱基是经修饰的核碱基,因为它不是A、T、C、G或U。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,或经取代的A、T、C、G或U的互变异构体。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,例如5mC、5-羟甲基C等。在一些实施例中,核碱基是烷基取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,核碱基是A。在一些实施例中,核碱基是T。在一些实施例中,核碱基是C。在一些实施例中,核碱基是G。在一些实施例中,核碱基是U。在一些实施例中,核碱基是5mC。在一些实施例中,核碱基是经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,核碱基是经取代的A、T、C、G或U的互变异构体。在一些实施例中,取代保护核碱基中的某些官能团以最少化寡核苷酸合成期间的不期望的反应。在寡核苷酸合成中用于核碱基保护的合适技术是本领域众所周知的,并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,经修饰的核碱基改善了寡核苷酸的特性和/或活性。例如,在许多情况下,可以使用5mC代替C来调节某些不希望的生物学效应,例如免疫应答。在一些实施例中,当确定序列同一性时,将具有相同氢键合模式的经取代的核碱基与未经取代的核碱基相同处理,例如5mC可以与C相同处理[例如,具有5mC代替C(例如,AT5mCG)的寡核苷酸被认为与在一个或多个相应位置(例如,ATCG)具有C的寡核苷酸具有相同的碱基序列]。在一些实施例中,核碱基是或包含具有至少一个氮原子的任选地经取代的环。在一些实施例中,核碱基包含如本文所述的环BA,其中环BA的至少一个单环包含氮环原子。

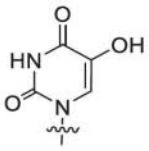
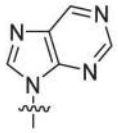
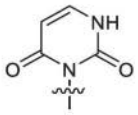
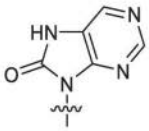
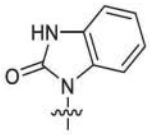
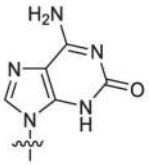
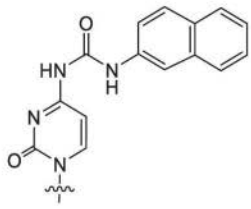
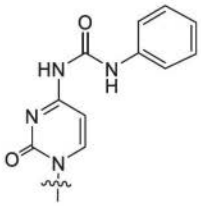
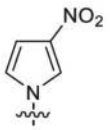
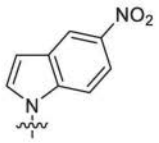
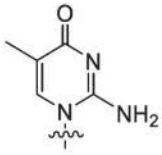
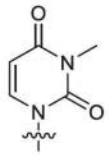
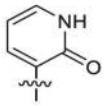
[0707] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个A、T、C、G或U。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个任选地经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个5-甲基胞苷、5-羟甲基胞苷、5-甲酰基胞嘧啶、或5-羧基胞嘧啶。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个5-甲基胞苷。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核碱基选自由任选地经取代的A、T、C、G和U,以及任选地经取代的A、T、C、G和U的互变异构体组成的组。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核碱基是任选地被保护的A、T、C、G和U。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核碱基选自由A、T、C、G、U、和5mC组成的组。

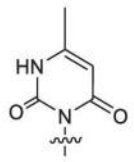
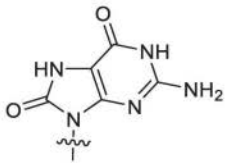
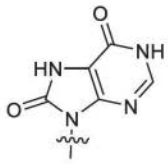
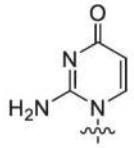
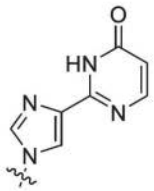
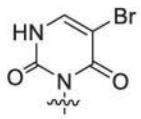
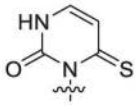
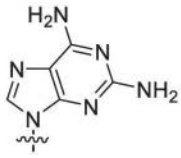
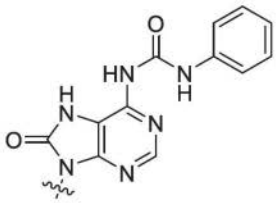
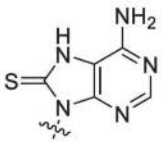
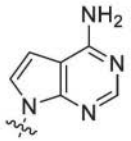
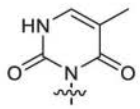
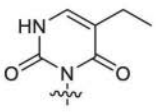
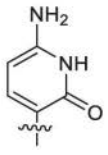
[0708] 如本文所展示的,在某些位置(例如,在与靶腺苷相反的核苷和/或其一个或多个相邻核苷中)利用某些核碱基可以提供具有改善的特性和/或活性(例如,腺苷编辑成I)的寡核苷酸。在一些实施例中,有用的核碱基是或包含如本文所述的环BA。在一些实施例中,核苷中的核碱基是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的

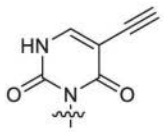
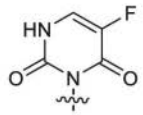
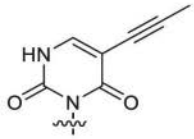
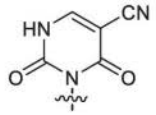
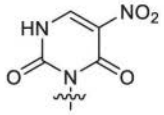
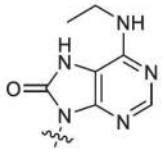
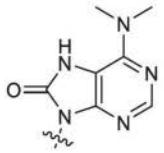
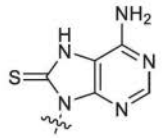
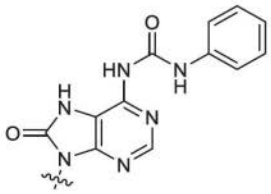
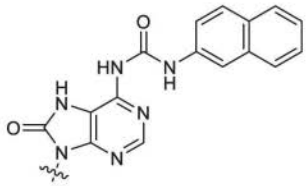
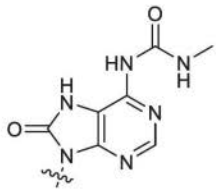
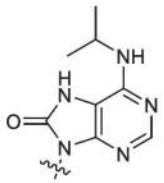
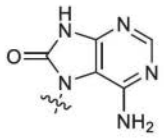
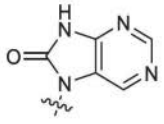
或被保护的以下结构,或任选地经取代的或被保护的以下结构的互变异构体:

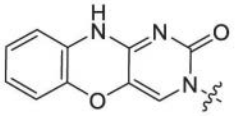
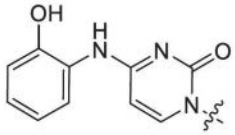
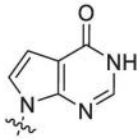
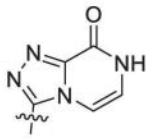
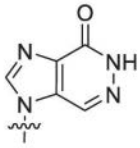
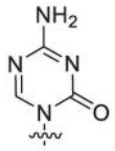
表BA-1.某些有用的核碱基。

zdnp		b007U	
b001U		b001A 或 [o8A]	
b002U		b001C	
b003U 或 [phc5U]		b002C	
b004U 或 [nmc5U]		b003C 或 [m6pyrC]	
b005U 或 [dhpU]		b002I 或 [Xan]	

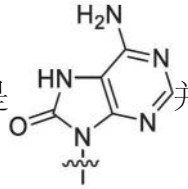
b006U		b003I 或 [嘌呤]	
b008U 或 [3nU]		b009U 或 [im2o]	
b002A		b003A 或 [o2imbe]	
b001G 或 [isoG]		b007C	
b004C 或 [pamC]		b005C 或 [no3pyr]	
b006C 或 [no5ind]		b008C 或 [mi5C]	
b011U 或 [m3U]		b012U 或 [o2pyr]	

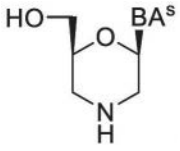
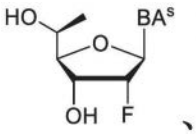
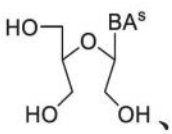
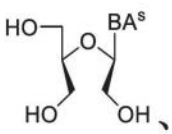
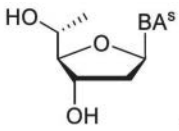
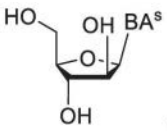
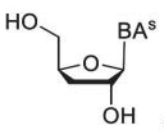
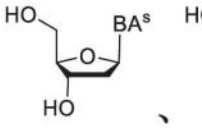
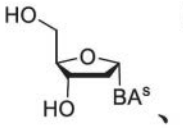
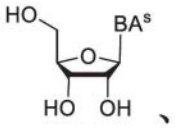
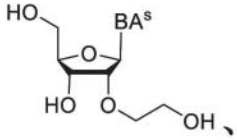
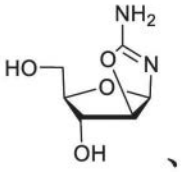
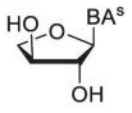
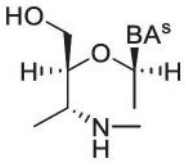
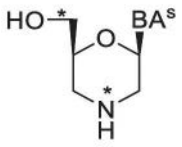
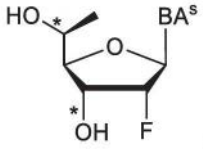
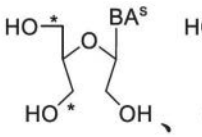
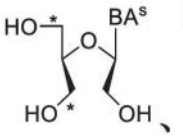
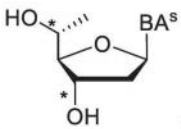
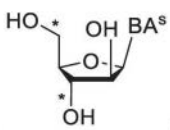
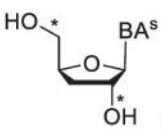
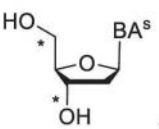
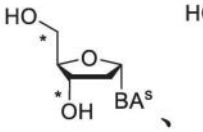
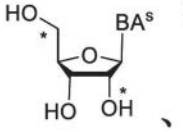
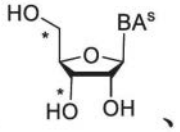
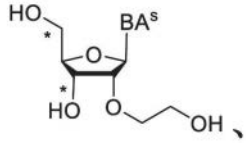
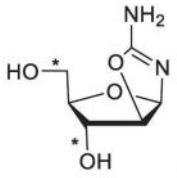
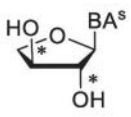
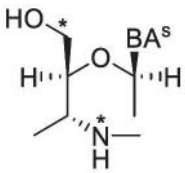
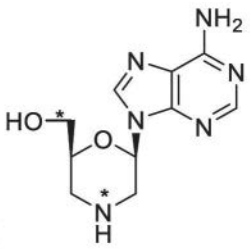
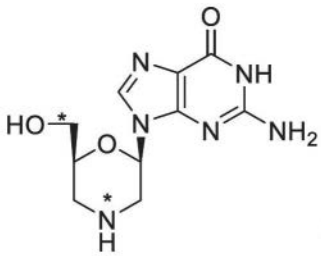
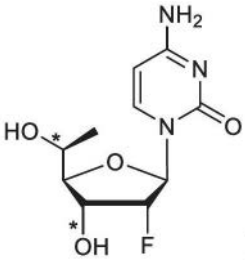
b013U 或 [3nm6U]		b002G	
b004I 或 [o68pur]		b009C 或 [isoC]	
b014I		b014U	
b015U		b004A 或 [n2A]	
b005A		b006A 或 [s8A]	
b007A 或 [c7A]		[3nT]	
[3ne5U]			

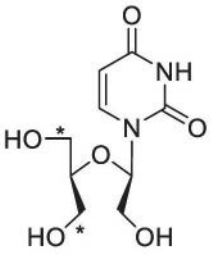
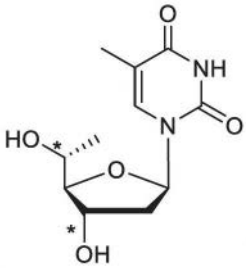
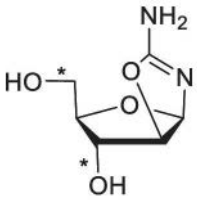
		[3nfl5U]	
[3npry5U]		[3ncn5U]	
			
			
		[napth6o8A]	
		[ipr6o8A]	
			

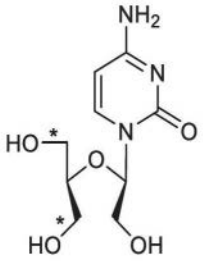
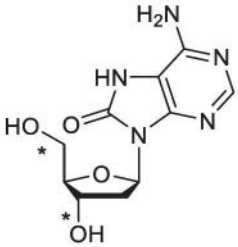
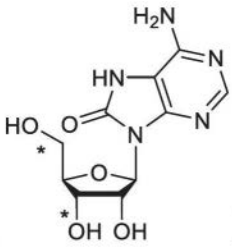
			
[c7In]		[c39z48In]	
[z2c3In]		[z5C]	

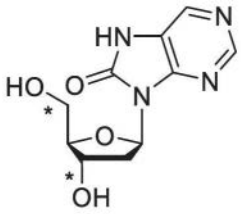
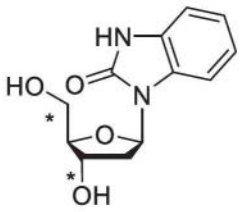
在一些实施例中,经修饰的核碱基是b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[nathp6o8A]、[ipr6o8A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个这样的核碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的核碱基的化合物。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的核碱基的单体(例如,可用于寡核苷酸合成的单体)。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的核碱基的亚磷酰胺。在一些实施例中,亚磷酰胺是CED亚磷酰胺。在一些实施例中,单体包含如本文所述的助剂部分(例如,其中P与O和N、与O和S、与S和S等形成键)。在一些实施例中,亚磷酰胺包含如本文所述的手性助剂部分(例如,其中P与O和N形成键)。在一些实施例中,R^{NS}包含这样的核碱基。在一些实施例中,对核碱基进行保护以用于寡核苷酸合成。

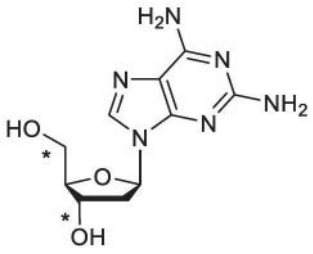
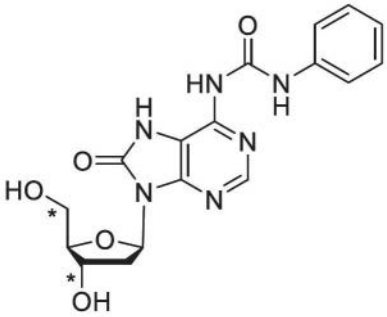
[0709] 在一些实施例中,本披露提供了多种核苷。在一些实施例中,b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A或b007C还可以指核碱基分别为b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A或b007C的核苷。例如,b001A可以指其核碱基是并且其糖是天然DNA糖的核苷;还可以指示糖修饰,例如b001rA中的“r”指示在糖(天然RNA糖)上存在

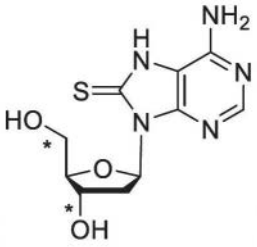
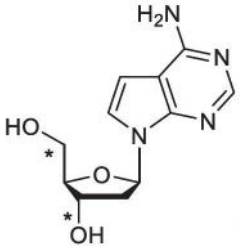
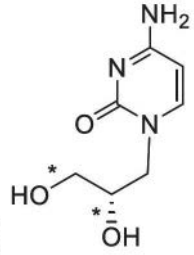
2’-OH。在一些实施例中，本披露提供了具有以下结构的化合物：、、、、、、、或、、、、、、或其盐，其中BA^{s}如本文所述。在一些实施例中，所提供的化合物，例如核苷，具有以下结构：、、、、、、、、或、、、、、、或其盐，其中“*”表示在各种寡核苷酸中时与核苷酸间键联的连接，并且BA^{s}如本文所述。在一些实施例中，BA^{s}是核碱基，例如，如本文所述的BA。在一些实施例中，对BA进行保护以用于寡核苷酸合成。在一些实施例中，所提供的核苷选自Asm01(Gsm01)、(5MSfC)、

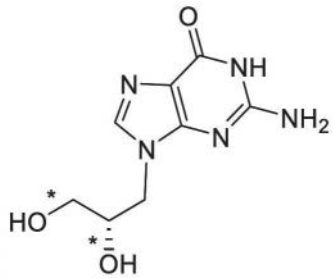
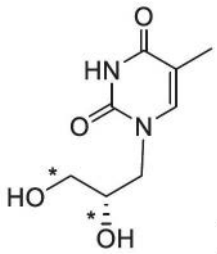
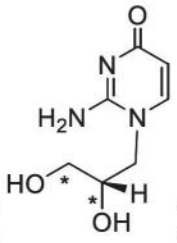
Usm04  ( )、 5MRdT  ( )、 L034  ( )、 Csm04

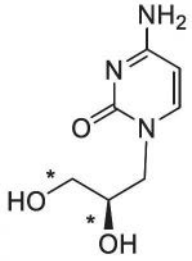
 ( )、 b001A  ( )、 b001rA  ( )、 b002A

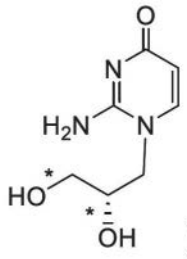
 ( )、 b003A  ( )、 b004A

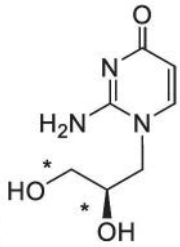
 ( )、 b005A  ( )、 b006A

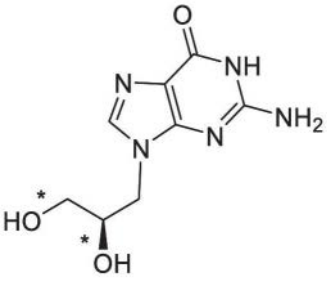
 ( )、 b007A  ( )、 Csm11  ( )、 Gsm11

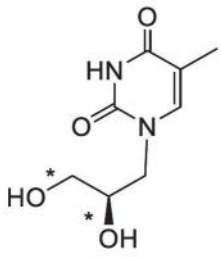
 ( )、 Tsm11  ( )、 b009Csm11  ( )、 Csm12

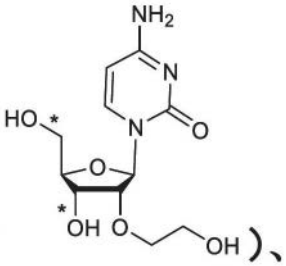

b009Csm11（ ）、

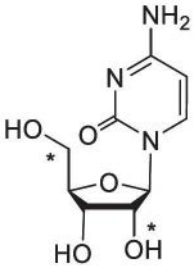

b009Csm12（ ）、

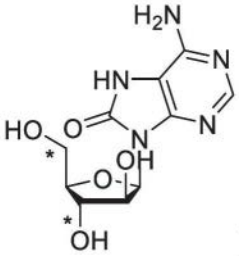

Gsm12（ ）、

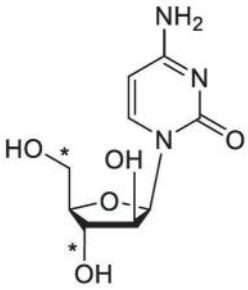

Tsm12（ ）、

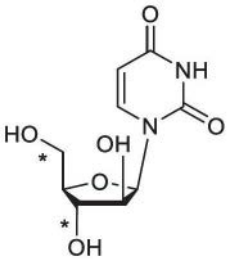

rCsm13（ ）、

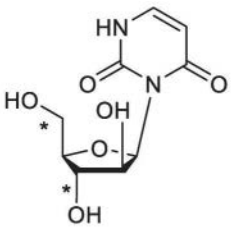

rCsm14（ ）、


b001Asm15（ ）、

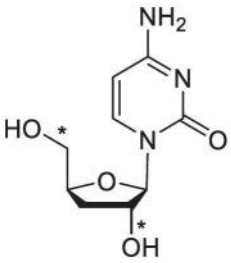

Csm15（ ）、


Usm15（ ）、

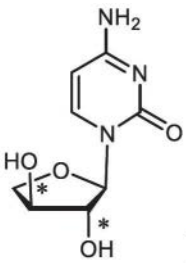

b008Usm15（ ）、


（ ）、

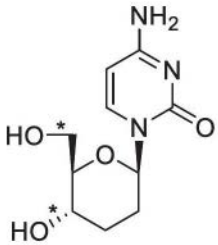
Csm16


（ ）、

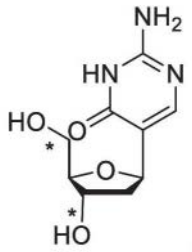
Csm17

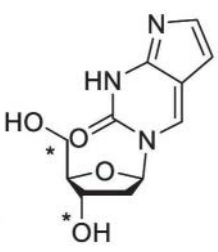

（ ）、

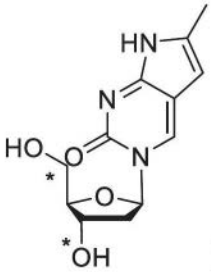
Csm19

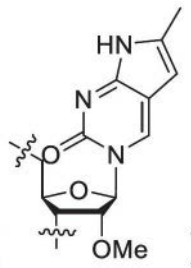
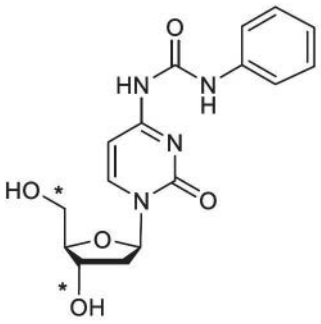
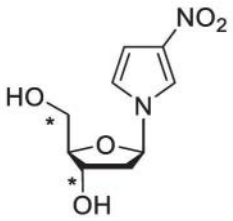
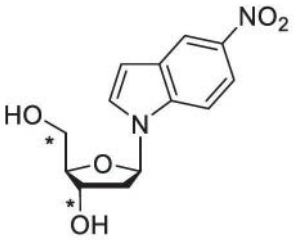
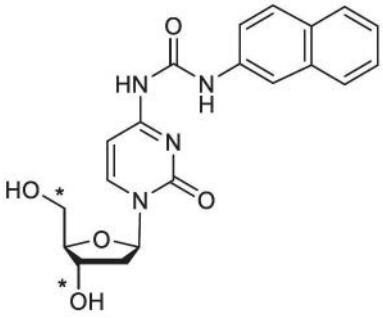
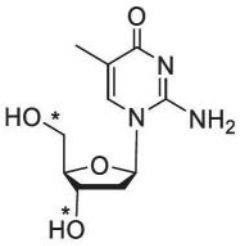
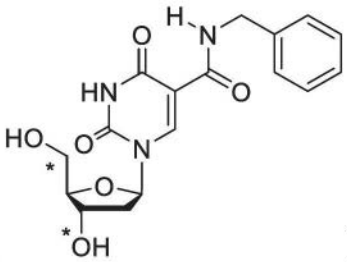
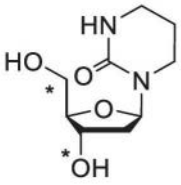
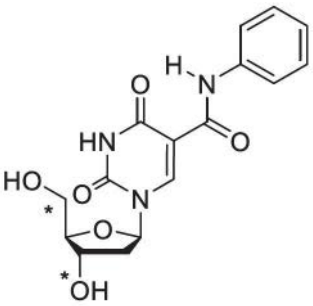
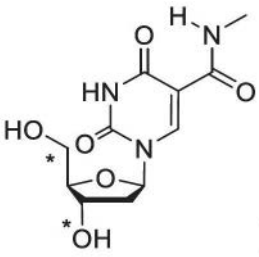
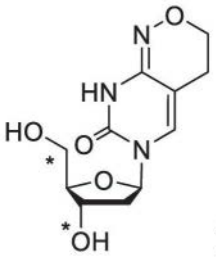
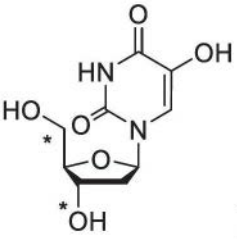
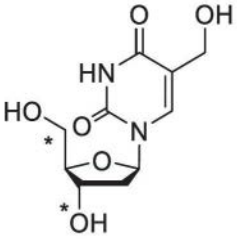
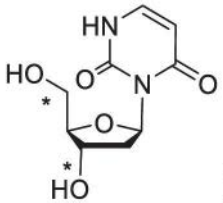
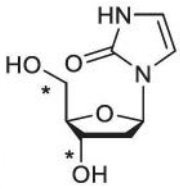
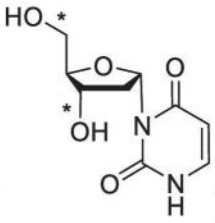
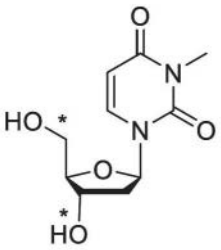

（ ）、

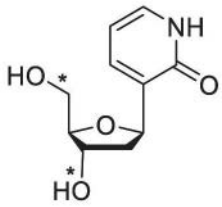
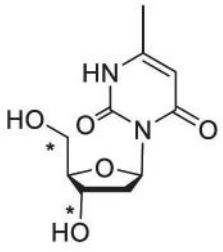
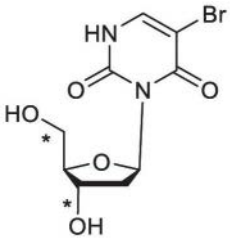
b001C

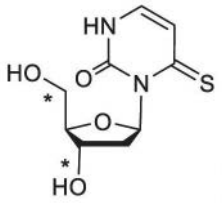
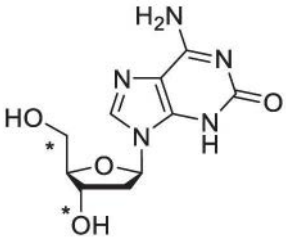

b002C（ ）、

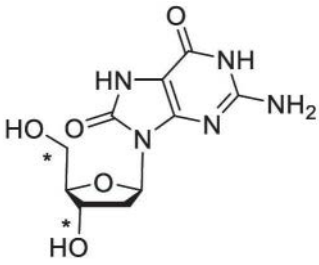
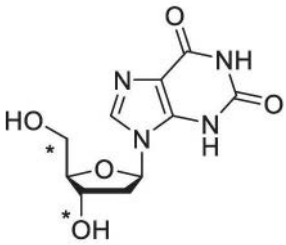

b003C（ ）、

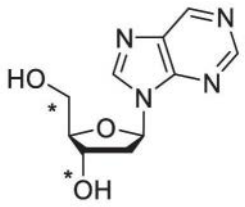
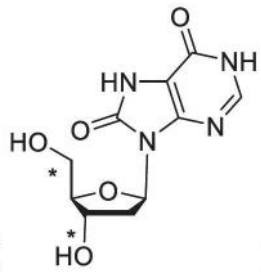
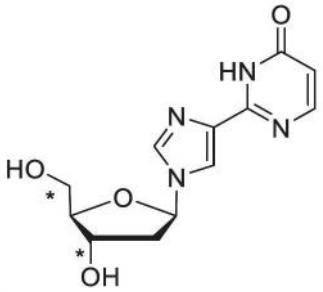

b003mC（ ）、

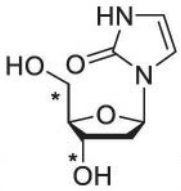
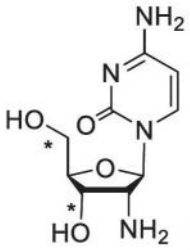

b004C
( )、

( )、
b005C

b006C
( ) 、

b007C
( ) 、

b008C
( ) 、

b001U
( ) 、

( )、
b002U

( )、
b003U

( )、
b004U

( )、
b005U

( )、
b006U

( )、
b007U

( )、
b008U

b009U
( )、

b010U
( )、

( )、
b011U

b012U
( )、

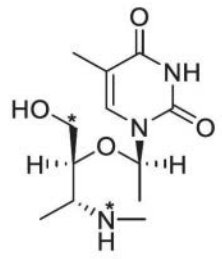
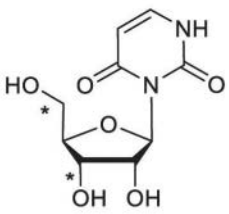
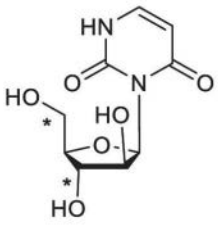
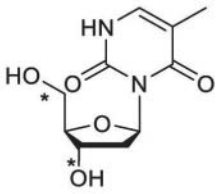

( )、b013U 
( )、b014U 
( )、b015U

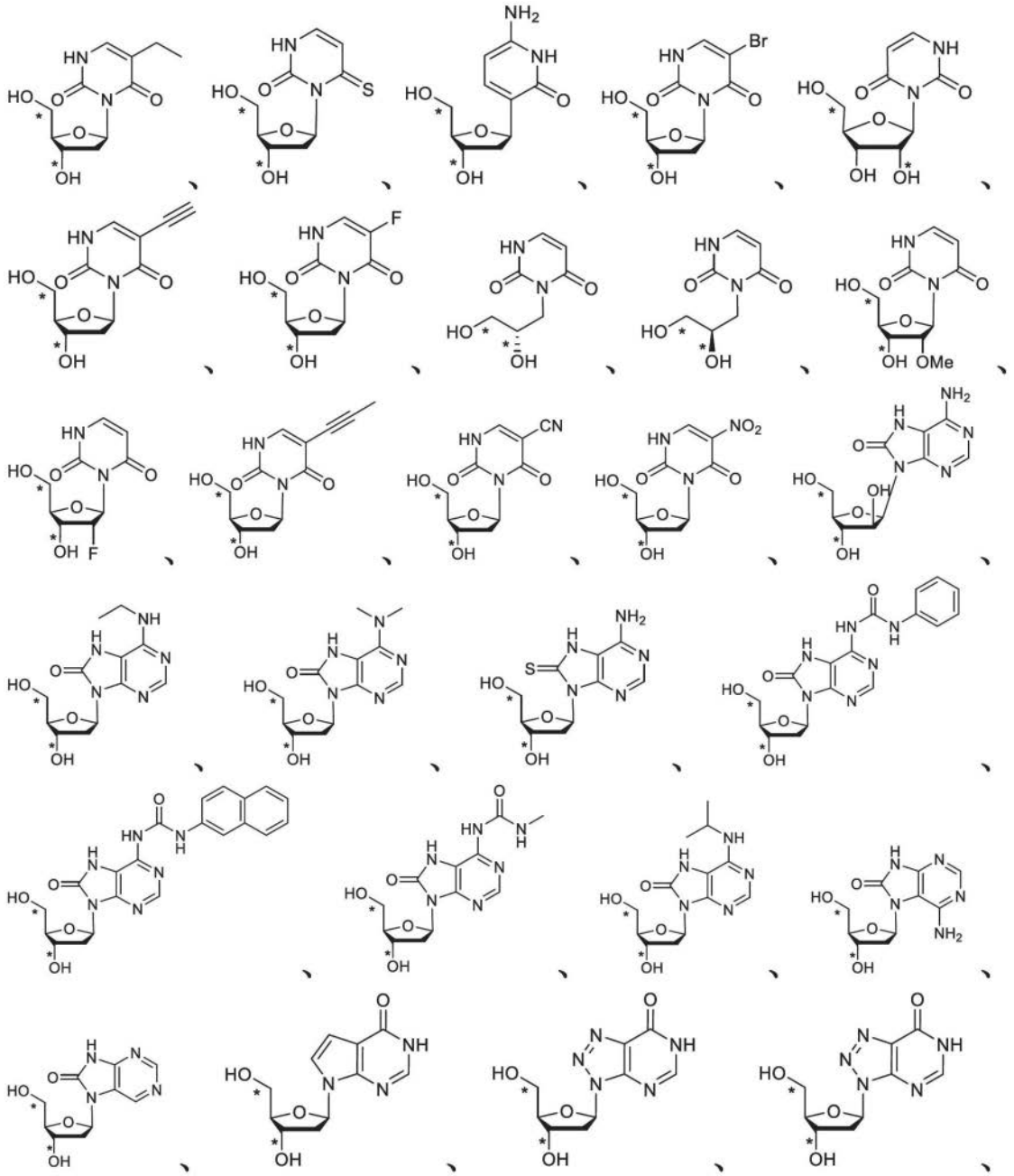

( )、b001G 
( )、b002G

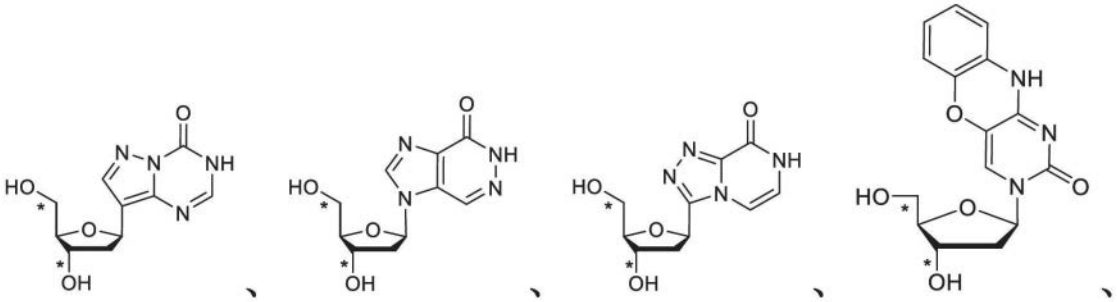
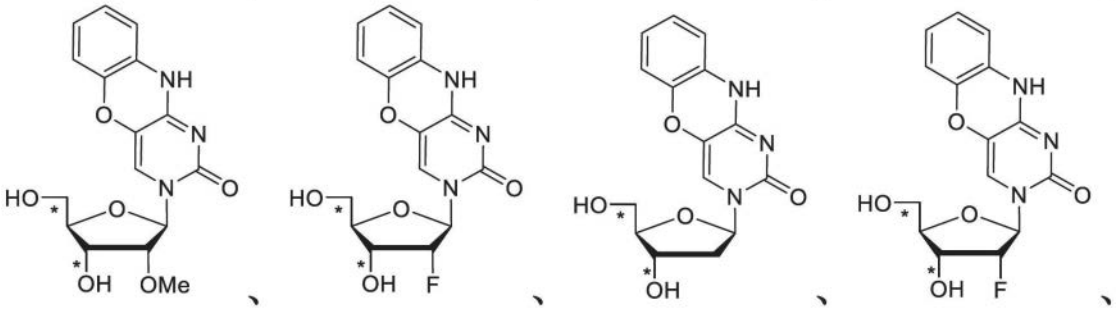
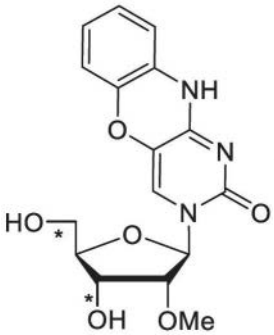

( )、b002I 
( )、b003I


( )、b004I 
( )、b014I 
( )、

b009U 
( )、aC 
( )、Tsm18


( )、
、
、
、



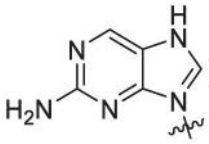
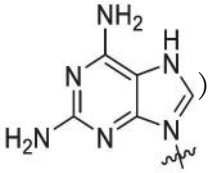




或其盐,其中"*"表示在各种寡核苷酸中时与核苷酸间键联的连接。在一些实施例中,寡核苷酸包含本文所述的核苷。在一些实施例中,核苷通过氮原子(例如,sm01、sm18等)连接至核苷酸间键联,其中氮原子直接连接至键联磷原子。在一些实施例中,本披露提供了如本文所述的核苷单体(例如,Asm01、Gsm01、Tsm18等)。在一些实施例中,本披露提供了如本文所述的核苷的亚磷酰胺。在一些实施例中,这样的单体或亚磷酰胺包含被保护的羟基(例如,DMTrO-)和/或被保护的核碱基(例如,用于寡核苷酸合成)。在一些实施例中,这样的单体或亚磷酰胺包含被保护的羟基(例如,DMTrO-)、任选地被保护的核碱基(例如,用于寡核苷酸合成)和/或手性助剂基团。可用于将各种核苷和/或化合物掺入寡核苷酸中的某些试剂(诸如各种亚磷酰胺)以及利用这样的试剂进行寡核苷酸制备的某些技术(例如循环、条件等)在实例、WO 2021/071858或WO 2022/099159中进行了描述。某些包含经修饰核苷的寡核苷酸及其组合物是利用这样的试剂和技术来制备的,并且在本文中作为实例呈现,例如各个表中的那些,包括表1中的那些。

[0710] 在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的一个或多个经修饰的核碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的经修饰的核碱基的化合物。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的经修饰的核碱基的单体(例如,可用于寡核苷酸合成的单体)。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的经修饰的核碱基的亚磷酰胺。在一些实施例中,亚磷酰胺是CED亚磷酰胺。在一些实施例中,单体包含如本文所述的助剂部分(例如,其中P与O和N、与O和S、与S和S等形成键)。在一些实施例中,亚磷酰胺包含如本文所述的手性助剂部分(例如,其中P与O和N形成键)。在一些实施例中,R^{NS}包含如本

文所述的核碱基。在一些实施例中,R^{NS}包含如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,对核碱基进行保护以用于寡核苷酸合成。

[0711] 在一些实施例中,寡核苷酸包含独立地选自假异胞苷、Benner碱基Z、5-羟基C、5-氨基C和8-氧代A的一种或多种结构。

[0712] 在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的2AP(2-氨基嘌呤,)或DAP(2,6-二氨基嘌呤,)。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的2AP。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的DAP。在一些实施例中,核碱基是2AP。在一些实施例中,核碱基是DAP。

[0713] 如本领域技术人员所理解的,多种核碱基在本领域中是已知的并且可以根据本披露使用,例如,在以下文献中描述的那些:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159,其各自的糖、碱基和核苷酸间键联修饰独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,核碱基被保护并且可用于寡核苷酸合成。

[0714] 在一些实施例中,核碱基是天然核碱基或衍生自天然核碱基的经修饰的核碱基。实例包括任选地其各自的氨基被酰基保护基保护的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶和鸟嘌呤,2-氟尿嘧啶,2-氟胞嘧啶,5-溴尿嘧啶,5-碘尿嘧啶,2,6-二氨基嘌呤,氮杂胞嘧啶,嘧啶类似物(诸如假异胞嘧啶和假尿嘧啶),以及其他经修饰的核碱基(诸如8-取代的嘌呤、黄嘌呤、或次黄嘌呤,后两个是天然降解产物)。经修饰的核碱基的某些实例披露于Chiu和Rana,RNA,2003,9,1034-1048;Limbach等人Nucleic Acids Research[核酸研究],1994,22,2183-2196;以及Revankar和Rao,Comprehensive Natural Products Chemistry[天然产物综合化学],第7卷,313中。在一些实施例中,经修饰的核碱基是取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中,经修饰的核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤的例如就氢键合和/或碱基配对而言的功能代替物。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中,核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。

[0715] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个5-甲基胞嘧啶。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸的碱基序列在本文中例如在表1中披露,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然,并且每个胞嘧啶任选地且独立地被5-甲基胞嘧啶代替,或反之亦然。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,就寡核苷酸的碱基序列而言,可以将5mC视为C-这样的寡核苷酸在C位置包含核碱基修饰(例如,参见表1中的各种寡

核苷酸)。在寡核苷酸的描述中,通常除非另外说明,否则核碱基、糖和核苷酸间键联是未经修饰的。

[0716] 在一些实施例中,经修饰的碱基是任选地经取代的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶或其互变异构体。在一些实施例中,经修饰的核碱基是通过以下方式而被一个或多个修饰所修饰的经修饰的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶:

核碱基被一个或多个独立地选自以下的任选地经取代的基团修饰:酰基、卤素、氨基、叠氮基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂烷基、杂烯基、杂炔基、杂环基、杂芳基、羧基、羟基、生物素、亲和素、链霉亲和素、经取代的甲硅烷基及其组合;

核碱基的一个或多个原子独立地被选自碳、氮和硫的不同原子代替;

核碱基中的一个或多个双键独立地被氢化;或者

一个或多个芳基或杂芳基环独立地插入核碱基中。

[0717] 在一些实施例中,碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,其中一个或多个-NH_2独立地且任选地被-C(-L-R^1)$_3$代替,一个或多个-NH-独立地且任选地被-C(-L-R^1)$_2$-代替,一个或多个=N-独立地且任选地被-C(-L-R^1)-代替,一个或多个=CH-独立地且任选地被=N-代替,并且一个或多个=O独立地且任选地被=S、=N(-L-R^1)或=C(-L-R^1)$_2$代替,其中两个或更多个-L-R^1任选地与居于它们之间的原子合在一起形成具有0-10个杂原子环原子的3-30元双环或多环。在一些实施例中,经修饰的碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,其中一个或多个-NH_2独立地且任选地被-C(-L-R^1)$_3$代替,一个或多个-NH-独立地且任选地被-C(-L-R^1)$_2$-代替,一个或多个=N-独立地且任选地被-C(-L-R^1)-代替,一个或多个=CH-独立地且任选地被=N-代替,且一个或多个=O独立地且任选地被=S、=N(-L-R^1)或=C(-L-R^1)$_2$代替,其中两个或更多个-L-R^1任选地与居于它们之间的原子合在一起形成具有0-10个杂原子环原子的3-30元双环或多环,其中经修饰的碱基不同于天然A、T、C、G和U。在一些实施例中,碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,经修饰碱基是经取代的A、T、C、G或U,其中经修饰的碱基不同于天然A、T、C、G和U。

[0718] 在一些实施例中,经修饰的核碱基是本领域(例如,WO 2017/210647)中已知的经修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是其中已添加一个或多个芳基和/或杂芳基环(诸如苯环)的尺寸扩大的核碱基。在以下文献中描述了经修饰的核碱基的某些实例,包括核碱基代替物:Glen研究目录(弗吉尼亚州斯特林的格兰研究公司(Glen Research,Sterling,Virginia));Krueger AT等人,Acc.Chem.Res.[化学研究评述],2007,40,141-150;Kool,ET,Acc.Chem.Res.[化学研究评述],2002,35,936-943;Benner S.A.等人,Nat.Rev.Genet.[遗传学自然评论],2005,6,553-543;Romesberg,F.E.等人,Curr.Opin.Chem.Biol.[化学生物学新见],2003,7,723-733;或Hirao,I.,Curr.Opin.Chem.Biol.[化学生物学新见],2006,10,622-627。在一些实施例中,尺寸扩大的核碱基是例如WO 2017/210647中描述的尺寸扩大的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是诸如咕啉或卟啉衍生的环之类的部分。某些卟啉衍生的碱基代替物已描述于例如Morales-Rojas,H和Kool,ET,Org.Lett.[有机快报],2002,4,4377-4380中。在一些实施例中,卟啉衍生的环是例如WO 2017/219647中描述的卟啉衍生的环。在一些实施例中,经修饰的核碱基是在例如WO 2017/219647中描述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是荧光的。这样的发荧光的经修饰的核碱基的实例包括菲、芘、芪(stillbene)、异黄

嘌呤、异黄蝶呤、三联苯、三噻吩、苯并三噻吩、香豆素、二氧四氢蝶啶、系拴芪(tethered stillbene)、苯并尿嘧啶、萘并尿嘧啶等,以及例如WO 2017/210647中描述的那些。在一些实施例中,核碱基或经修饰的核碱基选自:C5-丙炔T、C5-丙炔C、C5-噻唑、吩噁嗪、2-硫代胸腺嘧啶、5-三唑基苯基胸腺嘧啶、二氨基嘌呤和N2-氨基丙基鸟嘌呤。

[0719] 在一些实施例中,经修饰的核碱基选自5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶、烷基或炔基取代的嘧啶、烷基取代的嘌呤,以及N-2、N-6和O-6取代的嘌呤。在某些实施例中,经修饰的核碱基选自2-氨基丙基腺嘌呤、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-N-甲基鸟嘌呤、6-N-甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH_3)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-氮尿嘧啶、6-氮胞嘧啶、6-氮胸腺嘧啶、5-核糖基尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代嘌呤、8-氨基嘌呤、8-硫醇嘌呤、8-硫代烷基嘌呤、8-羟基嘌呤、8-氮杂嘌呤及其他8-取代的嘌呤、5-卤代、特别是5-溴、5-三氟甲基、5-卤代尿嘧啶及5-卤代胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤、7-脱氮腺嘌呤、3-脱氮鸟嘌呤、3-脱氮腺嘌呤、6-N-苯甲酰基腺嘌呤、2-N-异丁酰基鸟嘌呤、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基尿嘧啶、5-甲基4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基4-N-苯甲酰基尿嘧啶、通用碱基、疏水性碱基、混杂碱基、尺寸扩大的碱基,以及氟化碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是三环嘧啶,诸如1,3-二氮杂吩噁嗪-2-酮、1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮或9-(2-氨基乙氧基)-1,3-二氮杂吩噁嗪-2-酮(G形夹(G-clamp))。在一些实施例中,经修饰的核碱基是其中嘌呤或嘧啶碱基被其他杂环代替的那些核碱基,例如,7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟苷、2-氨基吡啶或2-吡啶酮。在一些实施例中,经修饰的核碱基是在以下文献中披露的那些:US 3687808,The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering[聚合物科学与工程简明百科全书],Kroschwitz,J.I.编辑,John Wiley& Sons[约翰威利父子公司],1990,858-859;Englisch等人,Angewandte Chemie, International Edition[应用化学国际版],1991,30,613;Sanghvi,Y.S.,第15章,Antisense Research and Applications[反义研究与应用],Crooke,S.T.和Lebleu,B.编辑,CRC Press[CRC出版社],1993,273-288;或第6章和第15章,Antisense Drug Technology[反义药物技术],Crooke S.T.编辑,CRC Press[CRC出版社],2008,163-166和442-443。

[0720] 在一些实施例中,经修饰的核碱基及其方法是在US 20030158403、US 3687808、US 4845205、US 5130302、US 5134066、US 5175273、US 5367066、US 5432272、US 5434257、US 5457187、US 5459255、US 5484908、US 5502177、US 5525711、US 5552540、US 5587469、US 5594121、US 5596091、US 5614617、US 5645985、US 5681941、US 5750692、US 5763588、US 5830653或US 6005096中描述的那些。

[0721] 在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的,使得其含有例如连接到荧光部分、生物素或亲和素部分、或其他蛋白或肽的杂原子、烷基或连接部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是并非最经典意义上的核碱基,但功能类似于核碱基的“通用碱基”。通用碱基的一个实例是3-硝基吡咯。

[0722] 在一些实施例中,可用于所提供的技术中的核苷包括经修饰的核碱基和/或经修饰的糖,例如4-乙酰基胞苷;5-(羧基羟甲基)尿苷;2’-O-甲基胞苷;5-羧甲基氨基甲基-2-硫代尿苷;5-羧甲基氨基甲基尿苷;二氢尿苷;2’-O-甲基假尿苷;β,D-半乳糖基Q核苷;2’-

O-甲基鸟苷;N^6-异戊烯基腺苷;1-甲基腺苷;1-甲基假尿苷;1-甲基鸟苷;1-甲基肌苷;2,2-二甲基鸟苷;2-甲基腺苷;2-甲基鸟苷;N^7-甲基鸟苷;3-甲基-胞苷;5-甲基胞苷;5-羟甲基胞苷;5-甲酰基胞嘧啶;5-羧基胞嘧啶;N^6-甲基腺苷;7-甲基鸟苷;5-甲基氨基乙基尿苷;5-甲氧基氨基甲基-2-硫代尿苷;β,D-甘露糖基Q核苷;5-甲氧基羰基甲基尿苷;5-甲氧基尿苷;2-甲基硫代-N^6-异戊烯基腺苷;N-((9-β,D-呋喃核糖基-2-甲基硫代嘌呤-6-基)氨甲酰基)苏氨酸;N-((9-β,D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)-N-甲基氨甲酰基)苏氨酸;尿苷-5-氧基乙酸甲酯;尿苷-5-氧基乙酸(v);假尿苷;Q核苷;2-硫代胞苷;5-甲基-2-硫代尿苷;2-硫代尿苷;4-硫代尿苷;5-甲基尿苷;2′-O-甲基-5-甲基尿苷;以及2′-O-甲基尿苷。

[0723] 在一些实施例中,核碱基例如经修饰的核碱基包含一个或多个生物分子结合部分,诸如抗体、抗体片段、生物素、亲和素、链霉亲和素、受体配体或螯合部分。在其他实施例中,核碱基是5-溴尿嘧啶、5-碘尿嘧啶或2,6-二氨基嘌呤。在一些实施例中,核碱基包含被荧光或生物分子结合部分进行的取代。在一些实施例中,取代基是荧光部分。在一些实施例中,取代基是生物素或亲和素。

[0724] 核碱基的某些实例及相关方法在US 3687808、4845205、US 513030、US 5134066、US 5175273、US 5367066、US 5432272、US 5457187、US 5457191、US 5459255、US 5484908、US 5502177、US 5525711、US 5552540、US 5587469、US 5594121、US 5596091、US 5614617、US 5681941、US 5750692、US 6015886、US 6147200、US 6166197、US 6222025、US 6235887、US 6380368、US 6528640、US 6639062、US 6617438、US 7045610、US 7427672、US或US 7495088中描述。

[0725] 在一些实施例中,寡核苷酸包含在以下任一文献中描述的核碱基、糖、核苷和/或核苷酸间键联:Gryaznov,S;Chen,J.-K.J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]1994,116,3143;Hendrix等人1997 Chem.Eur.J.[欧洲化学杂志]3:110;Hyrup等人1996 Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学]4:5;Jepsen等人2004 Oligo.[寡核苷酸]14:130-146;Jones等人J.Org.Chem.[有机化学杂志]1993,58,2983;Koizumi等人2003 Nuc.Acids Res.[核酸研究]12:3267-3273;Koshkin等人1998 Tetrahedron[四面体]54:3607-3630;Kumar等人1998 Bioo.Med.Chem.Let.[生物有机化学与医药化学快报]8:2219-2222;Lauritsen等人2002 Chem.Comm.[化学通讯]5:530-531;Lauritsen等人2003 Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]13:253-256;Mesmaeker等人Angew.Chem.,Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]1994,33,226;Morita等人2001 Nucl.Acids Res.[核酸研究]增刊1:241-242;Morita等人2002 Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]12:73-76;Morita等人2003 Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]2211-2226;Nielsen等人1997 Chem.Soc.Rev.[化学学会评论]73;Nielsen等人1997 J.Chem.Soc.Perkins Transl.[化学学会杂志博金斯译版]1:3423-3433;Obika等人1997 Tetrahedron Lett.[四面体快报]38(50):8735-8;Obika等人1998 Tetrahedron Lett.[四面体快报]39:5401-5404;Pallan等人2012 Chem.Comm.[化学通讯]48:8195-8197;Petersen等人2003 TRENDS Biotech.[生物技术趋势]21:74-81;Rajwanshi等人1999 Chem.Commun.[化学通讯]1395-1396;Schultz等人1996 Nucleic Acids Res.[核酸研究]24:2966;Seth等人2009 J.Med.Chem.[药物化学杂志]52:10-13;Seth等人2010 J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:8309-8318;Seth等人2010 J.Org.Chem.[有机化学杂志]75:1569-1581;Seth等人2012

Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]22:296-299;Seth等人2012 Mol.Ther-Nuc.Acids.[分子疗法-核酸]1,e47;Seth,Punit P;Siwkowski,Andrew;Allerson,Charles R;Vasquez,Guillermo;Lee,Sam;Prakash,Thazha P;Kinberger,Garth;Migawa,Michael T;Gaus,Hans;Bhat,Balkrishen;等人,来自Nucleic Acids Symposium Series[核酸研讨会丛刊](2008),52(1),553-554;Singh等人1998 Chem.Comm.[化学通讯]1247-1248;Singh等人1998 J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:10035-39;Singh等人1998 J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:6078-6079;Sorensen 2003 Chem.Comm.[化学通讯]2130-2131;Ts′o等人Ann.N.Y.Acad.Sci.[纽约科学院年刊]1988,507,220;Van Aerschot等人1995 Angew.Chem.Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]34:1338;Vasseur等人J.Am.Chem.Soe.[美国化学会志],1992,114,4006;WO 2007090071;或WO 2016/079181。

[0726] 在一些实施例中,寡核苷酸包含在以下任一文献中描述的经修饰的核碱基、核苷或核苷酸:Feldman等人2017 J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]139:11427-11433,Feldman等人2017 Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]114:E6478-E6479,Hwang等人.2009 Nucl.Acids Res.[核酸研究]37:4757-4763,Hwang等人2008 J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]130:14872-14882,Lavergne等人2012 Chem.Eur.J.[欧洲化学杂志]18:1231-1239,Lavergne等人2013 J.Am.Chem.Soe.[美国化学会志]135:5408-5419,Ledbetter等人2018 J.Am.Chem.Soe.[美国化学会志]140:758-765,Malyshev等人.2009 J.Am.Chem.Soe.[美国化学会志]131:14620-14621,Seo等人2009 Chem.Bio.Chem.[化学生物化学]10:2394-2400,例如d3FB、d2Py类似物、d2Py、d3MPy、d4MPy、d5MPy、d34DMPy、d35DMPy、d45DMPy、d5FM、d5PrM、d5SICS、dFEMO、dMMO2、dNaM、dNM01、dTPT3;具有2′-叠氮基糖、2′-氯基糖、2′-氨基糖或阿拉伯糖的核苷酸;异喹诺酮核苷酸、萘基核苷酸及氮杂吲哚核苷酸;以及其修饰及衍生物及官能化形式,例如其中糖包含2′修饰和/或其他修饰的那些,以及具有间氯、间溴、间碘、间甲基或间丙炔基取代基的dMMO2衍生物。

[0727] 在一些实施例中,核碱基包含至少一个任选地经取代的环,该环包含杂原子环原子。在一些实施例中,核碱基包含至少一个任选地经取代的环,该环包含氮环原子。在一些实施例中,这样的环是芳族的。在一些实施例中,核碱基通过杂原子键合到糖。在一些实施例中,核碱基通过氮原子键合到糖。在一些实施例中,核碱基通过环氮原子键合到糖。

[0728] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如下描述的核碱基或经修饰的核碱基:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的碱基和经修饰的核碱基独立地通过援引并入本文。

[0729] 在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的嘌呤碱基残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的嘌呤碱基残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的腺嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的腺嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的鸟嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的鸟嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的胸腺嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的胸腺嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的尿嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是

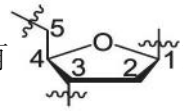
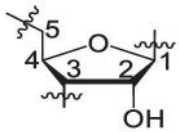
被保护的尿嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的5-甲基胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的5-甲基胞嘧啶残基。

[0730] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含例如在以下文献中描述的经修饰的核碱基:US 5552540、US 6222025、US 6528640、US 4845205、US 5681941、US 5750692、US 6015886、US 5614617、US 6147200、US 5457187、US 6639062、US 7427672、US 5459255、US 5484908、US 7045610、US 3687808、US 5502177、US 5525711 6235887、US 5175273、US 6617438、US 5594121、US 6380368、US 5367066、US 5587469、US 6166197、US 5432272、US 7495088、US 5134066或US 5596091。在一些实施例中,核碱基描述于WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中,并且可以根据本披露来使用。

[0731] 在一些实施例中,核碱基是如用于寡核苷酸制备中的被保护的碱基残基。在一些实施例中,核碱基是在US 2011/0294124、US 2015/0211006、US 2015/0197540、WO 2015/107425、WO 2017/192679、WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159中展示的碱基残基,其各自的碱基残基独立地通过援引并入本文。

糖

[0732] 根据本披露,可以使用多种糖,包括经修饰的糖。在一些实施例中,本披露任选地与其他结构元件(例如,核苷酸间键联修饰及其模式、其骨架手性中心模式等)组合地提供糖修饰及其模式,这些其他结构元件在掺入寡核苷酸中时可以提供改善的特性和/或活性。

[0733] 最常见的天然存在的核苷包括连接到核碱基腺苷(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)的核糖(例如,在RNA中)或脱氧核糖(例如,在DNA中)。在一些实施例中,糖,例如表1中的许多寡核苷酸中的各种糖(除非另外说明),是DNA核酸或寡核苷酸中的天然DNA糖,其具有的结构,其中核碱基连接到1′位并且3′和5′位连接到核苷酸间键联(如本领域技术人员所理解的,如果在寡核苷酸的5′-末端,则5′位可以连接到5′-末端基团(例如,-OH),并且如果在寡核苷酸的3′-末端,则3′位可以连接到3′-末端基团(例如,-OH))。在一些实施例中,糖是在RNA核酸或寡核苷酸中的天然RNA糖,其具有的结构,其中核碱基连接到1′位并且3′和5′位连接到核苷酸间键联(如本领域技术人员所理解的,如果在寡核苷酸的5′-末端,则5′位可以连接到5′-末端基团(例如,-OH),并且如果在寡核苷酸的3′-末端,则3′位可以连接到3′-末端基团(例如,-OH))。在一些实施例中,糖是经修饰的糖,因为它不是天然DNA糖或天然RNA糖。尤其是,经修饰的糖可以提供改善的稳定性。在一些实施例中,经修饰的糖可用于改变和/或优化一种或多种杂交特性。在一些实施例中,经修饰的糖可用于改变和/或优化靶核酸识别。在一些实施例中,经修饰的糖可以用于优化Tm。在一些实施例中,经修饰的糖可用于改善寡核苷酸活性。

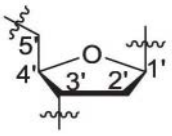
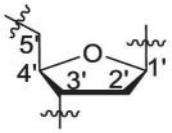
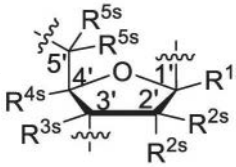
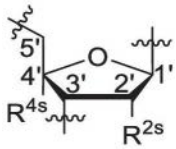
[0734] 本披露尤其展示了可以根据本披露使用各种非天然RNA糖,例如天然DNA糖、各种经修饰的糖等。例如,可以在不同位置耐受一种或多种天然DNA糖。在一些实施例中,一种或多种天然DNA糖的掺入提供增加的编辑水平,或增加的ADAR1(p110、p150或两者)、ADAR2或两者的编辑水平。在一些实施例中,ADAR1的编辑得到改进。在一些实施例中,N_{-3}、N_{-1}、N_1、N_4、N_5、N_7、N_8、N_{10}、N_{12}、N_{13}、N_{14}、N_{15}、N_{16}、N_{17}、N_{18}、N_{20}和N_{21}中的一种或多种糖独立地是天然DNA糖(-(例如,N_{-1}):从N_0开始计数至寡核苷酸的3′-末端;+或只是一个数字(例如,N_1):从N_0开始计数至寡核苷酸的5′-末端;每个N_{NZ}独立地为核苷,其中NZ为从例如约-100、-90、-80、-70、-60、-50、-40、-30、-20、-10、-9、-8、-7、-6、-5、-4等起的整数)。在一些实施例中,N_{-3}、N_{-1}、N_0、N_1、N_4、N_5、N_7、N_8、N_{10}、N_{12}、N_{13}、N_{14}、N_{15}、N_{16}、N_{17}、N_{18}、N_{20}和N_{21}中的一种或多种糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{-1}、N_5、N_{11}、N_{12}和N_{20}中的一种或多种糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_0的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_5的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{11}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N_{12}的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖在一个或多个位置是耐受的。在一些实施例中,在一个或多个或大部分位置处使用2’-修饰的糖,例如2’-F和/或2’-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族(例如甲基)。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用经修饰的糖。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用2’-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族(例如甲基)。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用经修饰的糖,并且在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’中使用一种或多种2’-F修饰的糖、天然DNA糖和/或天然RNA糖。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用经修饰的糖,并且5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’中的每个糖独立地是2’-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用经修饰的糖,并且5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’中的每个糖独立地是2’-F修饰的糖或天然DNA糖。在一些实施例中,在5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’的一个或多个或大部分或所有位置处使用经修饰的糖,并且5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’中的每个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖,例如2’-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基)提供增加的编辑水平,或增加的ADAR1(p110、p150或两者)、ADAR2或两者的编辑水平。在一些实施例中,ADAR2的编辑得到改进。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,双环糖可以在使用2’-OR糖的一个或多个或所有位置处使用,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,2′-OR是2′-OMe。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,大部分是至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如,55%-100%、60%-100%、70-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、51%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%等)。

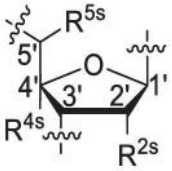
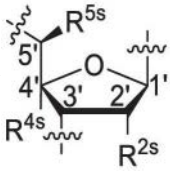
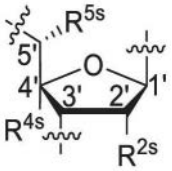
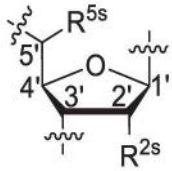
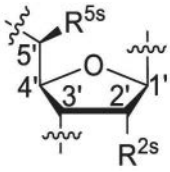
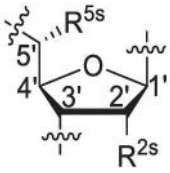
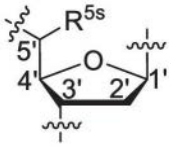
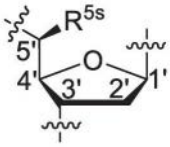
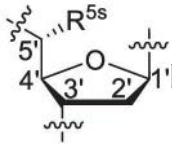
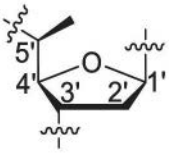
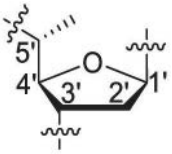
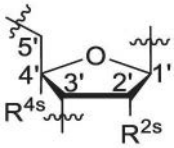
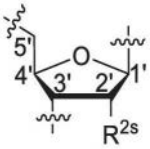
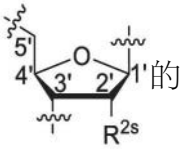
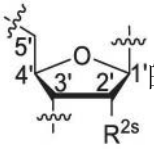
[0735] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第一结构域的前几个(例如,1-10、1、2、3、4或5个等)糖(除非另外说明,否则从5’-末端开始)中的一个或多个(例如,1-10、1、2、3、4或5个等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,前几个糖中的每一个独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第一结构域的前一个、两个或三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第一个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,前两个糖独立地是经

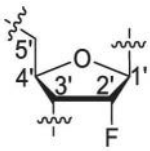
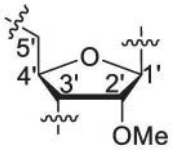
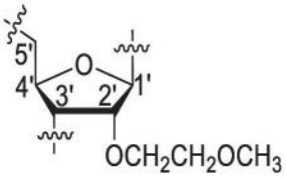
修饰的糖。在一些实施例中,前三个糖独立地是经饰的糖(例如WV-27458)。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

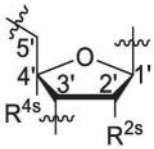
[0736] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第二结构域或第三子结构域的最后几个(例如,1-10、1、2、3、4或5个等)糖(除非另外说明,否则从5'-末端开始)中的一个或多个(例如,1-10、1、2、3、4或5个等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖中的每一个独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第二结构域或第三子结构域的最后一个、两个或三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后一个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,最后两个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后四个糖独立地是经修饰的糖(例如WV-27458)。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

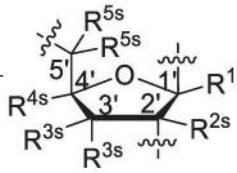
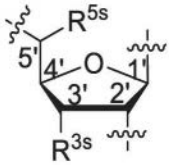
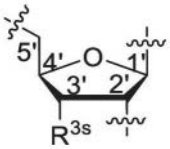
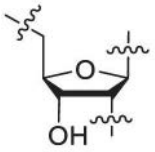
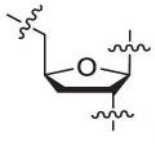
[0737] 糖可以在多种位置键合到核苷酸间键联上。作为非限制性实例,核苷酸间键联可以键合到糖的2′、3′、4′或5′位。在一些实施例中,如天然核酸中最常见的,除非另外指明,否则核苷酸间键联在5′位与一个糖并且在3′位与另一个糖连接。

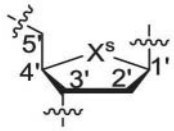
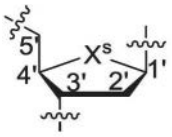
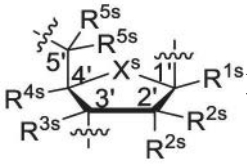
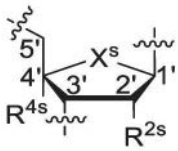
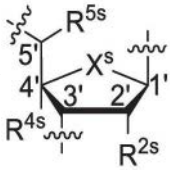
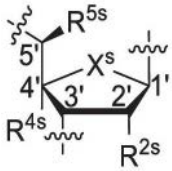
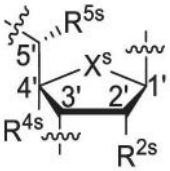
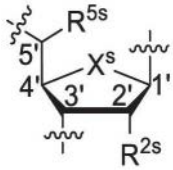
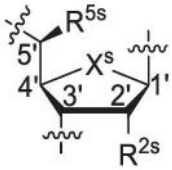
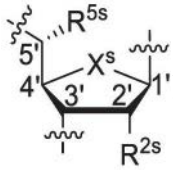
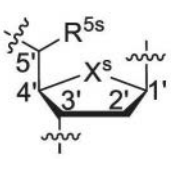
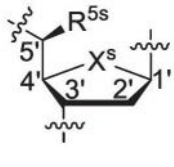
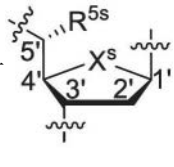
[0738] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,糖是任选地经取代的。在一些实施例中,2′位置是任选地经取代的。在一些实施例中,糖是。在一些实施例中,糖具有或的结构,其中R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}、和R^{5s}中的每一个独立地是-H、合适的取代基或合适的糖修饰(例如,US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159中描述的那些,其各自的取代基,糖修饰,R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}的描述,以及经修饰的糖独立地通过援引并入本文)。在一些实施例中,R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}各自独立地是R^s,其中每个R^s独立地是-F、-Cl、-Br、-I、-CN、$-N_3$、-NO、$-NO_2$、$-L^s-R'$、$-L^s-OR'$、$-L^s-SR'$、$-L^s-N(R')_2$、$-O-L^s-OR'$、$-O-L^s-SR'$、或$-O-L^s-N(R')_2$,其中每

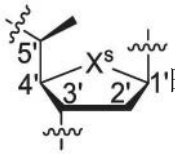
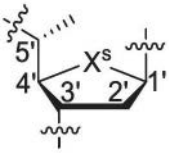
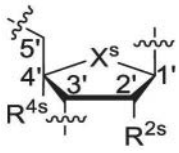
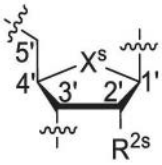
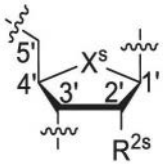
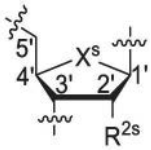
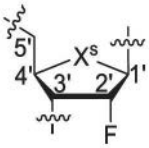
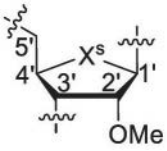
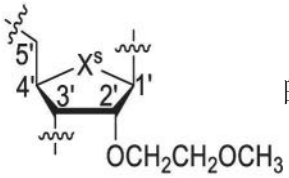
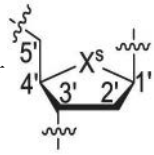
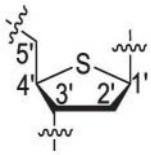
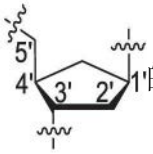
个R′独立地如本文所述,并且每个L^s独立地是共价键或任选地经取代的二价C_{1-6}脂肪族基或具有1至4个杂原子的杂脂肪族基;或两个R^s合在一起形成桥-L^s-。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{5s}是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R^{5s}是甲基。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。表1中使用了多种这样的糖。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,2′-修饰的糖具有的结构,其中R^{2s}是2′-修饰。在一些实施例中,糖具有的结构,其中R^{2s}是-H、卤素或-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^{2s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,R^{2s}是-OMe。在一些实施例中,经修饰的核苷是mA、mT、mC、m5mC、mG、mU等,其中R^{2s}是-OMe。

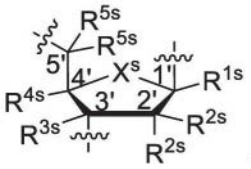
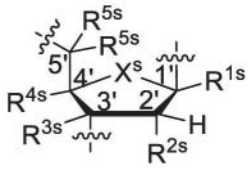
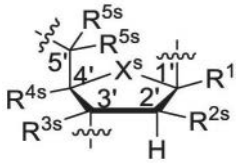
在一些实施例中，R^{2s}是-OCH_2CH_2OMe。在一些实施例中，经修饰的核苷是Aeo、Teo、Ceo、m5Ceo、Geo、Ueo等，其中R^{2s}是-OCH_2CH_2OMe。在一些实施例中，R^{2s}是-OCH_2CH_2OH。在一些实施例中，寡核苷酸包含具有以下结构的2'-F修饰的糖：（例如，如在fA、fT、fC、f5mC、fG、fU等中）。在一些实施例中，寡核苷酸包含具有以下结构的2'-OMe修饰的糖：（例如，如在mA、mT、mC、m5mC、mG、mU等中）。在一些实施例中，寡核苷酸包含具有以下结构的2'-MOE修饰的糖：（例如，如在Aeo、Teo、Ceo、m5Ceo、Geo、Ueo等中）。

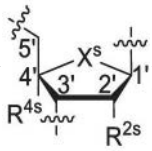
[0739] 在一些实施例中，糖具有的结构，其中R^{2s}和R^{4s}合在一起形成-L^s-，其中L^s是共价键或任选地经取代的二价C_{1-6}脂肪族或具有1-4个杂原子的杂脂肪族基。在一些实施例中，每个杂原子独立地选自氮、氧或硫）。在一些实施例中，L^s是任选地经取代的C2-O-CH_2-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-CH_2-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-(R)-$CH(CH_2CH_3)$-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-(S)-$CH(CH_2CH_3)$-C4。

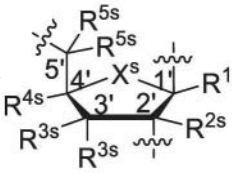
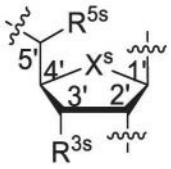
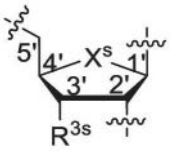
[0740] 在一些实施例中，糖具有的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，糖具有的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{5s}是-H。在一些实施例中，糖具有的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{3s}是-OH。在一些实施例中，R^{3s}是-H。在一些实施例中，糖是。在一些实施例中，糖是。

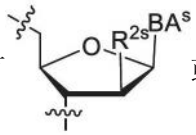
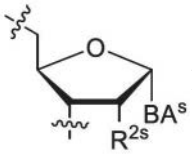
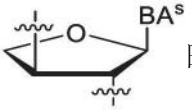
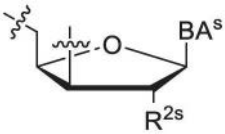
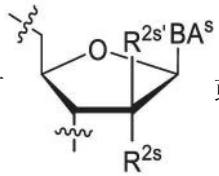
[0741] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的其中X^s是-S-、-Se-或任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中,2′位置是任选地经取代的。在一些实施例中,糖是。在一些实施例中,糖具有或的结构,其中R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}中的每一个独立地是-H、合适的取代基或合适的糖修饰(例如,US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159中描述的那些,其各自的取代基,R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}的描述,和经修饰的糖独立地通过援引并入本文)。在一些实施例中,R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}各自独立地是R^s,其中每个R^s独立地是-F、-Cl、-Br、-I、-CN、$-N_3$、-NO、$-NO_2$、$-L^s-R'$、$-L^s-OR'$、$-L^s-SR'$、$-L^s-N(R')_2$、$-O-L^s-OR'$、$-O-L^s-SR'$、或$-O-L^s-N(R')_2$,其中每个R′独立地如本文所述,并且每个L^s独立地是共价键或任选地经取代的二价C_{1-6}脂肪族基或具有1至4个杂原子的杂脂肪族基;或两个R^s合在一起形成桥$-L^s-$。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,糖具有的结构。在一些实施例中,R^{5s}是

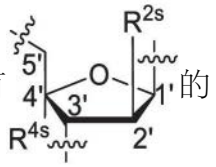
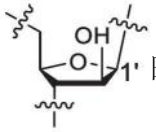
任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中，R^{5s}是任选地经取代的甲基。在一些实施例中，R^{5s}是甲基。在一些实施例中，糖具有的结构。在一些实施例中，糖具有的结构。在一些实施例中，糖具有的结构。表1中使用了多种这样的糖。在一些实施例中，糖具有的结构。在一些实施例中，2′-修饰的糖具有的结构，其中R^{2s}是2′-修饰。在一些实施例中，糖具有的结构，其中R^{2s}是-H、卤素或-OR，其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，R^{2s}是-H。在一些实施例中，R^{2s}是-F。在一些实施例中，R^{2s}是-OMe。在一些实施例中，R^{2s}是$-OCH_2CH_2OMe$。在一些实施例中，R^{2s}是$-OCH_2CH_2OH$。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。在一些实施例中，X^s是-S-。在一些实施例中，X^s是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中，X^s是$-CH_2-$。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。在一些实施例中，经修饰的糖具有的结构。

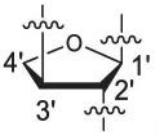
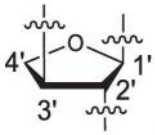
[0742] 在一些实施例中，糖具有  、  或  的结构，其中每个R^{2s}独立地为-H、-F、-OH或$-OR^{ak}$，其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基，并且其他变量各自独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{1s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}中的每一个独立地是-H。在一些实施例中，R^{1s}、R^{3s}和R^{4s}中的每一个以及R^{5s}之一独立地是-H，并且另一个R^{5s}独立地是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，R^{5s}的出现是C_{1-6}脂肪族基，例如甲基。在一些实施例中，R^{2s}是-H。在一些实施例中，R^{2s}是-F。在一些实施例中，R^{2s}是--OR^{ak}。在一些实施例中，R^{2s}是-OMe。在一些实施例中，R^{2s}是$-OCH_2CH_2CH_3$。在一些实施例中，至少一个出现的R^{2s}是-H。在一些实施例中，至少一个出现的R^{2s}不是-H。在一些实施例中，X^s是-O-。在一些实施例中，X^s是-S-。在一些实施例中，X^s是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中，X^s是$-CH_2-$。

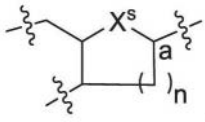
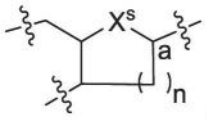
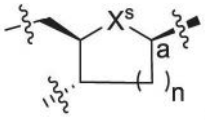
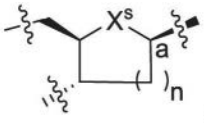
[0743] 在一些实施例中，糖具有  的结构，其中R^{2s}和R^{4s}合在一起形成$-L^s-$，其中L^s是共价键或任选地经取代的二价C_{1-6}脂肪族或具有1-4个杂原子的杂脂肪族基。在一些实施例中，每个杂原子独立地选自氮、氧或硫)。在一些实施例中，L^s是任选地经取代的C2-O-CH_2-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-CH_2-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-(R)-$CH(CH_2CH_3)$-C4。在一些实施例中，L^s是C2-O-(S)-$CH(CH_2CH_3)$-C4。在一些实施例中，X^s是-S-。在一些实施例中，X^s是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中，X^s是$-CH_2-$。在一些实施例中，X^s是-Se-。

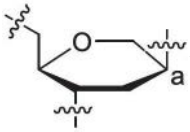
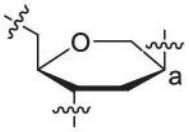
[0744] 在一些实施例中，糖具有  的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，糖具有  的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{5s}是-H。在一些实施例中，糖具有  的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{3s}是-OH。在一些实施例中，R^{3s}是-H。在一些实施例中，X^s是-S-。在一些实施例中，X^s是任选地经取代的$-CH_2-$。在一些实施例中，X^s是$-CH_2-$。

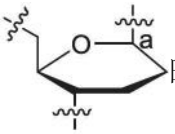
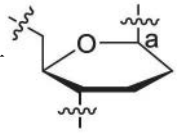
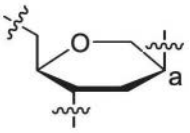
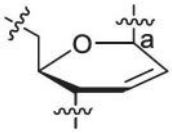
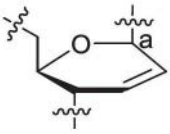
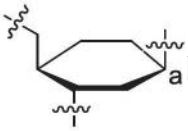
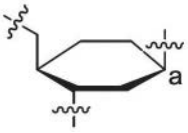
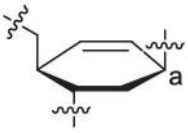
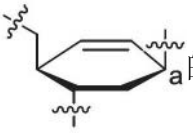
[0745] 在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中BA^s是-H或任选地经取代的或被保护的核碱基(例如,BA),并且R^{2s}如本文所述。在一些实施例中,R^{2s}是-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,BA^s是-H。在一些实施例中,BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,BA^s是BA。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{2s}是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,R^{2s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有的结构,其中每个变量是如本文所述的。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{2s}是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,R^{2s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中$R^{2s'}$是R^s,并且R^s、R^{2s}和BA^s中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{2s}和$R^{2s'}$各自独立地是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,R^{2s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}是-OH。在一些实施例中,R^{2s}是卤素。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,R^{2s}是任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,$R^{2s'}$是-H。在一些实施例中,$R^{2s'}$是-OH。在一些实施例中,$R^{2s'}$是卤素。在一些实施例中,$R^{2s'}$是-F。在一些实施例中,$R^{2s'}$是任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,BA^s是-H。在一些实施例中,BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,BA^s是BA。在一些实施例中,核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。某些这样的包括糖和核碱基的核苷及其用途在WO 2020/154342中描述。在一些实施例中,寡核苷酸包含阿拉伯糖苷、2'-脱氧-2'-氟-阿拉伯糖苷、2'-OR阿拉伯糖苷、脱氧胞苷、DNA-无碱基、RNA-无碱基或2'-OR无碱基,其中R不是氢(例如,任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基)。在一些实施例中,2′-OR是2′-OMe。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸包含2'-O-甲基-阿拉伯胞苷(amC)。在一些实施例中,寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中,单体包含这样的核苷。在一些实施例中,亚磷酰胺包含这样的核苷(在一些实施例中,一个连接位点(例如,-CH_2-连接位点)键合到任选地经取代的-OH,例如,(-ODMTr),并且一个连接位点(例如,环连接位点)键合到也键合到亚磷酰胺的P的O)。在一些实施例中,5′紧邻核

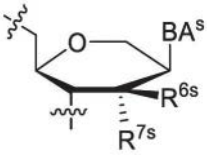
苷(例如,N_1)、相反核苷(N_0)和3′紧邻核苷(例如,N_{-1})中的一个或多个或每一个独立地是这样的核苷。在一些实施例中,5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'是amCCA。在一些实施例中,糖具有的结构,其中每个变量如本文所述并且C1'键合到核碱基。在一些实施例中,糖是阿拉伯糖。在一些实施例中,糖具有的结构,其中C1'键合到核碱基。

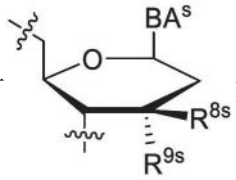
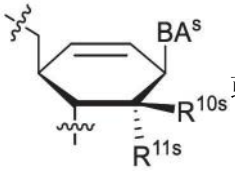
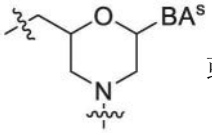
[0746] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的,其中核碱基键合在位置1'。在一些实施例中,糖是,其中核碱基键合在位置1'。

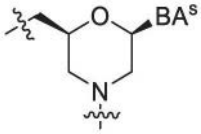
[0747] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的,其中位置a键合到核碱基,X^s是-O-、-S-、-Se-或任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,糖是。在一些实施例中,糖是任选地经取代的,其中位置a键合到核碱基,X^s是-O-、-S-、-Se-或任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,糖是。在一些实施例中,X^s是-O-。在一些实施例中,X^s是-S-。在一些实施例中,X^s是-Se-。在一些实施例中,X^s是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,X^s是-CH_2-。在一些实施例中,n是0。在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,n是2。在一些实施例中,n是3。

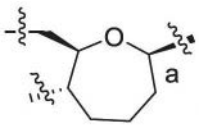
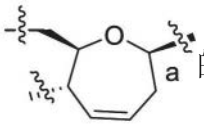
[0748] 在一些实施例中,经修饰的糖包含具有0-1个氧原子的任选地经取代的6元环。在一些实施例中,经修饰的糖包含具有氧原子的任选地经取代的6元环。例如,在一些实施例中,经修饰的糖具有任选地经取代的的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a与核碱基键合。在一些实施

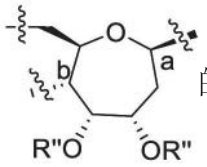
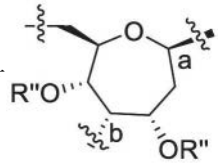
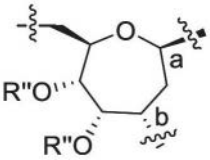
例中,经修饰的糖具有任选地经取代的的结构,其中位置a与核碱基键合。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有任选地经取代的的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有任选地经取代的的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有任选地经取代的的结构,其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基。

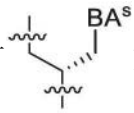
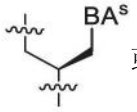
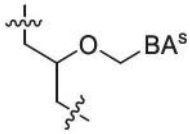
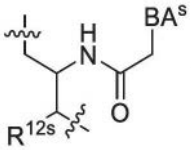
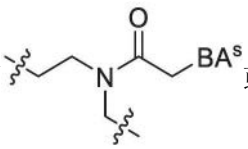
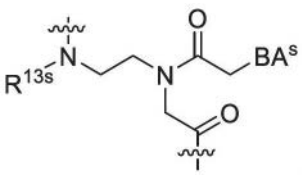
[0749] 在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中R^{6s}和R^{7s}各自独立地是R^s,BA^s是-H或任选地经取代的或被保护的核碱基(例如,BA),并且R^s独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{6s}是-H、-OH或卤素,并且R^{7s}是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中,BA^s是-H。在一些实施例中,BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,BA^s是BA。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核

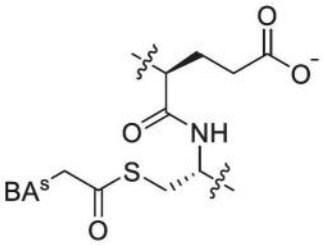
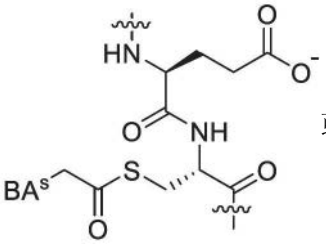
苷具有  或其盐形式的结构，其中R^{8s}和R^{9s}各自独立地是R^s，并且R^s和BA^s各自独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{8s}是-H或卤素，并且R^{9s}是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中，包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构，其中R^{10s}和R^{11s}各自独立地是R^s，并且R^s和BA^s各自独立地如本文所述。在一些实施例中，R^{10s}是-H或卤素，并且R^{11s}是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C_1-C_6烷氧基。在一些实施例中，包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构，其中BA^s如本文所述。

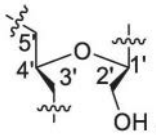
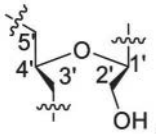
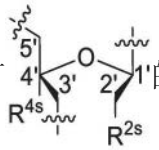
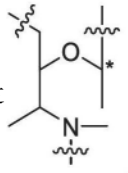
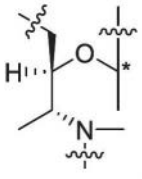
在一些实施例中，包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构，其中BA^s如本文所述。本领域技术人员理解，在一些实施例中，氮可以直接键合到键联磷。在一些实施例中，卤素是-F。在一些实施例中，BA^s是-H。在一些实施例中，BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中，BA^s是BA。在一些实施例中，核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。在一些实施例中，寡核苷酸包含α-同源-DNA、β-同源-DNA部分。在一些实施例中，寡核苷酸包含α-或β-同源-DNA糖。在一些实施例中，寡核苷酸包含α-同源-DNA糖。在一些实施例中，寡核苷酸包含β-同源-DNA糖。某些这样的包括糖和核碱基的核苷及其用途在WO 2020/154343中描述。在一些实施例中，寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中，单体包含这样的核苷。在一些实施例中，亚磷酰胺包含这样的核苷(在一些实施例中，一个连接位点(例如，-CH_2-连接位点)键合到任选地经取代的-OH，例如-ODMTr，并且一个连接位点(例如，环连接位点)键合到亚磷酰胺的P(例如，当连接环原子是N时)或键合到也键合到亚磷酰胺的P的O(例如，当连接环原子是C时))。在一些实施例中，5′紧邻核苷(例如，N_1)、相反核苷(N_0)和3′紧邻核苷(例如，N_{-1})中的一个或多个或每一个独立地是这样的核苷。

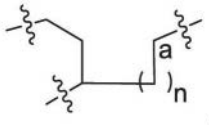
[0750] 在一些实施例中，经修饰的糖具有  的结构，其中位置a键合到核碱基。在一些实施例中，经修饰的糖具有  的结构，其中位置a键合到核碱基。在一

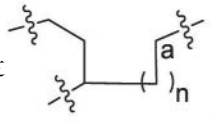
些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基,位置b键合到核苷间键联,并且R”是-H或任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基,位置b键合到核苷间键联,并且R”是-H或C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,经修饰的糖具有的结构,其中位置a键合到核碱基,位置b键合到核苷间键联,并且R”是-H或C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R”是甲基。

[0751] 在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中各变量如本文所述。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中各变量如本文所述。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中各变量如本文所述。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中R^{12s}是R^s,并且R^s和BA^s各自独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{12s}是-H、-OH、卤素、任选地经取代的C_{1-6}烷基、任选地经取代的C_{1-6}杂烷基或任选地经取代的C_{1-6}烷氧基。在一些实施例中,卤素是-F。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,其中每个变量是如本文所述的。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷酸具有或其盐形式的结构,其中R^{13s}是R^s,并且R^s和BA^s各自独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{13s}是-H或任选地经取代的C_1-C_6

烷基。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构,其中各变量如本文所述。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷酸具有  或其盐形式的结构,其中每个变量如本文所述。在一些实施例中,键联是酰胺键联。在一些实施例中,BA^s是-H。在一些实施例中,BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,BA^s是BA。在一些实施例中,核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。某些这样的包括糖和核碱基的核苷和核苷酸及其用途在WO 2020/154344中描述。在一些实施例中,寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含这样的核苷(在一些实施例中,一个连接位点(例如,$-CH_2-$连接位点)键合到任选地经取代的-OH,例如,(-ODMTr),并且一个连接位点(例如,环连接位点)键合到也键合到亚磷酰胺的P的O)。在一些实施例中,5′紧邻核苷(例如,N_1)、相反核苷(N_0)和3′紧邻核苷(例如,N_{-1})中的一个或多个或每一个独立地是这样的核苷。

[0752] 在一些实施例中,糖是无环糖,例如UNA糖。在一些实施例中,糖是任选地经取代的  。在一些实施例中,2′位置是任选地经取代的。在一些实施例中,糖是  。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,R^{2s}是-OH。在一些实施例中,糖是  ,其中“*”表示与核碱基键合的碳原子。在一些实施例中,糖是  ,其中“*”表示与核碱基键合的碳原子。在一些实施例中,与核碱基的氮原子键合的碳原子具有R构型(例如,sm18)。在一些实施例中,寡核苷酸包含本文所述的糖。

[0753] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的其中位置a键合到核碱基,

X^s是-O-、-S-、-Se-或任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,糖是在一些实施例中,X^s是-O-。在一些实施例中,X^s是-S-。在一些实施例中,X^s是-Se-。在一些实施例中,X^s是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,X^s是-CH_2-。在一些实施例中,n是0。在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,n是2。在一些实施例中,n是3。

[0754] 在一些实施例中,糖不通过5′和3′位置连接。本领域技术人员理解,对于这样的糖,5’可以指朝向寡核苷酸的5’-末端的侧面/方向,并且3’可以指朝向寡核苷酸的3’-末端的侧面/方向。

[0755] 在一些实施例中,R^{1s}、R^{2s}、R^{3s}、R^{4s}和R^{5s}各自独立地是R^s,其中R^s独立地是-H、卤素、-CN、-N_3、-NO、-NO_2、-L^s-R′、-L^s-Si(R′)$_3$、-L^s-OR′、-L^s-SR′、-L^s-N(R′)$_2$、-O-L^s-R′、-O-L^s-Si(R)$_3$、-O-L^s-OR′、-O-L^s-SR′或-O-L^s-N(R′)$_2$;其中L^s是如本文所述的L^B,并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{1s}和R^{2s}各自独立地是R^s。在一些实施例中,R^s是-H。在一些实施例中,R^s不是-H。在一些实施例中,L^s是共价键。在一些实施例中,R^{2s}和R^{4s}各自独立地是-H、-F、-OR、-N(R)$_2$。在一些实施例中,R^{2s}是-H、-F、-OR、-N(R)$_2$。在一些实施例中,R^{4s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}和R^{4s}形成2’-O-L^s-,其中L^s是任选地经取代的C_{1-6}亚烷基。在一些实施例中,L^s是任选地经取代的-CH_2-。在一些实施例中,L^s是任选地经取代的-CH_2-。

[0756] 在一些实施例中,R是氢。在一些实施例中,R不是氢。在一些实施例中,R是选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-10}脂肪族基,具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷和硅的杂原子的C_{1-10}杂脂肪族基,C_{6-20}芳基,具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷和硅的杂原子的5-20元杂芳基环以及具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷和硅的杂原子的3-20元杂环。

[0757] 在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-30}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-15}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的己基、戊基、丁基、丙基、乙基或甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的己基。在一些实施例中,R是任选地经取代的戊基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丁基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是己基。在一些实施例中,R是戊基。在一些实施例中,R是丁基。在一些实施例中,R是丙基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是异丙基。在一些实施例中,R是正丙基。在一些实施例中,R是叔丁基。在一些实施例中,R是仲丁基。在一些实施例中,R是正丁基。在一些实施例中,R是-$(CH_2)_2OCH_3$。

[0758] 在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。

[0759] 在一些实施例中,R^{2s}是如本披露中所述的2’-修饰,并且R^{4s}是-H。在一些实施例中,R^{2s}是-OR,其中R不是氢。在一些实施例中,R^{2s}是-F。在一些实施例中,R^{2s}是-OMe。在一些

实施例中,R^{2s}是-$OCH_2CH_2CH_3$,例如在表1中使用的各种X_{eo}中(X是m5C、T、G、A等)。在一些实施例中,R^{2s}选自-H、-F和-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{2s}选自-H、-F和-OMe。

[0760] 在一些实施例中,糖是双环糖,例如其中R^{2s}和R^{4s}形成如本披露中所述的任选地经取代的环的糖。在一些实施例中,糖选自LNA糖、BNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,桥在2′-碳原子与4′-碳原子之间(对应于R^{2s}和R^{4s}与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环)。在一些实施例中,桥是2′-L^a-L^b-4′,其中La是L^a是-O-、-S-或N(R),并且L^b是任选地经取代的C_{1-4}二价脂肪族链,例如亚甲基。

[0761] 在一些实施例中,糖是2′-OMe、2′-MOE、2′-F、LNA(锁核酸)糖、ENA(乙烯桥核酸)糖、BNA(NMe)(甲基氨基桥核酸)糖、2′-F ANA(2′-F阿拉伯糖)、α-DNA(α-D-核糖)、2’/5’ODN(例如,2′/5′连接的寡核苷酸)、Inv(转化糖、例如转化脱氧核糖)、AmR(氨基-核糖)、ThioR(硫代-核糖)、HNA(己糖核酸)、CeNA(环己烯核酸)或MOR(吗啉代)糖。

[0762] 本领域技术人员在阅读本披露后将理解,多种类型的糖修饰是已知的并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,糖修饰是2′-修饰(例如,R^{2s})。在一些实施例中,2’-修饰是2’-F。在一些实施例中,2’-修饰是2’-OR,其中R不是氢。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OMe。在一些实施例中,2′-修饰是2′-MOE。在一些实施例中,2′-修饰是-O-L^b-或-L^b-L^b-,其将糖部分的2′-碳连接到糖部分的另一个碳。在一些实施例中,2′-修饰是2′-O-L^b-4′或2′-L^b-L^b-4′,其将糖部分的2′-碳连接到糖部分的4′-碳。在一些实施例中,2′-修饰是S-cEt。在一些实施例中,经修饰的糖是LNA糖。在一些实施例中,-L^b-是-$C(R)_2$-。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-$C(R)_2$-C4),其中每个R独立地如本披露中所述。在一些实施例中,2′-修饰是LNA糖修饰(C2-O-CH_2-C4)。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-CHR-C4),其中R如本披露中所述。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(R)-CHR-C4),其中R如本披露中所述并且不是氢。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(S)-CHR-C4),其中R如本披露中所述并且不是氢。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是未经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-CHR-C4),其中R是甲基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-CHR-C4),其中R是乙基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(R)-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(R)-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(R)-CHR-C4),其中R是甲基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(R)-CHR-C4),其中R是乙基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(S)-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(S)-CHR-C4),其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(S)-CHR-C4),其中R是甲基。在一些实施例中,2′-修饰是(C2-O-(S)-CHR-C4),其中R是乙基。在一些实施例中,2′-修饰是C2-O-(R)-CH(CH_2CH_3)-C4。在一些实施例中,2′-修饰是C2-O-(S)-CH(CH_2CH_3)-C4。在一些实施例中,糖是天然DNA糖。在一些实施例中,糖是天然RNA糖。在一些实施例中,糖是任选地经取代的天然

DNA糖。在一些实施例中,糖是任选地在2′取代的天然DNA糖。在一些实施例中,糖是在2′取代的天然DNA糖(2′-修饰)。在一些实施例中,糖是在2′修饰的天然DNA糖(2′-修饰)。

[0763] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,糖是任选地经修饰的核糖或脱氧核糖,其中该核糖或脱氧核糖部分的一个或多个羟基任选且独立地被卤素、R'、-N(R')$_2$、-OR'或-SR'代替,其中每个R′如本文所述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位是任选地经取代的。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位任选地被卤素、R'、-N(R')$_2$、-OR'或-SR'取代,其中每个R′独立地在本披露中描述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位是任选地被卤素取代的。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被一个或多个-F取代。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-OR'取代,其中每个R'独立地在本披露中描述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位任选地被-OR'取代,其中每个R′独立地是任选地经取代的C_1-C_6脂肪族基。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位任选地被-OR′取代,其中每个R′独立地是任选地经取代的C_1-C_6烷基。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位任选地被-OMe取代。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2′位任选地被-O-甲氧基乙基取代。

[0764] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个天然糖。

[0765] 双环糖的实例包括α-L-亚甲基氧基(4′-CH_2-O-2′)LNA、β-D-亚甲基氧基(4′-CH_2-O-2′)LNA、亚乙基氧基(4′-$(CH_2)_2$-O-2′)LNA、氨基氧基(4′-CH_2-O-N(R)-2′)LNA和氧基氨基(4′-CH_2-N(R)-O-2′)LNA的糖。在一些实施例中,双环糖,例如LNA或BNA糖,是在两个糖碳之间具有至少一个桥的糖。在一些实施例中,核苷中的双环糖可以具有α-L-呋喃核糖或β-D-呋喃核糖的立体化学构型。

[0766] 在一些实施例中,双环糖可以通过异构体构型进一步定义。例如,包含4′-(CH_2)-O-2′桥的糖可以呈α-L构型或β-D构型。在一些实施例中,4′至2′桥是-L-4′-(CH_2)-O-2′、b-D-4′-CH_2-O-2′、4′-$(CH_2)_2$-O-2′、4′-CH_2-O-N(R′)-2′、4′-CH_2-N(R′)-O-2′、4′-CH(R′)-O-2′、4′-$CH(CH_3)$-O-2′、4′-CH_2-S-2′、4′-CH_2-N(R′)-2′、4′-CH_2-CH(R′)-2′、4′-CH_2-$CH(CH_3)$-2′和4′-$(CH_2)_3$-2′,其中每个R′如本披露中所述。在一些实施例中,R′是-H、保护基或任选地经取代的C_1-C_{12}烷基。在一些实施例中,R′是-H或任选地经取代的C_1-C_{12}烷基。

[0767] 在一些实施例中,双环糖是α-L-亚甲基氧基(4′-CH_2-O-2′)BNA、β-D-亚甲基氧基(4′-CH_2-O-2′)BNA、亚乙基氧基(4′-$(CH_2)_2$-O-2′)BNA、氨基氧基(4′-CH_2-O-N(R)-2′)BNA、氧氨基(4′-CH_2-N(R)-O-2′)BNA、甲基(亚甲基氧基)(4′-$CH(CH_3)$-O-2′)BNA(也称为受限制的乙基或cEt)、亚甲基-硫基(4′-CH_2-S-2′)BNA、亚甲基-氨基(4′-CH_2-N(R)-2′)BNA、甲基碳环(4′-CH_2-$CH(CH_3)$-2′)BNA、亚丙基碳环(4′-$(CH_2)_3$-2′)BNA或乙烯基BNA的糖。

[0768] 在一些实施例中,糖修饰是US 9006198中描述的修饰。在一些实施例中,经修饰的糖在US 9006198中描述。在一些实施例中,糖修饰是在US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO

2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159中描述的修饰,其各自的糖修饰和经修饰的糖独立地通过援引并入本文。

[0769] 在一些实施例中,经修饰的糖是在以下文献中描述的糖:US 5658873、US 5118800、US 5393878、US 5514785、US 5627053、US 7034133;7084125、US 7399845、US 5319080、US 5591722、US 5597909、US 5466786、US 6268490、US 6525191、US 5519134、US 5576427、US 6794499、US 6998484、US 7053207、US 4981957、US 5359044、US 6770748、US 7427672、US 5446137、US 6670461、US 7569686、US 7741457、US 8022193、US 8030467、US 8278425、US 5610300、US 5646265、US 8278426、US 5567811、US 5700920、US 8278283、US 5639873、US 5670633、US 8314227、US 2008/0039618、US 2009/0012281、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637、或WO 2020/252376。

[0770] 在一些实施例中,糖修饰是2′-OMe、2′-MOE、2′-LNA、2′-F、5′-乙烯基或S-cEt。在一些实施例中,经修饰的糖是FRNA糖、FANA糖或吗啉代糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含核酸类似物,例如GNA、LNA、PNA、TNA、F-HNA(F-THP或3′-氟四氢吡喃)、MNA(甘露醇核酸,例如Leumann 2002Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学杂志]10:841-854)、ANA(安尼妥(anitol)核酸)或吗啉代或其一部分。在一些实施例中,糖如柔性核酸或丝氨醇核酸中的糖。在一些实施例中,糖修饰用另一个环状或无环状部分代替天然糖。这样的部分的实例在本领域中是众所周知的,例如用于吗啉代、二醇核酸等中的那些,并且可以根据本披露使用。如本领域技术人员所理解的,当与经修饰的糖一起使用时,在一些实施例中,核苷酸间键联可以被修饰,例如,如在吗啉代、PNA等中。在一些实施例中,糖是(R)-GNA糖。在一些实施例中,糖是(S)-GNA糖。在一些实施例中,具有GNA糖的核苷作为N_{-1}、N_0和/或N_1使用。在一些实施例中,N_0是具有GNA糖的核苷。在一些实施例中,糖是双环糖。在一些实施例中,糖是LNA糖。在一些实施例中,糖是无环糖。在一些实施例中,糖是UNA糖。在一些实施例中,具有UNA糖的核苷作为N_{-1}、N_0和/或N_1使用。在一些实施例中,N_0是具有UNA糖的核苷。在一些实施例中,核苷是无碱基的。在一些实施例中,无碱基糖作为N_{-1}、N_0和/或N_1使用。在一些实施例中,N_0是具有无碱基糖的核苷。

[0771] 在一些实施例中,糖是在6-位具有(R)或(S)手性的6′-修饰的双环糖,例如在US 7399845中描述的那些。在一些实施例中,糖是在5-位具有(R)或(S)手性的5′-修饰的双环糖,例如在US 20070287831中描述的那些。

[0772] 在一些实施例中,修饰的糖在2′位包含一个或多个取代基(通常是一个取代基,并且通常在轴向位置),其独立地选自-F;-CF_3、-CN、-N_3、-NO、-NO_2、-OR′、-SR′、或-N(R′)$_2$,其中每个R′独立地描述于本披露中;-O-(C_1-C_{10}烷基)、-S-(C_1-C_{10}烷基)、-NH-(C_1-C_{10}烷基)、或-N(C_1-C_{10}烷基)$_2$;-O-(C_2-C_{10}烯基)、-S-(C_2-C_{10}烯基)、-NH-(C_2-C_{10}烯基)、或-N(C_2-C_{10}烯基)$_2$;-O-(C_2-C_{10}炔基)、-S-(C_2-C_{10}炔基)、-NH-(C_2-C_{10}炔基)、或-N(C_2-C_{10}炔基)$_2$;或-O-(C_1-C_{10}亚烷基)-O-(C_1-C_{10}烷基)、-O-(C_1-C_{10}亚烷基)-NH-(C_1-C_{10}烷基)或-O-(C_1-C_{10}亚烷基)-NH(C_1-C_{10}烷基)$_2$、-NH-(C_1-C_{10}亚烷基)-O-(C_1-C_{10}烷基)、或-N(C_1-C_{10}烷基)-(C_1-C_{10}亚烷基)-O-(C_1-C_{10}烷基),其中烷基、亚烷基、烯基和炔基各自独立且任选地经取代。在一些实施例中,

取代基是-O(CH$_2$)$_n$OCH$_3$、-O(CH$_2$)$_n$NH$_2$、MOE、DMAOE或DMAEOE,其中n是从1至约10。在一些实施例中,经修饰的糖是描述于以下中的糖:WO 2001/088198;和Martin等人,Helv.Chim.Acta[瑞士化学学报],1995,78,486-504。在一些实施例中,经修饰的糖包含一个或多个选自以下的基团:经取代的甲硅烷基、切割RNA的基团、报告基团、荧光标记、嵌入剂、用于改善核酸的药代动力学特性的基团、用于改善核酸的药效学特性的基团、或其他具有类似特性的取代基。在一些实施例中,在2′、3′、4′或5′位中的一个或多个上进行修饰,包括在3′-末端核苷上的糖的3′位或在5′-末端核苷的5′位。

[0773] 在一些实施例中,核糖的2′-OH被选自以下的基团代替:-H、-F;-CF$_3$、-CN、-N$_3$、-NO、-NO$_2$、-OR′、-SR′、或-N(R′)$_2$,其中每个R′独立地描述于本披露中;-O-(C$_1$-C$_{10}$烷基)、-S-(C$_1$-C$_{10}$烷基)、-NH-(C$_1$-C$_{10}$烷基)、或-N(C$_1$-C$_{10}$烷基)$_2$;-O-(C$_2$-C$_{10}$烯基)、-S-(C$_2$-C$_{10}$烯基)、-NH-(C$_2$-C$_{10}$烯基)、或-N(C$_2$-C$_{10}$烯基)$_2$;-O-(C$_2$-C$_{10}$炔基)、-S-(C$_2$-C$_{10}$炔基)、-NH-(C$_2$-C$_{10}$炔基)、或-N(C$_2$-C$_{10}$炔基)$_2$;或-O-(C$_1$-C$_{10}$亚烷基)-O-(C$_1$-C$_{10}$烷基)、-O-(C$_1$-C$_{10}$亚烷基)-NH-(C$_1$-C$_{10}$烷基)或-O-(C$_1$-C$_{10}$亚烷基)-NH(C$_1$-C$_{10}$烷基)$_2$、-NH-(C$_1$-C$_{10}$亚烷基)-O-(C$_1$-C$_{10}$烷基)、或-N(C$_1$-C$_{10}$烷基)-(C$_1$-C$_{10}$亚烷基)-O-(C$_1$-C$_{10}$烷基),其中烷基、亚烷基、烯基和炔基各自独立且任选地经取代。在一些实施例中,2′-OH被-H(脱氧核糖)代替。在一些实施例中,2’-OH被-F代替。在一些实施例中,2’-OH被-OR’代替。在一些实施例中,2′-OH被-OMe代替。在一些实施例中,2′-OH被-OCH$_2$CH$_2$OMe代替。

[0774] 在一些实施例中,糖修饰是2′-修饰。通常使用的2′-修饰包括但不限于2′-OR,其中R不是氢并且如本披露中所述。在一些实施例中,修饰是2′-OR,其中R是任选地经取代的C$_{1-6}$脂肪族基。在一些实施例中,修饰是2′-OR,其中R是任选地经取代的C$_{1-6}$烷基。在一些实施例中,修饰是2′-OMe。在一些实施例中,修饰是2′-MOE。在一些实施例中,2′-修饰是S-cEt。在一些实施例中,经修饰的糖是LNA糖。在一些实施例中,2’-修饰是-F。在一些实施例中,2’-修饰是FANA。在一些实施例中,2′-修饰是FRNA。在一些实施例中,糖修饰是5′-修饰,例如5′-Me。在一些实施例中,糖修饰改变糖环的大小。在一些实施例中,糖修饰是FHNA中的糖部分。

[0775] 在一些实施例中,糖修饰用另一个环状或无环状部分代替糖部分。这样的部分的实例是本领域广泛已知的,包括但不限于吗啉代(任选地具有其二氨基磷酸酯键联)、二醇核酸等中所使用的那些部分。

[0776] 在一些实施例中,寡核苷酸的一个或多个糖被修饰。在一些实施例中,经修饰的糖包含2′-修饰。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地包含2′-修饰。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OR。在一些实施例中,2′-修饰是2′-OMe。在一些实施例中,2′-修饰是2′-MOE。在一些实施例中,2′-修饰是LNA糖修饰。在一些实施例中,2’-修饰是2’-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2’-修饰。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2’-OR或2’-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2’-OR或2’-F,其中R是任选地经取代的C$_{1-6}$烷基。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2’-OR或2’-F,其中至少一个是2’-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2’-OR或2’-F,其中R是任选地经取代的C$_{1-6}$烷基,并且其中至少一个是2’-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2′-OR或2′-F,其中至少一个是2′-F,并且至少一个是2′-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2′-OR或2′-F,其中R是任选地经取代的C$_{1-6}$烷基,并且其中至少一个是2′-F,并且至少一个是2′-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立

地是2′-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2′-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,每个糖修饰是2′-OMe。在一些实施例中,每个糖修饰是2′-MOE。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2′-OMe或2′-MOE。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2′-OMe、2′-MOE或LNA糖。

[0777] 经修饰的糖包括代替呋喃戊糖基糖的环丁基或环戊基部分。这样的经修饰的糖的代表性实例包括在US 4,981,957、US 5,118,800、US 5,319,080或US 5,359,044中描述的那些。在一些实施例中,核糖环内的氧原子被氮、硫、硒或碳代替。在一些实施例中,-O-被-N(R′)-、-S-、-Se-或-C(R′)$_2$-代替。在一些实施例中,经修饰的糖是经修饰的核糖,其中核糖环内的氧原子被氮代替,并且其中氮任选地被烷基(例如,甲基、乙基、异丙基等)取代。

[0778] 经修饰的糖的非限制性实例是甘油,其是甘油核酸(GNA)的一部分,例如,如以下文献中所述:Zhang,R等人.,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2008,130,5846-5847;Zhang L,等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2005,127,4174-4175以及Tsai CH等人,PNAS[美国国家科学院院刊],2007,14598-14603中。

[0779] 柔性核酸(FNA)是基于甲酰甘油的混合乙缩醛缩醛胺,例如描述于Joyce GF等人,PNAS[美国国家科学院院刊],1987,84,4398-4402以及Heuberger BD和Switzer C,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2008,130,412-413中。

[0780] 在一些实施例中,寡核苷酸和/或其经修饰的核苷包含在以下文献中描述的糖或经修饰的糖:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159,其各自的糖和经修饰的糖独立地通过援引并入本文。

[0781] 在一些实施例中,糖中的一个或多个羟基基团任选地且独立地被卤素、R′-N(R′)$_2$、-OR′、或-SR′代替,其中每个R′独立地描述于本披露中。

[0782] 在一些实施例中,经修饰的核苷是在以下文献中描述的任何经修饰的核苷:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、和/或WO 2022/099159,其各自的经修饰的核苷独立地通过援引并入本文。

[0783] 在一些实施例中,糖修饰是5′-乙烯基(R或S)、5′-甲基(R或S)、2′-SH、2′-F、2′-OCH_3、2′-OCH_2CH_3、2′-OCH_2CH_2F或2′-$O(CH_2)_{20}CH_3$。在一些实施例中,在2′位上的取代基,例如2′-修饰基团是烯丙基、氨基、叠氮基、硫基、O-烯丙基、O-C_1-C_{10}烷基、OCF_3、OCH_2F、$O(CH_2)_2SCH_3$、$O(CH_2)_2$-O-N(R_m)(R_n)、O-CH_2-C(=O)-N(R_m)(R_n)和O-CH_2-C(=O)-N(R_1)-$(CH_2)_2$-N(R_m)(R_n),其中每个烯丙基、氨基和烷基任选地经取代,并且R_1、R_m和R_n各自独立地是如本披露中所述的R′。在一些实施例中,R_1、R_m和R_n各自独立地是-H或任选地经取代的C_1-C_{10}烷基。

[0784] 在一些实施例中,双环糖在两个糖碳原子之间,例如在4′和2′核糖基环碳原子之间包含桥,例如-L^b-L^b-、-L-等。在一些实施例中,桥是4′-(CH_2)-O-2′(例如,LNA糖)、4′-(CH_2)-S-2′、4′-$(CH_2)_2$-O-2′(例如,ENA糖)、4′-CH(R′)-O-2′(例如,4′-$CH(CH_3)$-O-2′、4′-$CH(CH_2OCH_3)$-O-2′和在US 7399845中的实例等)、4′-$CH(R')_2$-O-2′(例如,4′-$C(CH_3)(CH_3)$-O-2′和在WO 2009006478中的实例等)、4′-CH_2-N(OR′)-2′(例如,4′-CH_2-$N(OCH_3)$-2′、在WO

2008150729中的实例等)、4'-CH_2-O-N(R')-2'(例如,4'-CH_2-O-N(CH_3)-2'、在US 20040171570中的实例等)、4'-CH_2-N(R')-O-2'[例如,其中R是-H、C_1-C_{12}烷基或保护基(例如参见US 7427672)]、4'-C(R')$_2$-C(H)(R')-2'(例如,4′-CH_2-C(H)(CH_3)-2'、在Chattopadhyaya等人,J.Org.Chem.[有机化学杂志],2009,74,118-134中的实例等)、或4'-C(R')$_2$-C(=C(R')$_2$)-2'(例如,4'-CH_2-C(=CH_2)-2'、在WO 2008154401中的实例等)。

[0785] 在一些实施例中,糖是四氢吡喃或THP糖。在一些实施例中,经修饰的核苷是四氢吡喃核苷或THP核苷(其是用六元四氢吡喃糖代替典型的天然核苷中的呋喃戊糖基残基的核苷)。THP糖和/或核苷包括用于已糖醇核酸(HNA)、安尼妥核酸(ANA)、甘露醇核酸(MNA)(例如,Leumann,Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学],2002,10,841-854)或氟代HNA(F-HNA)的那些。

[0786] 在一些实施例中,糖包含具有多于5个原子和/或多于一个杂原子的环,例如吗啉代糖,其在以下文献中描述:例如Braasch等人,Biochemistry[生物化学],2002,41,4503-4510;US 5698685;US 5166315;US 5185444;US 5034506;等等)。

[0787] 如本领域技术人员将理解的,糖、核碱基、核苷酸间键联等的修饰可以并且经常与寡核苷酸(例如,参见表1中的各种寡核苷酸)组合使用。

[0788] 在一些实施例中,核苷具有代替天然存在的核苷中的呋喃戊糖基残基的六元环已烯基。示例环已烯基核苷及其制备和用途描述于以下文献中:例如WO 2010036696;Robeyns等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志],2008,130(6),1979-1984;Horvath等人,Tetrahedron Letters[四面体快报],2007,48,3621-3623;Nauwelaerts等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2007,129(30),9340-9348;Gu等人.,Nucleosides,Nucleotides&Nucleic Acids[核苷,核苷酸与核酸],2005,24(5-7),993-998;Nauwelaerts等人,Nucleic Acids Research[核酸研究],2005,33(8),2452-2463;Robeyns等人,Acta Crystallographica,Section F:Structural Biology and Crystallization Communications[晶体学报,章节F:结构生物学和结晶通讯],2005,F61(6),585-586;Gu等人,Tetrahedron[四面体],2004,60(9),2111-2123;Gu等人,Oligonucleotides[寡核苷酸],2003,13(6),479-489;Wang等人,J.Org.Chem.[有机化学杂志],2003,68,4499-4505;Verbeure等人,Nucleic Acids Research[核酸研究],2001,29(24),4941-4947;Wang等人,J.Org.Chem.[有机化学杂志],2001,66,8478-82;Wang等人,Nucleosides,Nucleotides&Nucleic Acids[核苷,核苷酸与核酸],2001,20(4-7),785-788;Wang等人,J.Am.Chem.[美国化学杂志],2000,122,8595-8602;WO 2006047842;WO 2001049687;等等。

[0789] 许多单环、双环和三环环系适合作为糖代替物(经修饰的糖),并且可以根据本披露使用。参见例如Leumann,Christian J.Bioorg.&Med.Chem.[生物有机化学与医药化学杂志],2002,10,841-854。这样的环系可以进行多种另外的取代以进一步增强其特性和/或活性。

[0790] 在一些实施例中,2′-修饰的糖是在2′位被修饰的呋喃糖基糖。在一些实施例中,2′-修饰是卤素、-R′(其中R′不是-H)、-OR′(其中R′不是-H)、-SR′、-N(R′)$_2$、任选地经取代的-CH_2-CH=CH_2、任选地经取代的烯基或任选地经取代的炔基。在一些实施例中,2′-修饰选自-O[(CH_2)$_n$O]$_m$$CH_3$、-O($CH_2$)$_n$$NH_2$、-O($CH_2$)$_n$$CH_3$、-O($CH_2$)$_n$F、-O($CH_2$)$_nONH_2$、-O$CH_2$C(=O)N(H)$CH_3$和-O($CH_2$)$_n$ON[($CH_2$)$_n$$CH_3$]$_2$,其中每个n和m独立地是1至约10。在一些实施例中,2′-修饰是任

选地经取代的C_1-C_{12}烷基、任选地经取代的烯基、任选地经取代的炔基、任选地经取代的烷芳基、任选地经取代的芳烷基、任选地经取代的-O-烷芳基、任选地经取代的-O-芳烷基、-SH、-SCH_3、-OCN、-Cl、-Br、-CN、-F、-CF_3、-OCF_3、-$SOCH_3$、-SO_2CH_3、-ONO_2、-NO_2、-N_3、-NH_2、任选地经取代的杂环烷基、任选地经取代的杂环烷芳基、任选地经取代的氨基烷基氨基、任选地经取代的聚烷基氨基、经取代的甲硅烷基、报告基团、嵌入剂、用于改善药代动力学特性的基团、用于改善药效学特性的基团和其他取代基。在一些实施例中,2′-修饰是2′-MOE修饰(例如,参见Baker等人,J.Biol.Chem.[生物化学杂志],1997,272,11944-12000)。在一些情况下,据报道,与未修饰的糖和一些其他经修饰的核苷(诸如2′-O-甲基,2′-O-丙基和2′-O-氨基丙基)相比,2′-MOE修饰具有改善的结合亲和力。还报道了具有2′-MOE修饰的寡核苷酸能够抑制基因表达,具有体内应用前景(参见,例如Martin,Helv.Chim.Acta[瑞士化学学报],1995,78,486-504;Altmann等人,Chimia[化学],1996,50,168-176;Altmann等人,Biochem.Soc.Trans.[生化学会汇刊],1996,24,630-637;以及Altmann等人,Nucleosides Nucleotides[核苷与核苷酸],1997,16,917-926;等等)。

[0791] 在一些实施例中,2′-修饰的或2′-取代的糖或核苷是在糖的2′位包含除-H(通常不视为取代基)或-OH以外的取代基的糖或核苷。在一些实施例中,2′-修饰的糖是双环糖,该双环糖包含连接糖环的两个碳原子(其中一个是2′碳)的桥。在一些实施例中,2′-修饰是非桥联的,例如烯丙基、氨基、叠氮基、硫代、任选地经取代的-O-烯丙基、任选地经取代的-O-C_1-C_{10}烷基、-OCF_3、-$O(CH_2)_2OCH_3$、2′-$O(CH_2)_2SCH_3$、-$O(CH_2)_2ON(R_m)(R_n)$或-$OCH_2C(=O)N(R_m)(R_n)$,其中每个R_m和R_n独立地是-H或任选地经取代的C_1-C_{10}烷基。

[0792] 某些经修饰的糖、其制备和用途在US 4981957、US 5118800、US 5319080、US 5359044、US 5393878、US 5446137、US 5466786、US 5514785、US 5519134、US 5567811、US 5576427、US 5591722、US 5597909、US 5610300、US 5627053、US 5639873、US 5646265、US 5670633、US 5700920、US 5792847、US 6600032和WO 2005121371中描述。

[0793] 在一些实施例中,糖是N-甲醇卡巴(N-methanocarba)、LNA、cMOE BNA、cEt BNA、α-L-LNA或相关类似物、HNA、Me-ANA、MOE-ANA、Ara-FHNA、FHNA、R-6′-Me-FHNA、S-6′-Me-FHNA、ENA、或c-ANA的糖。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是C3-酰胺(例如,具有与C3′连接的酰胺修饰的糖,Mutisya等人2014Nucleic Acids Res.[核酸研究]2014年6月1日;42(10):6542-6551),甲缩醛,硫代甲缩醛,MMI[例如,亚甲基(甲基亚氨基),Peoc′h等人2006Nucleosides and Nucleotides[核苷与核苷酸]16(7-9)],PMO(二氨基磷酸酯连接的吗啉代)键联(其连接两个糖)或PNA(肽核酸)键联。在一些实施例中,核苷酸间键联和/或糖的实例在以下文献中描述:Allerson等人.2005J.Med.Chem.[医药化学杂志]48:901-4;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]201121:1122;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]201121:588;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]201222:296;Chattopadhyaya等人2007J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]129:8362;Chem.Bio.Chem.[有机化学杂志]201314:58;Curr.Prot.Nucl.Acids Chem.[核酸化学当前方案]2011 1.24.1;Egli等人2011J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]133:16642;Hendrix等人1997Chem.Eur.J.[欧洲化学杂志]3:110;Hyrup等人1996Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学]4:5;Imanishi 1997Tet.Lett.[有机快报]38:8735;J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]1994,116,3143;J.Med.Chem.[药物化学杂志]2009 52:10;J.Org.Chem.[有机化学杂志]2010 75:1589;

Jepsen等人20040ligo.[寡核苷酸]14:130-146;Jones等人J.Org.Chem.[有机化学杂志]1993,58,2983;Jung等人2014ACIEE 53:9893;Kodama等人2014AGDS;Koizumi 2003BMC 11:2211;Koizumi等人2003Nuc.Acids Res.[核酸研究112:3267-3273;Koshkin等人1998Tetrahedron[四面体]54:3607-3630;Kumar等人1998Bioo.Med.Chem.Let.[生物有机化学与医药化学快报]8:2219-2222;Lauritsen等人2002Chem.Comm.[化学通讯]5:530-531;Lauritsen等人2003Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]13:253-256;Lima等人2012Ceu[细胞]150:883-894;Mesmaeker等人Angew.Chem.,Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]1994,33,226;Migawa等人20130rg.Lett.[有机快报]15:4316;Mol.Ther.Nucl.Acids[分子疗法-核酸]20121:e47;Morita等人2001Nucl.Acids Res.[核酸研究]增刊1:241-242;Morita等人2002Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]12:73-76;Morita等人2003Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]2211-2226;Murray等人2012Nucl.Acids Res.[核酸研究]40:6135;Nielsen等人1997Chem.Soc.Rev.[化学学会评论]73;Nielsen等人1997J.Chem.Soc.Perkins Transl.[化学学会杂志博金斯译版]1:3423-3433;Obika等人1997Tetrahedron Lett.[四面体快报]38(50):8735-8;Obika等人1998Tetrahedron Lett.[四面体快报]39:5401-5404;Obika等人2008J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]130:4886;Obika等人20110rg.Lett.[有机快报]13:6050;Oestergaard等人2014JOC 79:8877;Pallan等人2012Biochem.[生物化学]51:7;Pallan等人2012Chem.Comm.[化学通讯]48:8195-8197;Petersen等人2003TRENDS Biotech.[生物技术趋势]21:74-81;Prakash等人2010J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:1636;Prakash等人2015Nucl.Acids Res.[核酸研究]43:2993-3011;Prakash等人2016Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]26:2817-2820;Rajwanshi等人1999Chem.Commun.[化学通讯]1395-1396;Schultz等人1996Nucleic Acids Res.[核酸研究]24:2966;Seth等人2008Nucl.Acid Sym.Ser.[核酸研讨会丛刊]52:553;Seth等人2009J.Med.Chem.[药物化学杂志]52:10-13;Seth等人2010J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志]132:14942;Seth等人2010J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:8309-8318;Seth等人2010J.Org.Chem.[有机化学杂志]75:1569-1581;Seth等人2011BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]21:4690;Seth等人2012Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]22:296-299;Seth等人2012Mol.Ther-Nuc.Acids.[分子疗法-核酸]1,e47;Seth等人,Nucleic Acids Symposium Series[核酸研讨会丛刊](2008),52(1),553-554;Singh等人1998Chem.Comm.[化学通讯]1247-1248;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:10035-39;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:6078-6079;Sorensen 2003Chem.Comm.[化学通讯]2130-2131;Starrup等人2010Nucl.Acids Res.[核酸研究]38:7100;Swayze等人2007Nucl.Acids Res.[核酸研究]35:687;Ts′o等人Ann.N.Y.Acad.Sci.[纽约科学院年刊]1988,507,220;Van Aerschot等人1995Angew.Chem.Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]34:1338;Vasseur等人J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],1992,114,4006;WO 2007090071;WO 2016079181;US 6326199;US 6066500;或US 6440739。

[0794] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)包含高水平的2'-F修饰的糖,例如,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中约10%-100%(例如,约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、

90％、95％或更多,或约100％)的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约50％或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约60％或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约70％或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约80％或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约90％或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分还包含一个或多个不含2'-F的糖(例如,不含修饰的糖和/或包含其他修饰的糖)。

[0795] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中不超过约1％-95％(例如,不超过约1％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％等)的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不超过约50％的糖包含2′-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中没有糖包含2′-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不超过1、2、3、4或5个糖包含2′-MOE。

[0796] 可用于制备寡核苷酸或其类似物的多种另外的糖是本领域已知的,并且可以根据本披露使用。

核苷酸间键联

[0797] 本披露尤其提供了各种核苷酸间键联(包括各种经修饰的核苷酸间键联),其可以与其他结构元件(例如本文所述的各种糖)一起使用,以提供寡核苷酸及其组合物。

[0798] 在一些实施例中,寡核苷酸包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰。根据本披露,可以利用多种核苷酸间键联来连接包含核碱基的单元,例如核苷。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联和一个或多个天然磷酸酯键联两者。如本领域技术人员所公知的,天然磷酸酯键联广泛存在于天然DNA和RNA分子中;它们具有-OP(O)(OH)O-的结构,连接DNA和RNA的核苷中的糖,并且可呈多种盐形式,例如在生理pH值(约7.4)下,天然磷酸酯键联主要是以具有-OP(O)(O^-)O-阴离子的盐形式存在。经修饰的核苷酸间键联或非天然磷酸酯键联是不为天然磷酸酯键联或其盐形式的核苷酸间键联。经修饰的核苷酸间键联取决于它们的结构也可以呈其盐形式。例如,如本领域技术人员所理解的,具有-OP(O)(SH)O-的结构的硫代磷酸酯核苷酸间键联可以呈多种盐形式,例如在生理pH下(约7.4),其中阴离子是-OP(O)(S^-)O-。

[0799] 在一些实施例中,寡核苷酸包含核苷酸间键联,该核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯、硫代磷酸盐、3′-硫代磷酸盐或5′-硫代磷酸盐。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是PN键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是PS键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是PO键联(例如,除天然磷酸酯键联以外)。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是PN核苷酸间键联或PS核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个PN核苷酸间键联、一个或多个PS核苷酸间键联、和一个或多个PO核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PN核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PN核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,一个或多个PS核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个PS核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个PO核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个PO核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0800] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是包含手性键联磷的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是立体化学纯的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,骨架手性中心模式包含以下或由以下组成:手性控制的核苷酸间键联(Rp或Sp)的位置和键联磷构型以及非手性核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联)的位置。

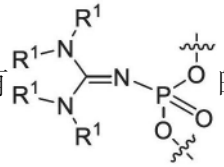
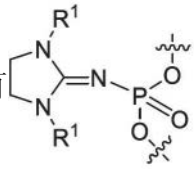
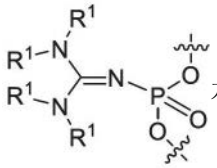
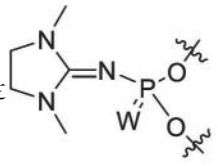
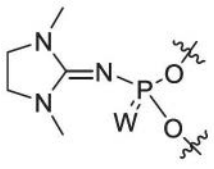
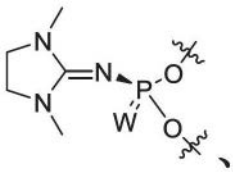
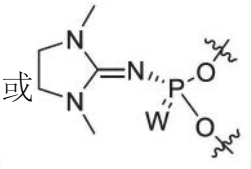
[0801] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含P-修饰,其中P-修饰是键联磷处的修饰。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不含磷但用于例如在肽核酸(PNA)中连接两个糖或两个各自独立地包含核碱基的部分的部分。

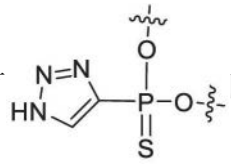
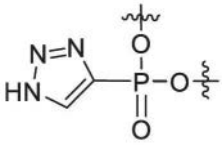
[0802] 在一些实施例中,寡核苷酸包含经修饰的核苷酸间键联,例如本文和/或在以下文献中描述的具有式I、1-a、1-b或I-c的结构的那些:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的核苷酸间键联(例如,具有式I、1-a、1-b、I-c等的那些)独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

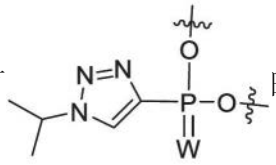
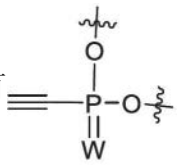
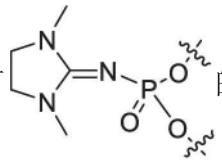
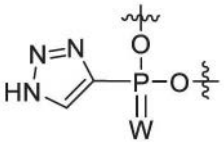
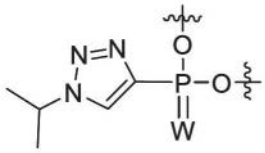
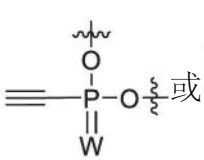
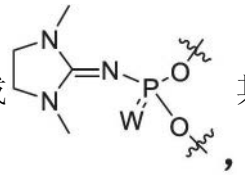
[0803] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等或其盐形式的结构,如本文和/或以下文献中所述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的不带负电荷的核苷酸间键联(例如,具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的那些或其合适的盐形式)独立地通过援引并入本文。

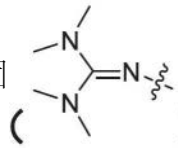
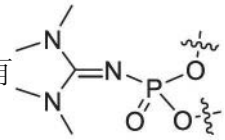
[0804] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联可以改善递送和/或活性(例如,腺苷编辑活性)。

[0805] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三

唑或炔烃部分。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是任选地经取代的。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是经取代的。在一些实施例中,三唑部分是未经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联具有的结构并且任选地是手性控制的,其中R^1是-L-R',其中L是如本文所述的L^B,并且R'是如本文所述的。在一些实施例中,每个R^1独立地是R'。在一些实施例中,每个R'独立地是R。在一些实施例中,两个R^1是R并且合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,两个不同氮原子上的两个R^1是R并且合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,R^1独立地是如本文所述的任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^1是甲基。在一些实施例中,同一氮原子上的两个R'是R并且合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联具有的结构并且任选地是手性控制的。在一些实施例中,是。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分,并且具有以下结构:、或,其中W是O或S。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,不带负电荷核苷酸间键联是立体化学控制的。

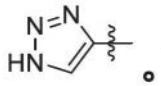
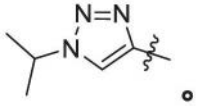
[0806] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是包含三唑部分的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,包含三唑部分(例如,任选地经取代的三唑基)的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的核苷酸间键

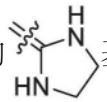
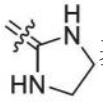
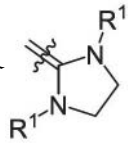
联具有的式,其中W是O或S。在一些实施例中,包含炔烃部分(例如,任选地经取代的炔基)的核苷酸间键联具有的式,其中W是O或S。在一些实施例中,核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联)包含环状胍部分。在一些实施例中,包含环状胍部分的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是或包含选自以下的结构:、、或,其中W是O或S。

[0807] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含Tmg基团()。在一些实施例中,核苷酸间键联包含Tmg基团并具有的结构("Tmg核苷酸间键联")。在一些实施例中,中性核苷酸间键联包括PNA和PMO的核苷酸间键联以及Tmg核苷酸间键联。

[0808] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等或其盐形式的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,这样的杂环基或杂芳基具有5元环。在一些实施例中,这样的杂环基或杂芳基具有6元环。

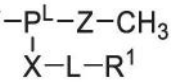
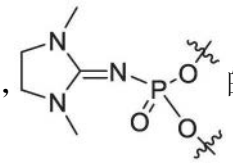
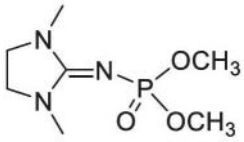
[0809] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,杂芳基直接键合到键联磷。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例

中,不带负电荷的核苷酸间键联包含未经取代的三唑基,例如,。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含经取代的三唑基,例如,。

[0810] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,至少两个杂原子是氮。在一些实施例中,杂环基直接键合到键联磷。在一些实施例中,当杂环基是经由其=N-直接与键联磷键合的胍部分的一部分时,该杂环基经由接头(例如,=N-)与键联磷键合。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的基团。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含经取代的基团。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含基团,其中每个R^1独立地是-L-R。在一些实施例中,每个R^1独立地是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,每个R^1独立地是甲基。

[0811] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含三唑或炔烃部分,其各自是任选地经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含未经取代的三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含经取代的三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含烷基部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含未经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含经取代的炔基。在一些实施例中,炔基直接键合到键联磷。

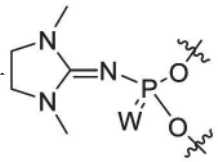
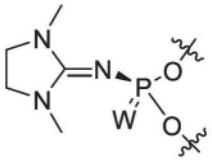
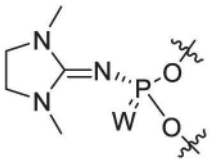
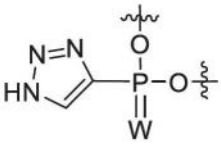
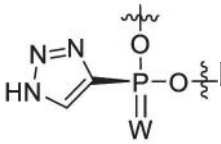
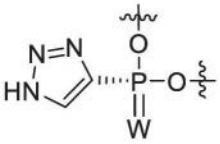
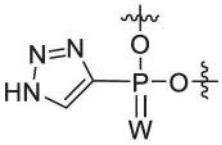
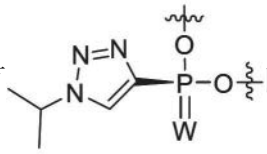
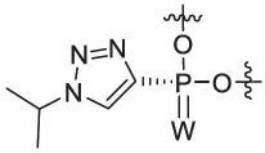
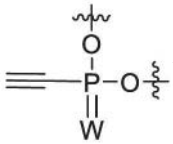
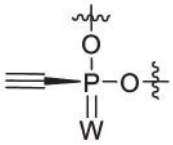
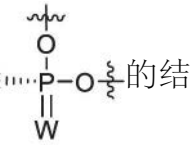
[0812] 在一些实施例中,寡核苷酸包含不同类型的核苷酸间磷键联。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的(非天然)核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个硫代磷酸酯。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键联、至少一个天然磷酸酯键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-20、1-15、1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含不

超过一定数量的不带负电荷的核苷酸间键联,例如不超过1个、不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个、不超过6个、不超过7个、不超过8个、不超过9个、不超过10个、不超过11个、不超过12个、不超过13个、不超过14个、不超过15个、不超过16个、不超过17个、不超过18个、不超过19个、不超过20个、不超过21个、不超过22个、不超过23个、不超过24个、不超过25个、不超过26个、不超过27个、不超过28个、不超过29个或不超过30个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸不包含不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是不带负电荷的,因为在给定pH下在水溶液中,少于50%、40%、40%、30%、20%、10%、5%或1%的核苷酸间键联以带负电荷的盐形式存在。在一些实施例中,pH为约pH 7.4。在一些实施例中,pH为约4-9。在一些实施例中,百分比小于10%。在一些实施例中,百分比小于5%。在一些实施例中,百分比小于1%。在一些实施例中,核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,因为核苷酸间键联的中性形式于水中不具有不超过约1、2、3、4、5、6或7的pKa。在一些实施例中,没有pKa为7或更小。在一些实施例中,没有pKa为6或更小。在一些实施例中,没有pKa为5或更小。在一些实施例中,没有pKa为4或更小。在一些实施例中,没有pKa为3或更小。在一些实施例中,没有pKa为2或更小。在一些实施例中,没有pKa为1或更小。在一些实施例中,核苷酸间键联的中性形式的pKa可以表示为具有结构CH_3-核苷酸间键联-CH_3的化合物的中性形式的pKa。例如,具有式I的结构的核苷酸间键联的中性形式的pKa可由具有的结构的化合物的中性形式的pKa表示(其中X、Y、Z各自独立地是-O-、-S-、-N(R′)-;L是L^B,并且R^1是-L-R′),的pKa可以由的pKa表示。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含胍部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含杂芳基碱基部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含三唑部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含炔基部分。

[0813] 在一些实施例中,中性或不带负电荷的核苷酸间键联具有以下任一文献中描述的任何中性或不带负电荷的核苷酸间键联的结构:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的每个中性或不带负电荷的核苷酸间键联通过援引特此并入。

[0814] 在一些实施例中,每个R′独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个R’独立地是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,每个R′独立地是-CH_3。在一

些实施例中,每个R^s是—H。

[0815] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是上述不带负电荷的核苷酸间键联。

[0816] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1个或多个具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-

1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1或II-d-2的核苷酸间键联,其在以下文献中描述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159(式I、I-a、I-b、1-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1或II-d-2或其盐形式),其各自独立地通过援引并入本文。

[0817] 在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和不是中性核苷酸间键联的手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联和一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联和一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性控制的和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性控制的和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的不带负电荷的核苷酸间键联(在一些实施例中,其各自独立地是n001)。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性控制的和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性控制的中性核苷酸间键联(在一些实施例中,其各自独立地是n001)。

[0818] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,中性核苷酸间键联可以比硫代磷酸酯核苷酸间键联(PS)更具疏水性,而硫代磷酸酯核苷酸间键联可以比天然磷酸酯键联(PO)更具疏水性。典型地,不同于PS或PO,中性核苷酸间键联具有更少的电荷。不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个中性核苷酸间键联掺入寡核苷酸中可以增加寡核苷酸被细胞摄取和/或从内体逃脱的能力。不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个中性核苷酸间键联掺入可以用于调节在寡核苷酸与其靶核酸之间形成的双链体的解链温度。

[0819] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联(例如,中性核苷酸间键联)掺入寡核苷酸中可能能够增加寡核苷酸介导诸如靶腺苷编辑的功能的能力。

[0820] 如本领域技术人员所理解的,核苷酸间键联诸如天然磷酸酯键联和具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2或其盐形式的结构的那些典型地连接两个核苷(其可以是天然的或经修饰的),如以下文献中所述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2或其盐形式独立地通过援引并入本文。如天然DNA和RNA中的典型连接是核苷酸间键联与两个糖(其可以是未修饰的或如本文所述的经修饰的)形成键。在许多实施例中,如本文所例示的,核苷酸间键联通过其氧原子或杂原子(例如,在各式中的Y和Z)与在其5′碳处的一个任选地经修饰的核糖或脱氧核糖和在其3′碳处的另一个任选地经修饰的核糖或脱氧核糖形成键。在一些实施例中,通过核苷酸间键联连接的每个核苷单元独立地包含独立地是任选地经取代的A、T、C、G或U或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体的核碱基,或包含具有至少一个氮原子的任选地经取代的杂环基和/或杂芳基环的核碱基。

[0821] 在一些实施例中,键联具有或包含-y-P^L(-X-R^L)-Z-或其盐形式的结构,其中:

P^L是P、P(=W)、P->B(-L^L-R^L)$_3$、或P^N;

W是O、N(-L^L-R^L)、S或Se;

P^N是P=N-C(-L^L-R')(=L^N-R')或P=N-L^L-R^L;

L^N是=N-L^{L1}-、=CH-L^{L1}-(其中CH是任选地经取代的)、或=N^+(R')(Q^-)-L^{L1}-;

Q^-是阴离子;

X、Y和Z中的每一个独立地是-O-、-S-、-L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-、-L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L-、或L^L;

每个R^L独立地是-L^L-N(R')$_2$、-L^L-R'、-N=C(-L^L-R')$_2$、-L^L-N(R')C(NR')N(R')$_2$、-L^L-N(R')C(O)N(R')$_2$、碳水化合物、或一个或多个任选地通过接头连接的另外的化学部分;

L^{L1}和L^L各自独立地是L;

-Cy^{IL}-是-Cy-;

每个L独立地是共价键,或选自C_{1-30}脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C_{1-30}杂脂肪族基团的二价、任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团代替:C_{1-6}亚烷基、C_{1-6}亚烯基、-C≡C-、具有1-5个杂原子的二价C_1-C_6杂脂肪族基团、-C(R')$_2$-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(NR')N(R')-、-N(R')C(NR')N(R')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)

(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')$_3$]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-、-OP(OR')[B(R')$_3$]O-、和-[C(R')$_2$C(R')$_2$O]n-,其中n是1-50,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy^{L}代替;

每个-Cy-独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的二价3-30元单环、双环或多环;

每个Cy^{L}独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的三价或四价3-30元单环、双环或多环;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)N(R)$_2$、-C(O)OR、或-S(O)$_2$R;

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C$_{1-30}$脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C$_{1-30}$杂脂肪族基团、C$_{6-30}$芳基、C$_{6-30}$芳基脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C$_{6-30}$芳基杂脂肪族基团、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基、以及具有1-10个杂原子的3-30元杂环基,或

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;或者

两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0822] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P^L(-X-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)(-X-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)[-N(-L^L-R^L)-R^L]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)(-NH-L^L-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)[-N(R')$_2$]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)(-NHR')-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)(-NHSO$_2$R)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,核苷酸间键联是-O-P(=O)(-NHSO$_2$CH$_3$)-O-。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)[-N=C(-L^L-R')$_2$]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-O-P(=W)[-N=C[N(R')$_2$]$_2$]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=W)(-N=C(R")$_2$)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=W)(-N(R")$_2$)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

[0823] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P^L(-X-R^L)-Z-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P^L(-X-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-X-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)[-N(-L^L-R^L)-R^L]-O-

的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-NH-L^L-R^L)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)[-N(R')$_2$]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-NHR')-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-NHSO$_2$R)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,核苷酸间键联是-P(=O)(-NHSO$_2$CH$_3$)-O-。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)[-N=C(-L^L-R')$_2$]-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)[-N=C[N(R')$_2$]$_2$]-O-的结构,其中每个变量是独立的,如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-N=C(R")$_2$)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=W)(-N(R")$_2$)-O-的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联的P键合至糖的N。

[0824] 在一些实施例中,键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,键联是硫代磷酰基胍核苷酸间键联。

[0825] 在一些实施例中,一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被如本文所述的部分代替。在一些实施例中,L或L^L是或包含-SO$_2$-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-SO$_2$N(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-C(O)-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-C(O)O-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-C(O)N(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=W)(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=O)(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=S)(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(R')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=W)(OR')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=O)(OR')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(=S)(OR')-。在一些实施例中,L或L^L是或包含-P(OR')-。

[0826] 在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')SO$_2$$R^L$。在一些实施例中,-X-$R^L$是-N(R')C(O)$R^L$。在一些实施例中,-X-$R^L$是-N(R')P(=O)(R')$R^L$。

[0827] 在一些实施例中,键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联,具有以下或其盐形式的结构或包含以下或其盐形式:-P(=W)(-N=C(R")$_2$)-、-P(=W)(-N(R')SO$_2$R")、-P(=W)(-N(R')C(O)R")-、-P(=W)(-N(R")$_2$)-、-P(=W)(-N(R')P(O)(R")$_2$)-、-OP(=W)(-N=C(R")$_2$)O-、-OP(=W)(-N(R')SO$_2$R")O-、-OP(=W)(-N(R')C(O)R")O-、-OP(=W)(-N(R")$_2$)O-、-OP(=W)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-、-P(=W)(-N=C(R")$_2$)O-、-P(=W)(-N(R')SO$_2$R")O-、-P(=W)(-N(R')C(O)R")O-、-P(=W)(-N(R")$_2$)O-、或-P(=W)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-,其中:

W是O或S;

每个R"独立地是R'、OR'、-P(=W)(R')$_2$、或N(R')$_2$;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)N(R)$_2$、-C(O)OR、或-S(O)$_2$R;

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C_{1-30}脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C_{1-30}杂脂肪族基团、C_{6-30}芳基、C_{6-30}芳基脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C_{6-30}芳基杂脂肪族基团、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基、以及具有1-10个杂原子的3-

30元杂环基,或

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或

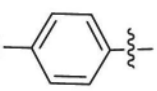
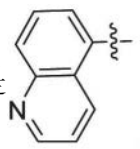
同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;或者

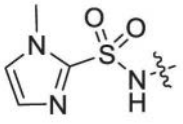
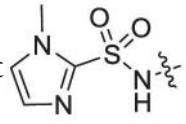
两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0828] 在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N=C(R")$_2$)-、-P(=O)(-N(R')SO$_2$R")-、-P(=O)(-N(R')C(O)R")-、-P(=O)(-N(R")$_2$)-、-P(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)-、-OP(=O)(-N=C(R")$_2$)O-、-OP(=O)(-N(R')SO$_2$R")O-、-OP(=O)(-N(R')C(O)R")O-、-OP(=O)(-N(R")$_2$)O-、-OP(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-、-P(=O)(-N=C(R")$_2$)O-、-P(=O)(-N(R')SO$_2$R")O-、-P(=O)(-N(R')C(O)R")O-、-P(=O)(-N(R")$_2$)O-或-P(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N=C(R")$_2$)--P(=O)(-N(R")$_2$)-、-OP(=O)(-N=C(R")$_2$)-O-、-OP(=O)(-N(R")$_2$)-O-、-P(=O)(-N=C(R")$_2$)-O-或-P(=O)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N=C(R")$_2$)-O-或-OP(=O)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N=C(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')SO$_2$R")O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')C(O)R")O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联是n001。

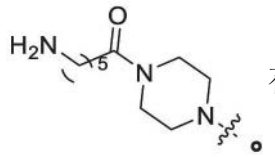
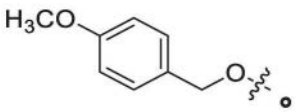
[0829] 在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N=C(R")$_2$)-、-P(=S)(-N(R')SO$_2$R")-、-P(=S)(-N(R')C(O)R")-、-P(=S)(-N(R")$_2$)-、-P(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)-、-OP(=S)(-N=C(R")$_2$)O-、-OP(=S)(-N(R')SO$_2$R")O-、-OP(=S)(-N(R')C(O)R")O-、-OP(=S)(-N(R")$_2$)O-、-OP(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-、-P(=S)(-N=C(R")$_2$)O-、-P(=S)(-N(R')SO$_2$R")O-、-P(=S)(-N(R')C(O)R")O-、-P(=S)(-N(R")$_2$)O-或-P(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N=C(R")$_2$)--P(=S)(-N(R")$_2$)-、-OP(=S)(-N=C(R")$_2$)-O-、-OP(=S)(-N(R")$_2$)-O-、-P(=S)(-N=C(R")$_2$)-O-或-P(=S)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N=C(R")$_2$)-O-或-OP(=S)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N=C(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R")$_2$)-O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')SO$_2$R")O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')C(O)R")O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-或其盐形式的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联是*n001。

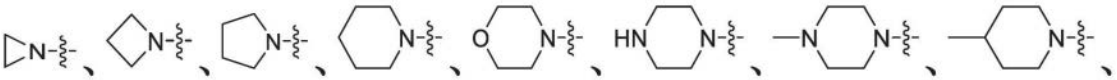
[0830] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')SO$_2$R")-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')SO$_2$R")-的结构,其中R"如本

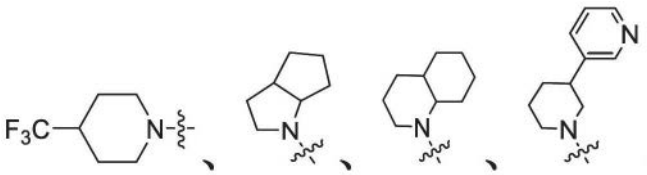
文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')SO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')SO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')SO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')SO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,例如-N(R')-的R'是氢或任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R'是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R'是氢。在一些实施例中,R"(例如,在-SO_2R"中)是如本文所述的R'。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHSO_2R")-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHSO_2R")-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHSO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHSO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-NHSO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-NHSO_2R")O-的结构,其中R"如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')SO_2R^L,其中R'和R^L中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R^L是R"。在一些实施例中,R^L是R'。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')SO_2R",其中R'如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')SO_2R',其中R'如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-NHSO_2R',其中R'如本文所述。在一些实施例中,R'是如本文所述的R。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R"(例如,在-SO_2R"中)是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的选自C_{1-6}脂肪族基、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}炔基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,-X-R^L是-NHSO_2CH_3。在一些实施例中,R是-CF_3。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是-CH_2CHF_2。在一些实施例中,R是-$CH_2CH_2OCH_3$。在一些实施例中,R是任选地经取代的丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丁基。在一些实施例中,R是正丁基。在一些实施例中,R是-$(CH_2)_6NH_2$。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_{2-20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。在一些实施例中,R是对甲基苯基。在一些实施例中,R是4-二甲基氨基苯基。在一些实施例中,R是3-吡啶基。在一些实施例中,R是。在一些实施例中,R是。在一些实施例中,R是苄基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经

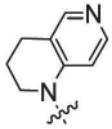
取代的1,3-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1-甲基-2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R是异丙基。在一些实施例中,R”是-N(R’)$_2$。在一些实施例中,R”是-N(CH$_3$)$_2$。在一些实施例中,R”(例如,在-SO$_2$R”中),是-OR’,其中R’如本文所述。在一些实施例中,R′是如本文所述的R。在一些实施例中,R”是-OCH$_3$。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$R)O-,其中R如本文所述。在一些实施例中,R是如本文所述的任选地经取代的直链烷基。在一些实施例中,R是如本文所述的直链烷基。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH$_3$)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH$_2$CH$_3$)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH$_2$CH$_2$OCH$_3$)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH$_2$Ph)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH$_2$CHF$_2$)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$(4-甲基苯基))O-。在一些实施例中,-X-R^{L}是。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-X-R^L)O-,其中-X-R^{L}是。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$CH(CH$_3$)$_2$)O-。在一些实施例中,键联是-OP(=O)(-NHSO$_2$N(CH$_3$)$_2$)O-。在一些实施例中,键联是n002。在一些实施例中,键联是n006。在一些实施例中,键联是n020。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联可以用来代替像n001这样的键联。

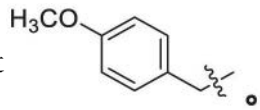
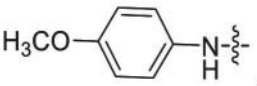
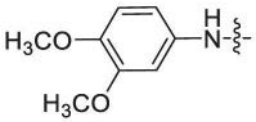
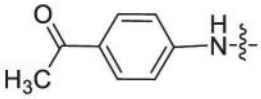
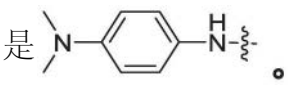
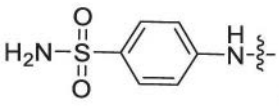
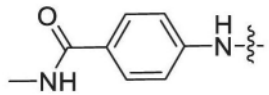
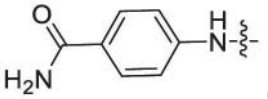
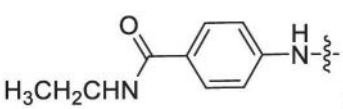
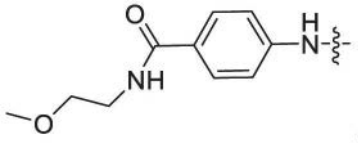
[0831] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R’)C(O)R”)-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R’)C(O)R”)-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R’)C(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R’)C(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R’)C(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R’)C(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,例如-N(R’)-的R′是氢或任选地经取代的C$_{1-6}$脂肪族基。在一些实施例中,R′是C$_{1-6}$烷基。在一些实施例中,R′是氢。在一些实施例中,R”(例如,在-C(O)R”中)是如本文所述的R’。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHC(O)R”)-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHC(O)R”)-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHC(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHC(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-NHC(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-NHC(O)R”)O-的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,-X-R^{L}是-N(R’)COR^L,其中R^{L}如本文所述。在一些实施例中,-X-R^{L}是-N(R’)COR”,其中R”如本文所述。在一些实施例中,-X-R^{L}是-N(R’)COR’,其中R′如本文所述。在一些实施例中,-X-R^{L}是-NHCOR’,其中R’如本文所述。在一些实施例中,R′是如本文所述的R。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C$_{1-6}$脂肪族基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的C$_{1-6}$烷基。在一些实施例中,R’是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R”(例如,在-C(O)R”中)是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的选自C$_{1-6}$脂肪族基、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中,R是任选地经取代的C$_{1-6}$脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C$_{1-6}$烷

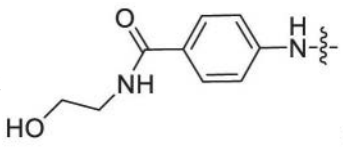
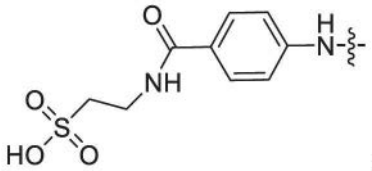
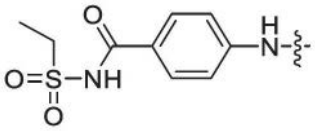
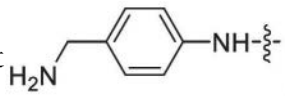
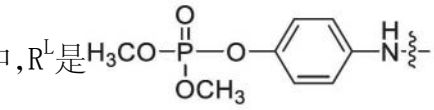
基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}炔基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,-X-R^L是-NHC(O)CH_3。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是-CF_3。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是-CH_2CHF_2。在一些实施例中,R是-$CH_2CH_2OCH_3$。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}(例如,C_{1-6}、C_{2-6}、C_{3-6}、C_{1-10}、C_{2-10}、C_{3-10}、C_{2-20}、C_{3-20}、C_{10-20}、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20等)脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}(例如,C_{1-6}、C_{2-6}、C_{3-6}、C_{1-10}、C_{2-10}、C_{3-10}、C_{2-20}、C_{3-20}、C_{10-20}、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20等)烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_{2-20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是对甲基苯基。在一些实施例中,R是苄基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1,3-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1-甲基-2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R^L是-$(CH_2)_5NH_2$。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R"是-N(R')$_2$。在一些实施例中,R"是-N$(CH_3)_2$。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')CON$(R^L)_2$,其中R′和R^L独立地如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-NHCON$(R^L)_2$,其中R^L如本文所述。在一些实施例中,两个R′或两个R^L与它们连接的氮原子一起形成如本文所述的环,例如任选地经取代的

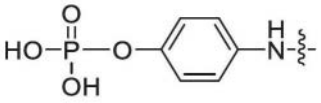
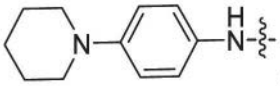
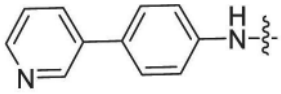
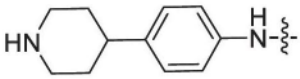


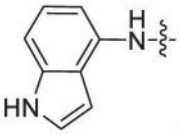


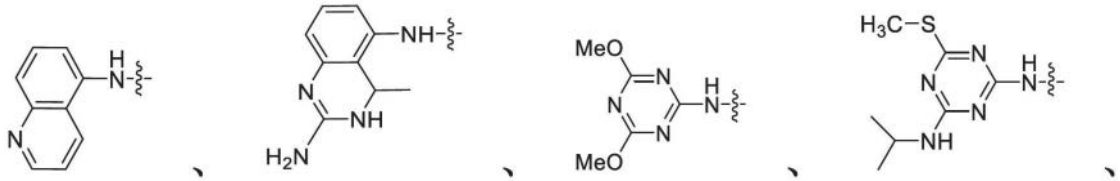
或。在一些实施例中,R"(例如,在-C(O)R"中),是-OR',其中R'如本文所述。在一些实施例中,R′是如本文所述的R。在一些实施例中,是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R"是-OCH_3。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')C(O)OR^L,其中R′和

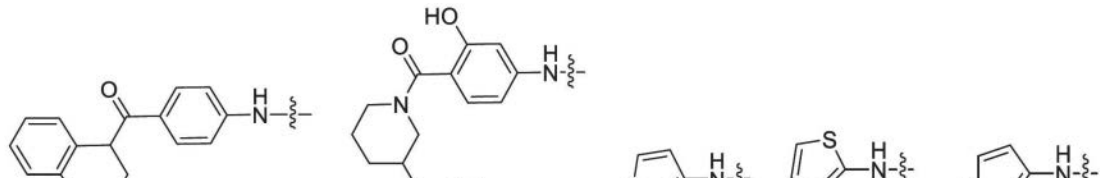
R^L中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R是。在一些实施例中,-X-R^L是-NHC(O)OCH_3。在一些实施例中,-X-R^L是-NHC(O)$N(CH_3)_2$。在一些实施例中,键联是-OP(O)(NHC(O)CH_3)O-。在一些实施例中,键联是-OP(O)(NHC(O)OCH_3)O-。在一些实施例中,键联是-OP(O)(NHC(O)(对甲基苯基))O-。在一些实施例中,键联是-OP(O)(NHC(O)$N(CH_3)_2$)O-。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')R^L,其中R′和R^L中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-N(R')R^L,其中R′和R^L中的每一个独立地不是氢。在一些实施例中,-X-R^L是-NHR^L,其中R^L如本文所述。在一些实施例中,R^L不是氢。在一些实施例中,R^L是任选地经取代的芳基或杂芳基。在一些实施例中,R^L是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R^L是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,-X-R^L是-$N(R')_2$,其中每个R′独立地如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-NHR',其中R'如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是-NHR,其中R如本文所述。在一些实施例中,-X-R^L是R^L,其中R^L如本文所述。在一些实施例中,R^L是-$N(R')_2$,其中每个R′独立地如本文所述。在一些实施例中,R^L是-NHR',其中R′如本文所述。在一些实施例中,R^L是-NHR,其中R如本文所述。在一些实施例中,R^L是-$N(R')_2$,其中每个R′独立地如本文所述。在一些实施例中,-$N(R')_2$中的R′都不是氢。在一些实施例中,R^L是-$N(R')_2$,其中每个R′独立地是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^L是-L-R′,其中L和R′中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R^L是-L-R,其中L和R中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-N(R')-R'。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-C(O)-R'。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-O-R'。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-SO_2-R'。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-SO_2-$N(R')_2$。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-C(O)-$N(R')_2$。在一些实施例中,R^L是-N(R')-Cy-OP(O)$(R")_2$。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的二价芳基基团。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的1,4-亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是1,4-亚苯基。在一些实施例中,R^L是-$N(CH_3)_2$。在一些实施例中,R^L是-$N(i\text{-}Pr)_2$。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。在一些实施例中,R^L是。

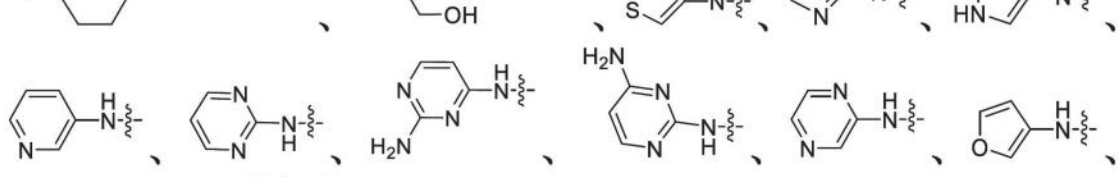
中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是

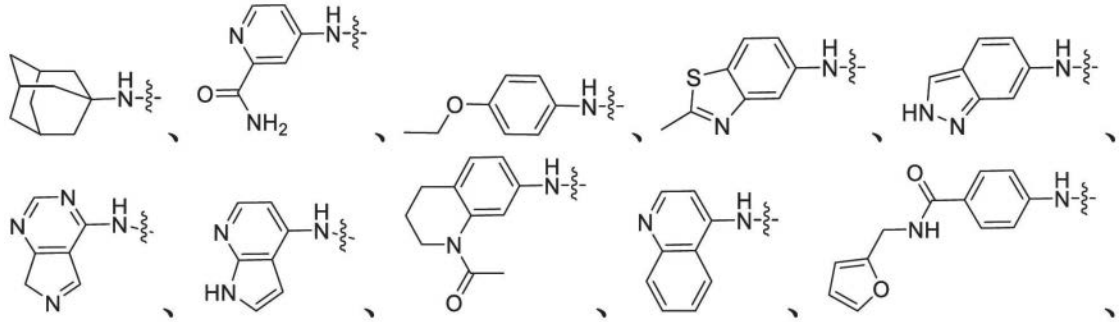
 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是 在一些实施例中，R^L是

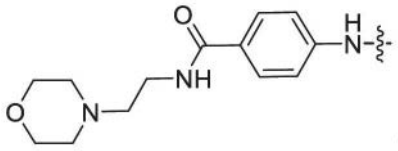
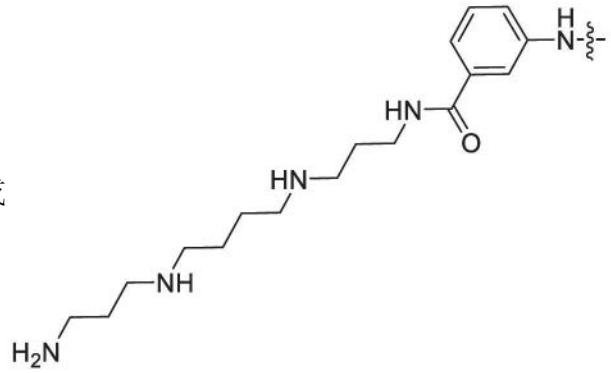
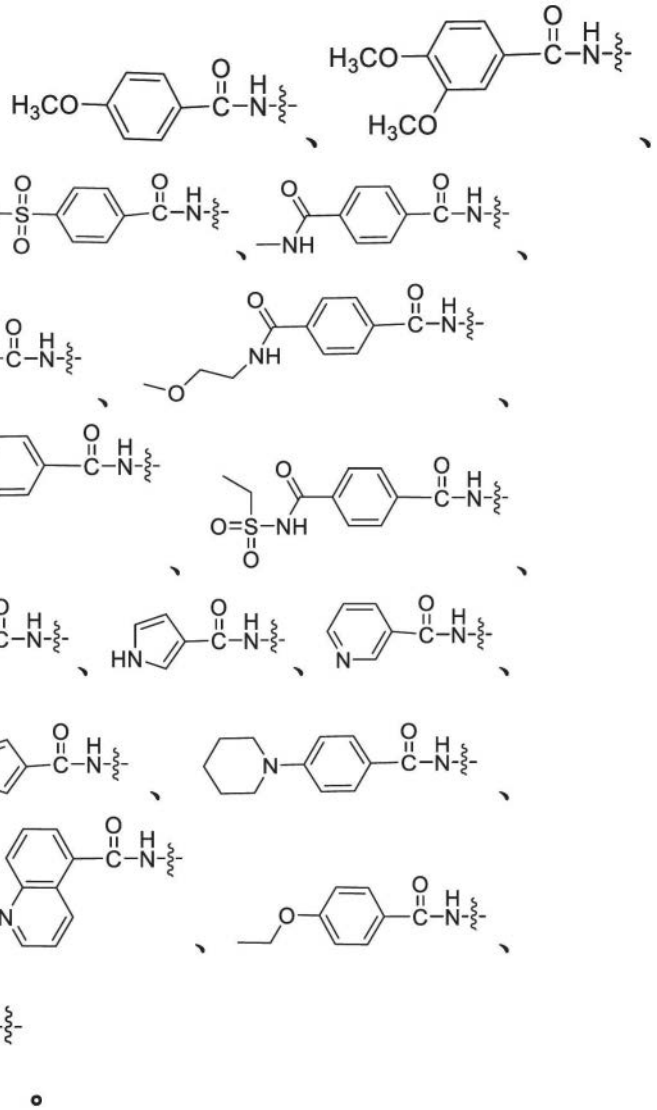











、或在一些实施例中，-X-R^L是-N(R')-C(O)-Cy-R^L。在一些实施例中，-X-R^L是R^L。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-O-R'。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-R'。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-R'。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-$N(R')_2$。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-SO_2-$N(R')_2$。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-$N(R')_2$。在一些实施例中，R^L是-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-N(R')-SO_2-R'。在一些实施例中，R'是如本文所述的R。在一些实施例中，R^L是

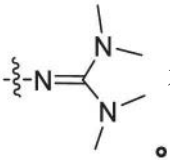
[0832] 如本文所述，在一些实施例中，L的一个或多个亚甲基单元或包含L或为L的变量独立地被-O-、-N(R')-、-C(O)-、-C(O)N(R')-、-SO_2-、-SO_2N(R')-、或-Cy-代替。在一些实施例

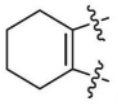
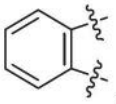
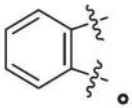
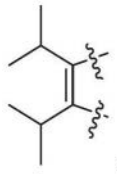
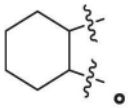
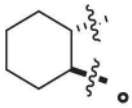
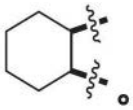
中,亚甲基单元被-Cy-代替。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的二价芳基基团。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的1,4-亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的具有1-10个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)杂原子的二价5-20(例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元杂芳基基团。在一些实施例中,-Cy-是单环的。在一些实施例中,-Cy-是双环的。在一些实施例中,-Cy-是多环的。在一些实施例中,-Cy-中的每个单环单元独立地为3-10(例如,3、4、5、6、7、8、9或10)元,并且独立地为饱和的、部分饱和的或芳族的。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的3-20(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元单环、双环或多环脂肪族基团。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的具有1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个杂原子的3-20(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元单环、双环或多环杂脂肪族基团。

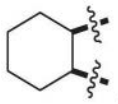
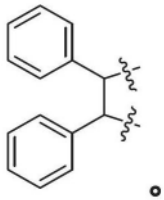
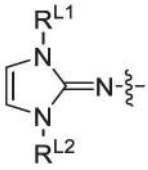
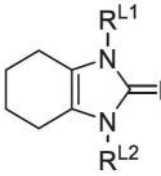
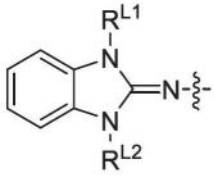
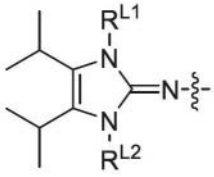
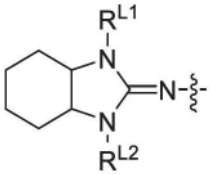
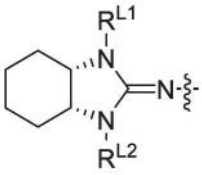
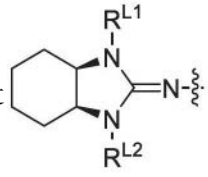
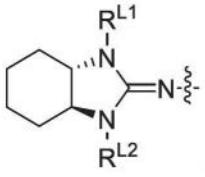
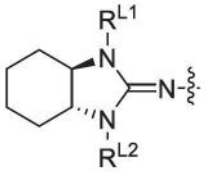
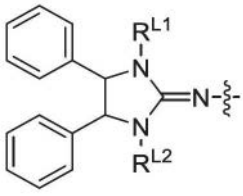
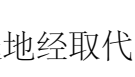
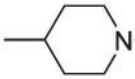
[0833] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')P(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,例如-N(R')-的R'是氢或任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R'是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R'是氢。在一些实施例中,R"(例如,在-P(O)(R")$_2$中)是如本文所述的R'。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHP(O)(R")$_2$)-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHP(O)(R")$_2$)-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHP(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHP(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-NHP(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-NHP(O)(R")$_2$)O-的结构,其中每个R"独立地如本文所述。在一些实施例中,R"的出现(例如,在-P(O)(R")$_2$中)是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的选自C_{1-6}脂肪族基、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}炔基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是-CF_3。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是-CH_2CHF_2。在一些实施例中,R是-$CH_2CH_2OCH_3$。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}(例如,C_{1-6}、C_{2-6}、C_{3-6}、C_{1-10}、C_{2-10}、C_{3-10}、C_{2-20}、C_{3-20}、C_{10-20}、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20等)脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}(例如,C_{1-6}、C_{2-6}、C_{3-6}、C_{1-10}、C_{2-10}、C_{3-10}、C_{2-20}、C_{3-20}、C_{10-20}、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20等)烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_{2-20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_{2-20}烷

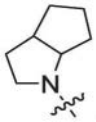
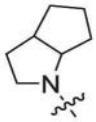
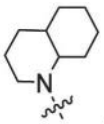
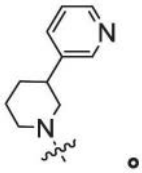
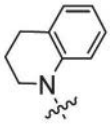
基。在一些实施例中,R是异丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,R是直链C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_7、C_8、C_9、C_{10}、C_{11}、C_{12}、C_{13}、C_{14}、C_{15}、C_{16}、C_{17}、C_{18}、C_{19}、或C_{20}烷基。在一些实施例中,每个R”独立地是如本文所述的R,例如,在一些实施例中,每个R”是甲基。在一些实施例中,R”是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是对甲基苯基。在一些实施例中,R是苄基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1,3-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1-甲基-2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R”的出现是$-N(R')_2$。在一些实施例中,R”是$-N(CH_3)_2$。在一些实施例中,R”(例如,在$-P(O)(R")_2$中)的出现是-OR',其中R'如本文所述。在一些实施例中,R′是如本文所述的R。在一些实施例中,是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R”是$-OCH_3$。在一些实施例中,每个R”是如本文所述的-OR'。在一些实施例中,每个R”是$-OCH_3$。在一些实施例中,每个R”是-OH。在一些实施例中,键联是$-OP(O)(NHP(O)(OH)_2)O-$。在一些实施例中,键联是$-OP(O)(NHP(O)(OCH_3)_2)O-$。在一些实施例中,键联是$-OP(O)(NHP(O)(CH_3)_2)O-$。

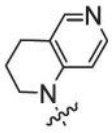
[0834] 在一些实施例中,$-N(R")_2$是$-N(R')_2$。在一些实施例中,$-N(R")_2$是-NHR。在一些实施例中,$-N(R")_2$是-NHC(O)R。在一些实施例中,$-N(R")_2$是-NHC(O)OR。在一些实施例中,$-N(R")_2$是$-NHS(O)_2R$。

[0835] 在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联包含如本文所述的$-X-R^L$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(-L^L-R^L)_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R^L)_2]_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[NR'R^L]_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R')_2]_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R^L)_2](CHR^{L1}R^{L2})$,其中$R^{L1}$和$R^{L2}$中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^L)(CHR^{L1}R^{L2})$,其中$R^{L1}$和$R^{L2}$中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$,其中$R^{L1}$和$R^{L2}$中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R')_2](CHR'R^{L2})$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R^L)_2](R^L)$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^L)(R^L)$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^L)(R')$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C[N(R')_2](R')$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$,其中每个$R^{L1}$和$R^{L2}$独立地是$R^L$,并且每个R'和$R^L$独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$,其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^{L1})(CHR'R^{L2})$,其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(NR'R^{L1})(R')$,其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中,每个R'独立地是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,$-X-R^L$是。在一些实施例中,两个选自R'、R^L、R^{L1}、

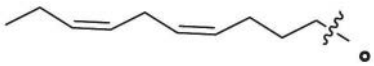
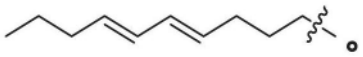
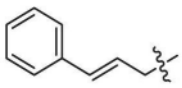
R^{L2}等的基团(在一些实施例中,在同一原子上(例如,-N(R')$_2$或-NR'R^L或-N(R^L)^{2}等,其中R'和R^L可以独立地是如本身所述的R),或在不同原子上(例如,-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)或-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})中的两个R';也可以是两个可以是R的两个其他变量,例如,R^L、R^{L1}、R^{L2}等))独立地是R并且与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,例如-N(R')$_2$、-N(R^L)$_2$、-NR'R^L、-NR'R^{L1}、-NR'R^{L2}、-CR'$R^{L1}R^{L2}$等的同一原子上的R、R'、R^L、R^{L1}或R^{L2}中两个一起形成本文所述的环。在一些实施例中,在两个不同的原子上的两个R′、R^L、R^{L1}或R^{L2},例如在-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)、-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})等中的两个R'一起形成本文所述的环。在一些实施例中,形成的环是任选地经取代的具有0-5个另外的杂原子的3-20(例如,3-15、3-12、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、4-15、4-12、4-10、4-9、4-8、4-7、4-6、5-15、5-12、5-10、5-9、5-8、5-7、5-6、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、等)单环、双环或三环。在一些实施例中,形成的环是如本文所述的单环。在一些实施例中,形成的环是任选地经取代的5-10元单环。在一些实施例中,所形成的环是双环的。在一些实施例中,所形成的环是多环的。在一些实施例中,是或可以是R的两个基团(例如-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)或-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})中的两个R′,-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)、-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})中的两个R′,等)一起形成任选地经取代的二价烃链,例如任选地经取代的C_{1-20}脂肪族链,任选地经取代的-(CH_2)n-,其中n是1-20(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20)。在一些实施例中,烃链是饱和的。在一些实施例中,烃链是部分不饱和的。在一些实施例中,烃链是不饱和的。在一些实施例中,是或可以是R的两个基团(例如-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)或-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})中的两个R′,-N=C(NR'R^L)(CR'$R^{L1}R^{L2}$)、-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})中的两个R′,等)一起形成任选地经取代的二价杂脂肪族链,例如任选地经取代的具有1-10个杂原子的C_{1-20}杂脂肪族链。在一些实施例中,杂脂肪族链是饱和的。在一些实施例中,杂脂肪族链是部分不饱和的。在一些实施例中,杂脂肪族链是不饱和的。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_2$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_2$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_3$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_4$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_5$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-(CH_2)$_6$-。在一些实施例中,链是任选地经取代的-CH=CH-。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,

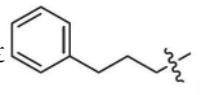
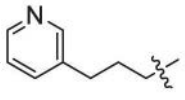
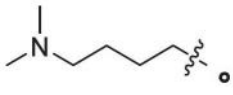
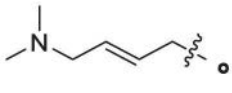
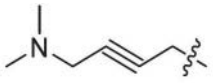
链是任选地经取代的。在一些实施例中,链是任选地经取代的。在一些实施例中,不同原子上的R、R'、R^L、R^{L1}、R^{L2}等中两个一起形成如本文所述的环。例如,在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-N(R')$_2$、-N(R)$_2$、-N(R^L)$_2$、-NR'R^L、-NR'R^{L1}、-NR'R^{L2}、-N$R^{L1}R^{L2}$等是所形成的环。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,

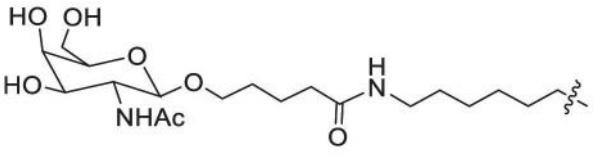
环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的。在一些实施例中,环是任选地经取代的

。

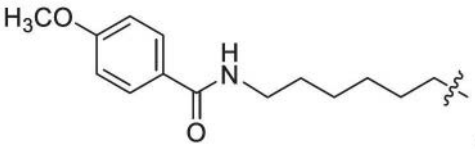
[0836] 在一些实施例中,R^{L1}和R^{L2}相同。在一些实施例中,R^{L1}和R^{L2}不同。在一些实施例中,R^{L1}和R^{L2}中的每一个独立地是R^{L},如本文所述,例如以下所述。

[0837] 在一些实施例中,R^{L}是任选地经取代的C_{1-30}脂肪族基。在一些实施例中,R^{L}是任选地经取代的C_{1-30}烷基。在一些实施例中,R^{L}是直链的。在一些实施例中,R^{L}是任选地经取代的直链C_{1-30}烷基。在一些实施例中,R^{L}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{L}是甲基。在一些实施例中,R^{L}是乙基。在一些实施例中,R^{L}是正丙基。在一些实施例中,R^{L}是异丙基。在一些实施例中,R^{L}是正丁基。在一些实施例中,R^{L}是叔丁基。在一些实施例中,R^{L}是(E)-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_3。在一些实施例中,R^{L}是(Z)-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_3。在一些实施例中,R^{L}是。在一些实施例中,R^{L}是。在一些实施例中,R^{L}是$CH_3(CH_2)_2C{\equiv}CC{\equiv}C(CH_2)_3$-。在一些实施例中,$R^{L}$是$CH_3(CH_2)_5C{\equiv}C$-。在一些实施例中,$R^{L}$任选地经取代的芳基。在一些实施例中,$R^{L}$是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,$R^{L}$是被一个或多个卤素取代的苯基。在一些实施例中,$R^{L}$是任选地被卤素、-N(R')、或-N(R')C(O)R'取代的苯基。在一些实施例中,R^{L}是任选地被-Cl、-Br、-F、-N(Me)$_2$、或-$NHCOCH_3$取代的苯基。在一些实施例中,R^{L}是-L^{L}-R',其中L^{L}是任选地经取代的C_{1-20}饱和、部分不饱和或不饱和烃链。在一些实施例中,这样的烃链是直链。在一些实施例中,这样的烃链是未经取代的。在一些实施例中,L^{L}是(E)-CH_2-CH=CH-。在一些实施例中,L^{L}是-CH_2-C≡C-CH_2-。在一些实施例中,L^{L}是-$(CH_2)_3$-。在一些实施例中,L^{L}是-$(CH_2)_4$-。在一些实施例中,L^{L}是-$(CH_2)_n$-,其中n是1-30(例如1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中,R'是如本文所述的任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R'是苯基。在一些实施例中,R′是如本文所述的任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R′是2'-吡啶基。在一些实施例中,R′是3'-吡啶基。在一些实施例中,R^{L}是。在一些实施例中,R^{L}

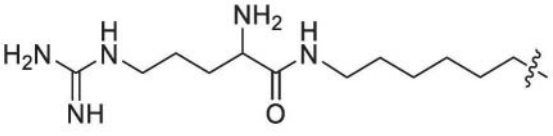
是。在一些实施例中，R^L是。在一些实施例中，R^L是$-L^L-N(R')_2$，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，每个R'独立地是如本文所述的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，$-N(R')_2$是$-N(CH_3)_2$。在一些实施例中，$-N(R')_2$是$-NH_2$。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2)_n-N(R')_2$，其中n是1-30(例如，1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-N(R')_2$，其中n是1-30(例如，1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中，R^L是。在一些实施例中，R^L是。在一些实施例中，R^L是。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2)_n-NH_2$。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-NH_2$。在一些实施例中，$R^L$是$-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-R'$，其中n是1-30(例如，1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2CH_3$，其中n是1-30(例如，1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中，R^L是$-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2OH$，其中n是1-30(例如，1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中，R^L是或包含碳水化合物部分，例如GalNAc。在一些实施例中，R^L是$-L^L$-GalNAc。在一些实施例中，R^L是



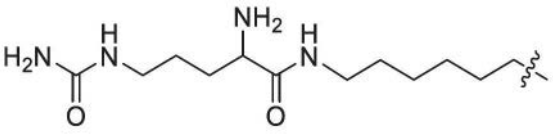
在一些实施例中，L^L的一个或多个亚甲基单元独立地被-Cy-代替(例如，任选地经取代的1,4-亚苯基、任选地经取代的3-30元二价单环、双环或多环环脂肪族环等)、-O-、-N(R')-(例如-NH)、-C(O)-、-C(O)N(R')-(例如-C(O)NH-)、-C(NR')-(例如-C(NH)-)、-N(R')C(O)(N(R')-(例如-NHC(O)NH-)、-N(R')C(NR')(N(R')-(例如-NHC(NH)NH-)、$-(CH_2CH_2O)_n-$等。例如，在一些实施例中，R^L是



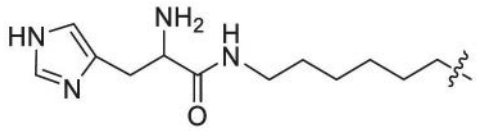
在一些实施例中，R^L是



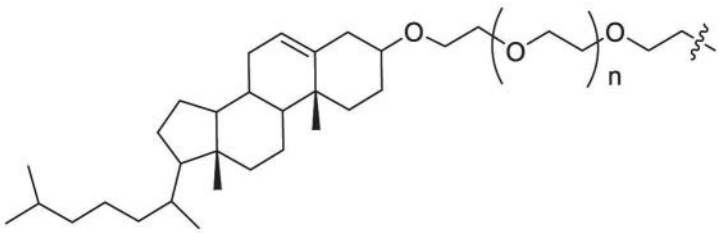
在一些实施例中，R^L是



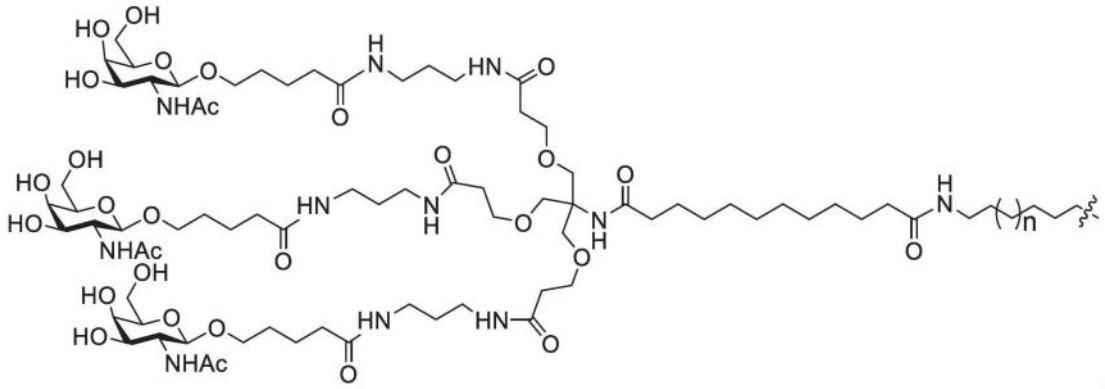
在一些实施例中，R^L是

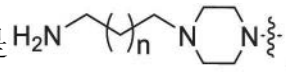
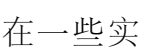
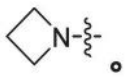
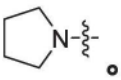
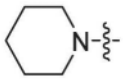
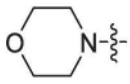
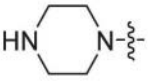
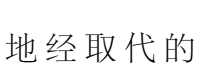


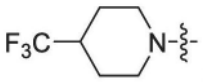
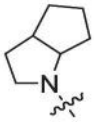
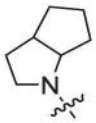
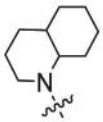
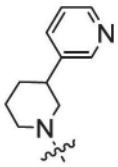
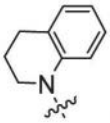
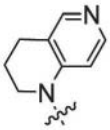
在一些实施例中,R^L是

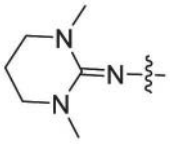
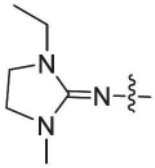
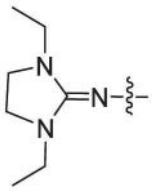
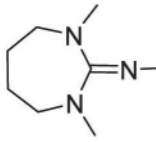
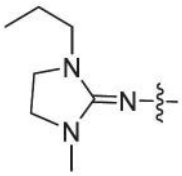
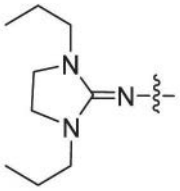
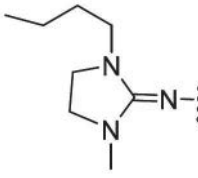
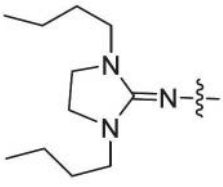
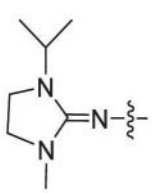
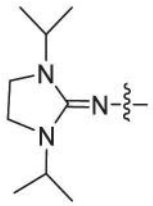
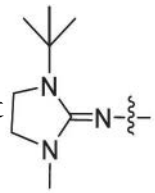


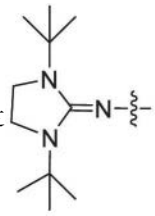
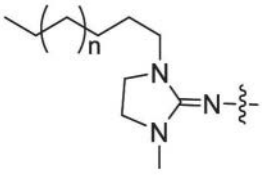
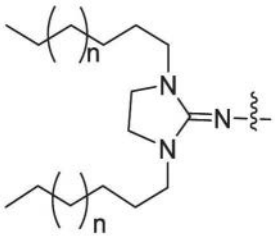
其中n是0-20。在一些实施例中,R^L是或包含一个或多个另外的化学部分(例如碳水化合物部分、GalNAc部分等),其任选地经取代并经由接头(接头可以是二价或多价)连接。例如,在一些实施例中,R^L是

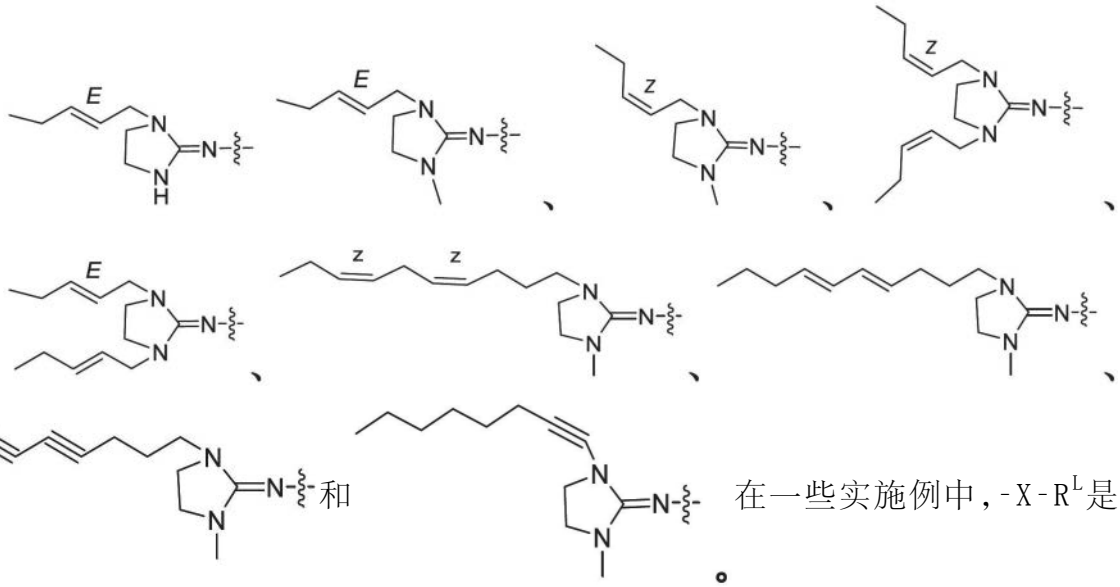


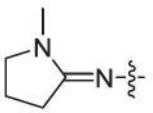
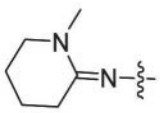
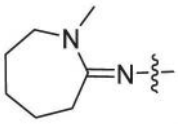
其中n是0-20。在一些实施例中,R^L是,其中n是0-20。在一些实施例中,R^L是如本文所述的R′。如本文所述,许多变量可以独立地是R′。在一些实施例中,R′是如本文所述的R。如本文所述,各种变量可以独立地是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的环烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的具有1-5个杂原子的C_{1-20}杂环基,例如,杂原子中一个是氮。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。在一些实施例中,R是任选地经取代的。

 在一些实施例中,R是任选地经取代的 在一些实施例中,R是任选地经取代的 在一些实施例中,R是任选地经取代的 在一些实施例中,R是任选地经取代的 在一些实施例中,R是任选地经取代的 在一些实施例中,R是任选地经取代的

[0838] 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是

在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是,其中n是1-20。在一些实施例中,-X-R^L是,其中n是1-20。在一些实施例中,-X-R^L选自:



在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。在一些实施例中,-X-R^L是。

[0839] 在一些实施例中,R^L是如本文所述的R"。在一些实施例中,R^L是如本文所述的R。

[0840] 在一些实施例中,R"或R^L是或包含另外的化学部分。在一些实施例中,R"或R^L是或包含另外的化学部分,其中另外的化学部分是或包含碳水化合物部分。在一些实施例中,R"或R^L是或包含GalNAc。在一些实施例中,R^L或R"被代替为或用于连接到另外的化学部分。

[0841] 在一些实施例中,X是-O-。在一些实施例中,X是-S-。在一些实施例中,X是-L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-。在一些实施例中,X是-N(-L^L-R^L)-L^L-。在一些实施例中,X是-L^L-N(-L^L-R^L)-。在一些实施例中,X是-N(-L^L-R^L)-。在一些实施例中,X是-L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L-。在一些实施例中,X是-N=C(-L^L-R^L)-L^L-。在一些实施例中,X是-L^L-N=C(-L^L-R^L)-。在一些实施例中,X是-N=C(-L^L-R^L)-。在一些实施例中,X是L^L。在一些实施例中,X是共价键。

[0842] 在一些实施例中,Y是共价键。在一些实施例中,Y是-O-。在一些实施例中,Y是-N(R')-。在一些实施例中,Z是共价键。在一些实施例中,Z是-O-。在一些实施例中,Z是-N(R')-。在一些实施例中,R'是R。在一些实施例中,R是-H。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。

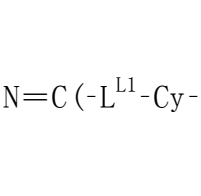
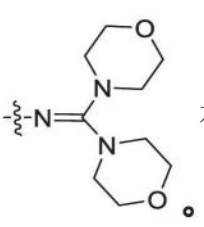
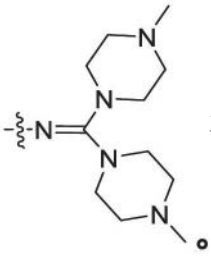
[0843] 如本文所述,本披露中结构中的各种变量可以是或包含R。R的合适的实施例在本披露中被广泛描述。如本领域技术人员所理解的,针对可以是R的变量描述的R实施例也可以适用于可以是R的另一变量。类似地,针对变量的组分/部分(例如,L)描述的实施例也可以适用于可以是或包含该组分/部分的其他变量。

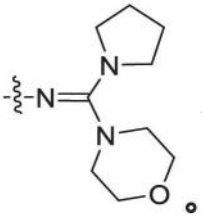
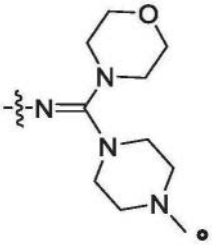
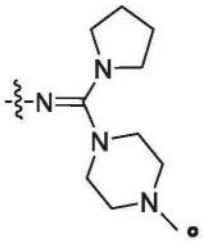
[0844] 在一些实施例中,R"是R'。在一些实施例中,R"是$-N(R')_2$。

[0845] 在一些实施例中,$-X-R^L$是-SH。在一些实施例中,$-X-R^L$是-OH。

[0846] 在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N(R')_2$。在一些实施例中,每个R′独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个R′独立地是甲基。

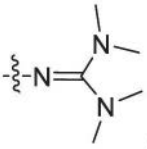
[0847] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有$-OP(=O)(-N=C((N(R')_2)_2-O-$的结构。在一些实施例中,一个$N(R')_2$的R′基团是R,另一个$N(R')_2$的R′基团是R,并且两个R基团与居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的环,例如n001中的5元环。在一些实施例中,每个R'独立地是R,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

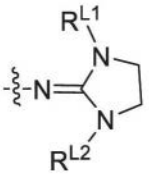
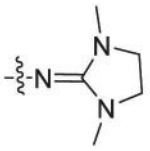
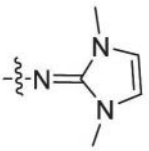
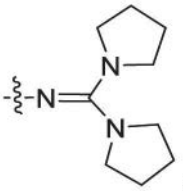
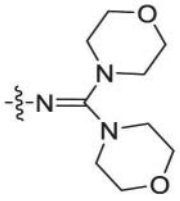
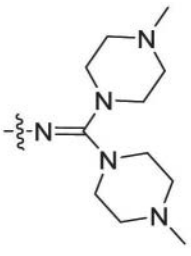
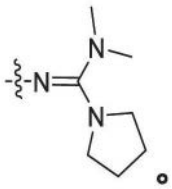
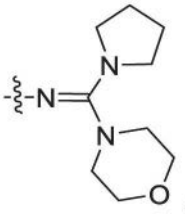
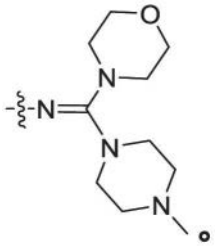
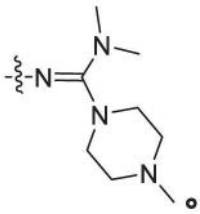
[0848] 在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(-L^L-R')_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(-L^{L1}-L^{L2}-L^{L3}-R')_2$,其中每个$L^{L1}$、$L^{L2}$和$L^{L3}$独立地是L",其中每个L"独立地是共价键,或选自$C_{1-10}$脂肪族基团和具有1-5个杂原子的$C_{1-10}$杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团代替:C_{1-6}亚烷基、C_{1-6}亚烯基、-C≡C-、具有1-5个杂原子的二价C_1-C_6杂脂肪族基团、$-C(R')_2-$、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、$-N(R')-$、$-C(O)-$、$-C(S)-$、$-C(NR')-$、$-C(O)N(R')-$、$-N(R')C(O)N(R')-$、$-N(R')C(O)O-$、$-S(O)-$、$-S(O)_2-$、$-S(O)_2N(R')-$、$-C(O)S-$、$-C(O)O-$、$-P(O)(OR')-$、$-P(O)(SR')-$、$-P(O)(R')-$、$-P(O)(NR')-$、$-P(S)(OR')-$、$-P(S)(SR')-$、$-P(S)(R')-$、$-P(S)(NR')-$、$-P(R')-$、$-P(OR')-$、$-P(SR')-$、$-P(NR')-$、$-P(OR')[B(R')_3]-$、$-OP(O)(OR')O-$、$-OP(O)(SR')O-$、$-OP(O)(R')O-$、$-OP(O)(NR')O-$、$-OP(OR')O-$、$-OP(SR')O-$、$-OP(NR')O-$、$-OP(R')O-$或$-OP(OR')[B(R')_3]O-$,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy^L代替。在一些实施例中,L^{L2}是-Cy-。在一些实施例中,L^{L1}是共价键。在一些实施例中,L^{L3}是共价键。在一些实施例中,$-X-R^L$是$-N=C(-L^{L1}-Cy-L^{L3}-R')_2$。在一些实施例中,$-X-R^L$是。在一些实施例中,$-X-R^L$是。在一些实施例中,$-X-R^L$是。在一些实施

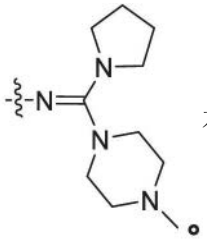
例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是 在一些实施例中,-X-R^L是

[0849] 在一些实施例中,如在本披露中使用的,L是共价键。在一些实施例中,L是选自C_{1-30}脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C_{1-30}杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团代替:C_{1-6}亚烷基、C_{1-6}亚烯基、-C≡C-、具有1-5个杂原子的二价C_1-C_6杂脂肪族基团、-C(R')$_2$-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')$_3$]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-或OP(OR')[B(R')$_3$]O-,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy^L代替。在一些实施例中,L是选自C_{1-30}脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C_{1-30}杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团代替:-C≡C-、-C(R')$_2$-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')$_3$]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-或-OP(OR')[B(R')$_3$]O-,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy^L代替。在一些实施例中,L是选自C_{1-10}脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C_{1-10}杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团代替:-C≡C-、-C(R')$_2$-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')$_3$]-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-或-OP(OR')[B(R')$_3$]O-,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy^L代替。在一些实施例中,一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被任选地经取代的基

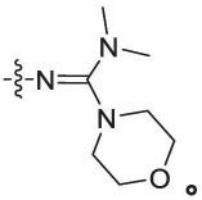
团取代,所述基团选自-C≡C-、-C(R')$_2$-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)$_2$-、-S(O)$_2$N(R')-、-C(O)S-或-C(O)O-。

[0850] 在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,-X-R^{L}是-N=C[N(R')$_2$]$_2$。在一些实施例中,每个R'独立地是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的C$_{1-6}$脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,氮原子上的一个R′与另一个氮原子上的R′一起形成如本文所述的环。

[0851] 在一些实施例中,-X-R^{L}是 其中R^{1}和R^{2}独立地是R′。在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,相同氮上的两个R′一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是 在一些实施例中,-X-R^{L}是



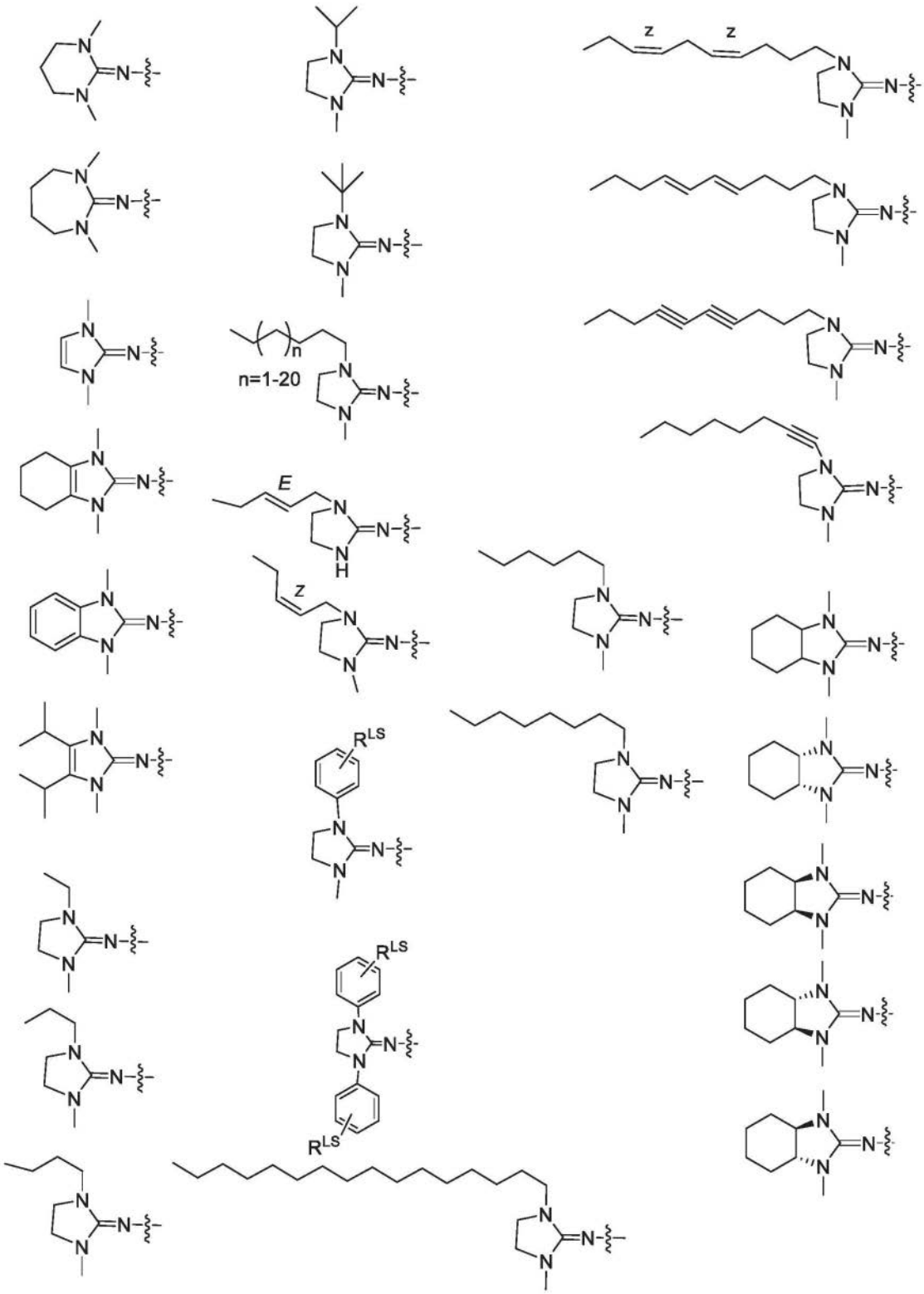
在一些实施例中，-X-R^L是

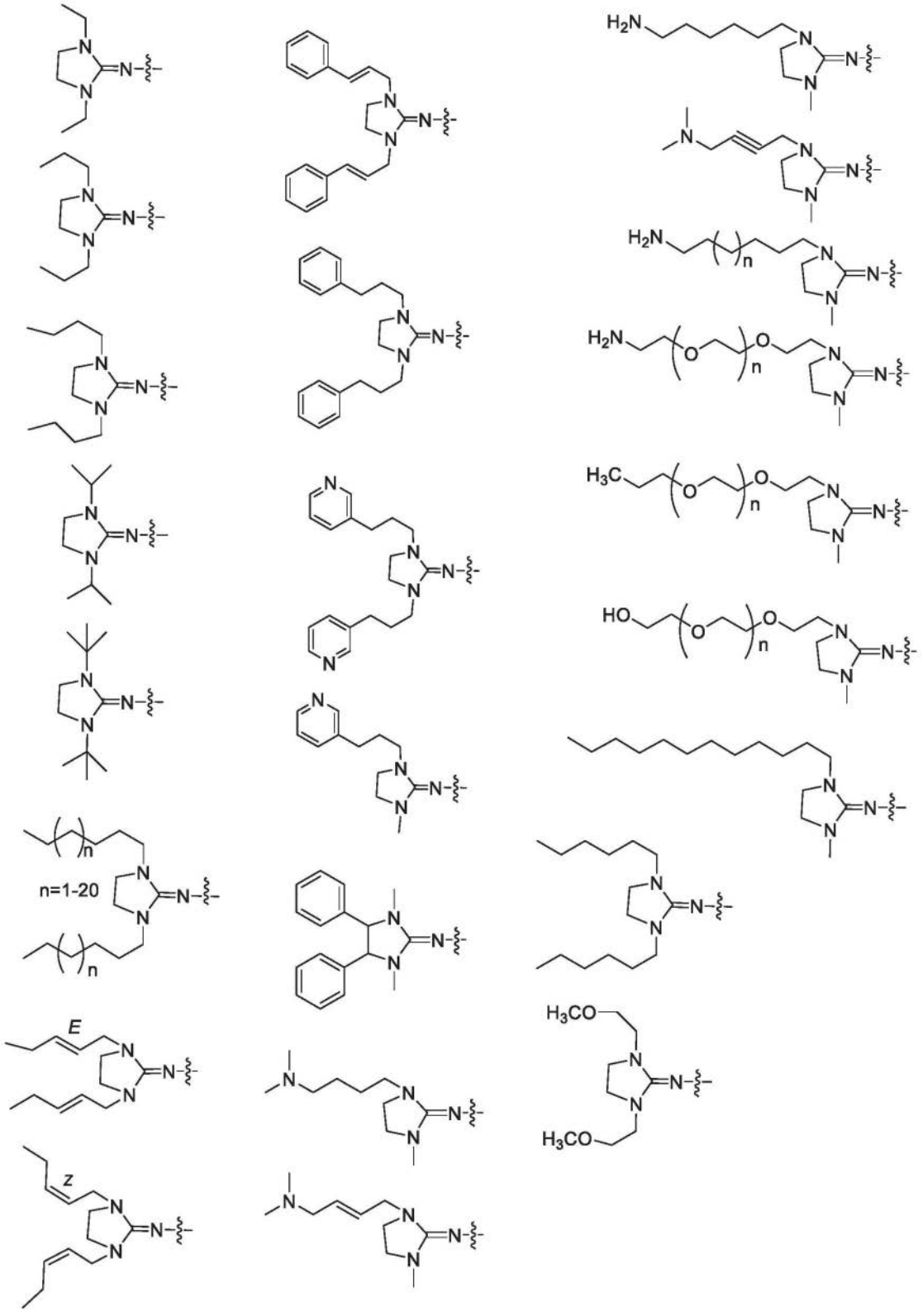


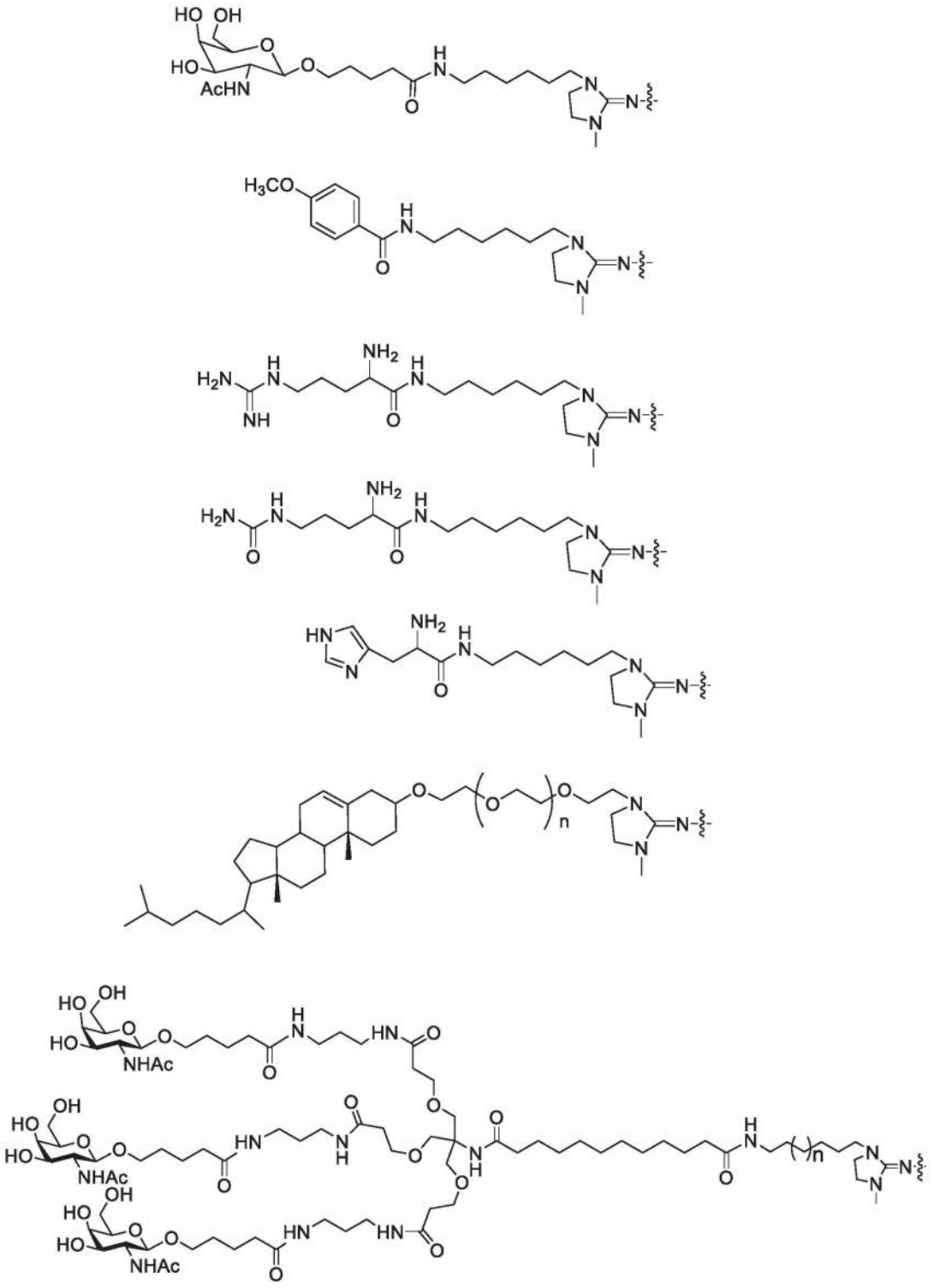
[0852] 在一些实施例中，-X-R^L是如本文所述的R。在一些实施例中，R不是氢。在一些实施例中，R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中，R是甲基。

[0853] 在一些实施例中，-X-R^L选自下表。在一些实施例中，X如本文所述。在一些实施例中，R^L如本文所述。在一些实施例中，键联具有-Y-P^L(-X-R^L)-Z-的结构，其中-X-R^L选自下表，并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中，键联具有或包含-P(O)(-X-R^L)-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-P(S)(-X-R^L)-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-P(-X-R^L)-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-P(O)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-P(S)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-P(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-P(O)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-P(S)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-P(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，P键合至氮原子(例如，sm01、sm18等中的氮原子)。在一些实施例中，键联具有或包含-O-P(O)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-O-P(S)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含-O-P(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-O-P(O)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-O-P(S)(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，键联具有-O-P(-X-R^L)-O-的结构，其中-X-R^L选自下表。在一些实施例中，在下表中，n是0-20或如本文所述。如本领域技术人员理解的，键联能以盐形式存在。

表L-1.某些有用的部分与键联磷键合(例如，-X-R^L)。

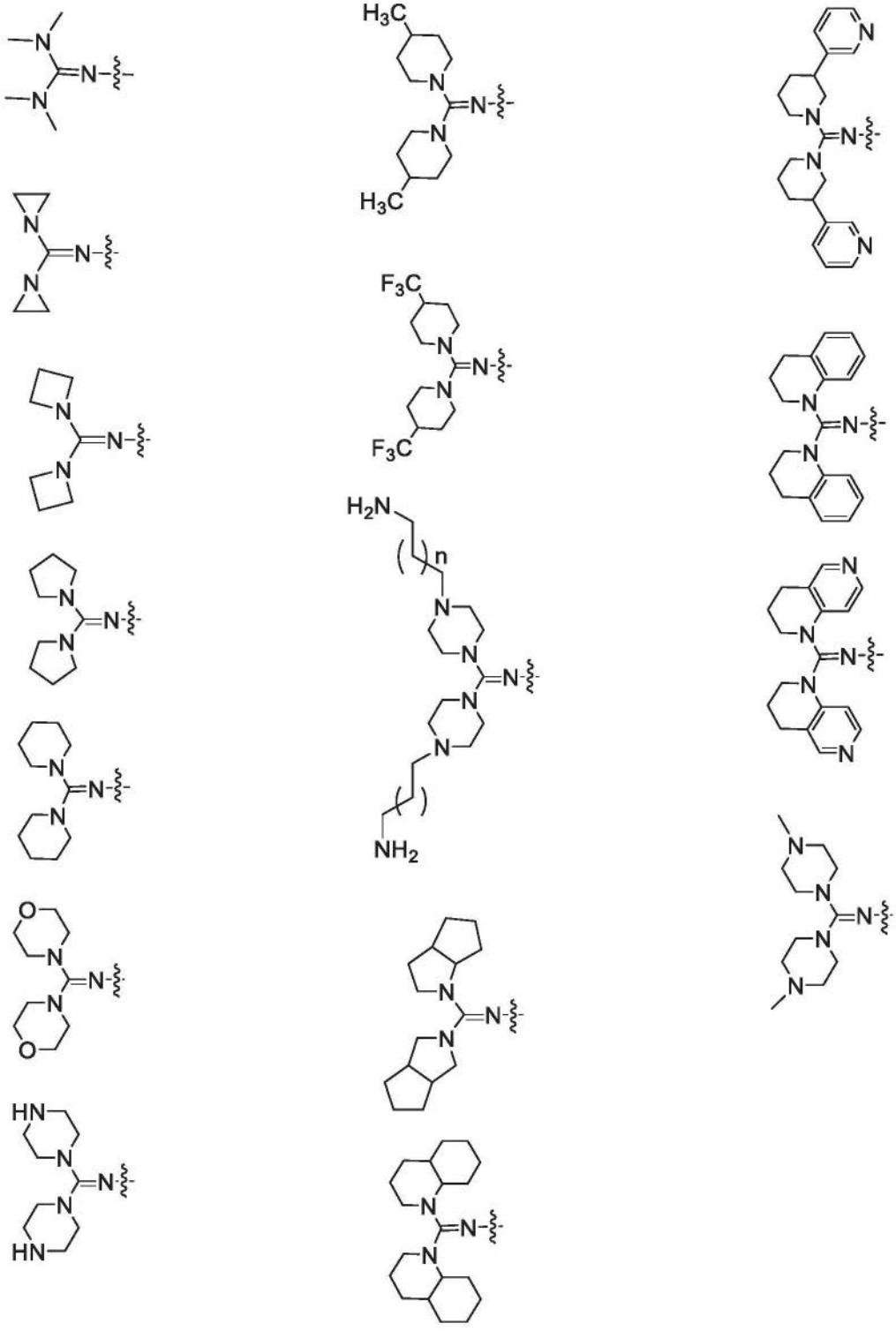

n=1-20
E
Z
Z
Z
RLS
RLS
RLS


n=1-20
E
Z

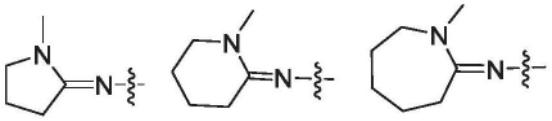


其中每个R^{LS}独立地是R^{s}。在一些实施例中,每个R^{LS}独立地是-Cl、-Br、-F、$-N(Me)_2$、或$-NHCOCH_3$。

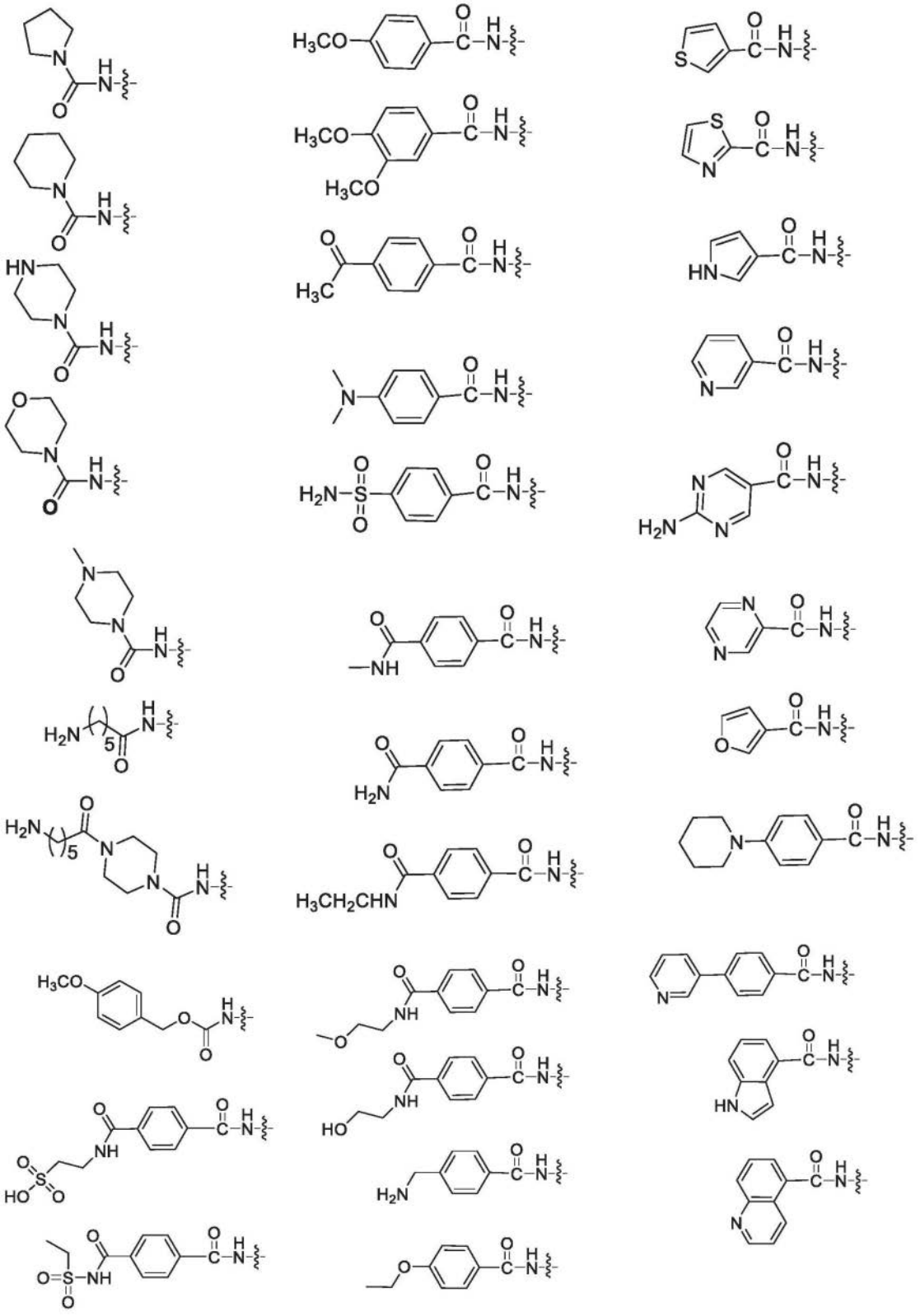
表L-2.某些有用的部分与键联磷键合(例如,$-X-R^{L}$)。

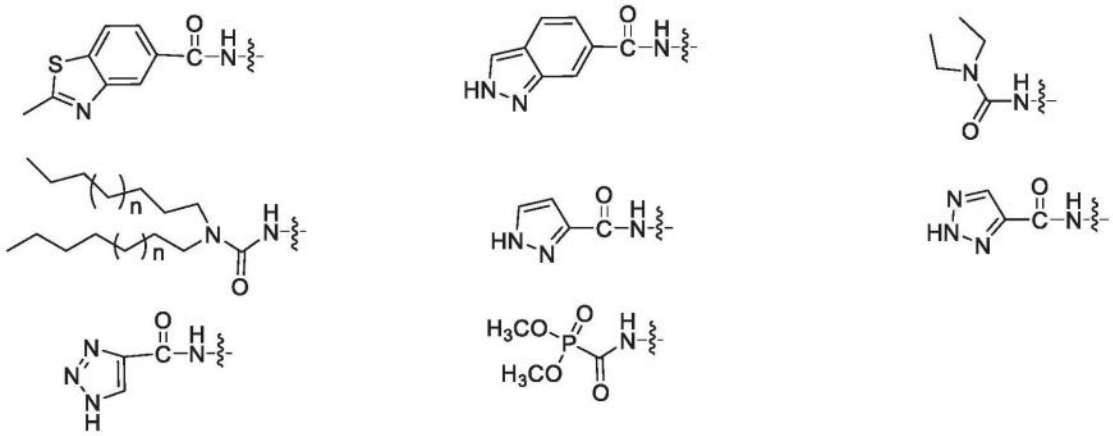


表L-3.某些有用的部分与键联磷键合(例如,-X-R^L)。

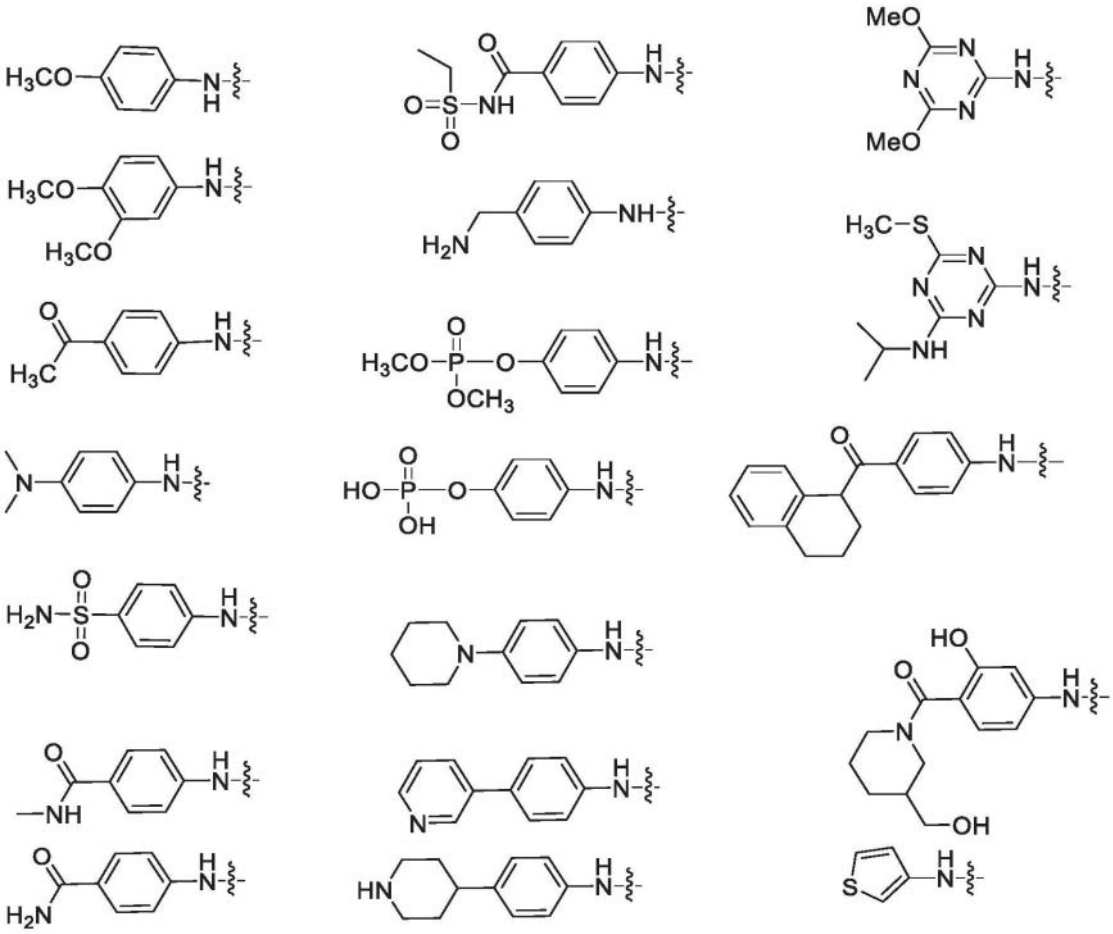


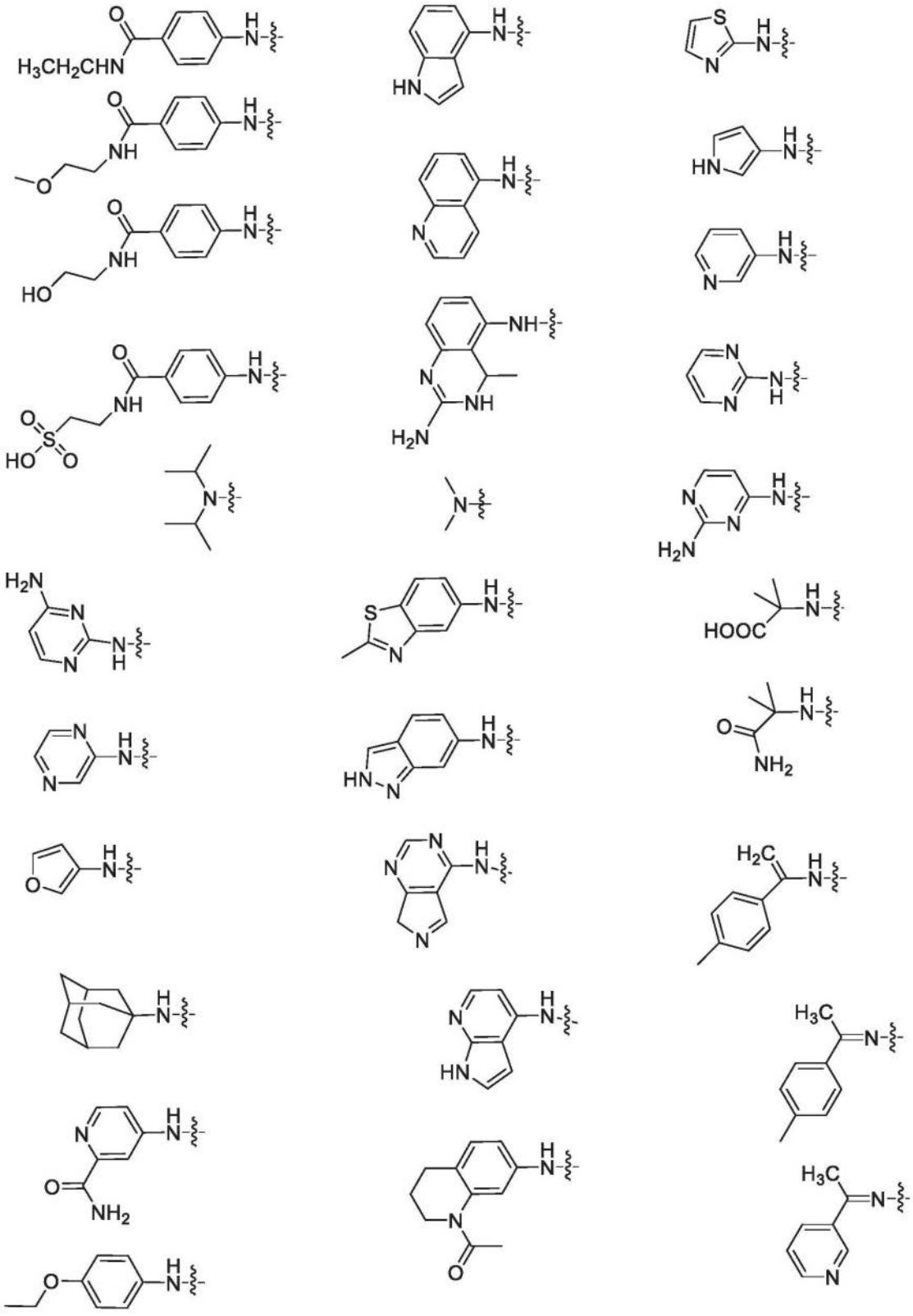
表L-4.某些有用的部分与键联磷键合(例如,-X-R^L)。

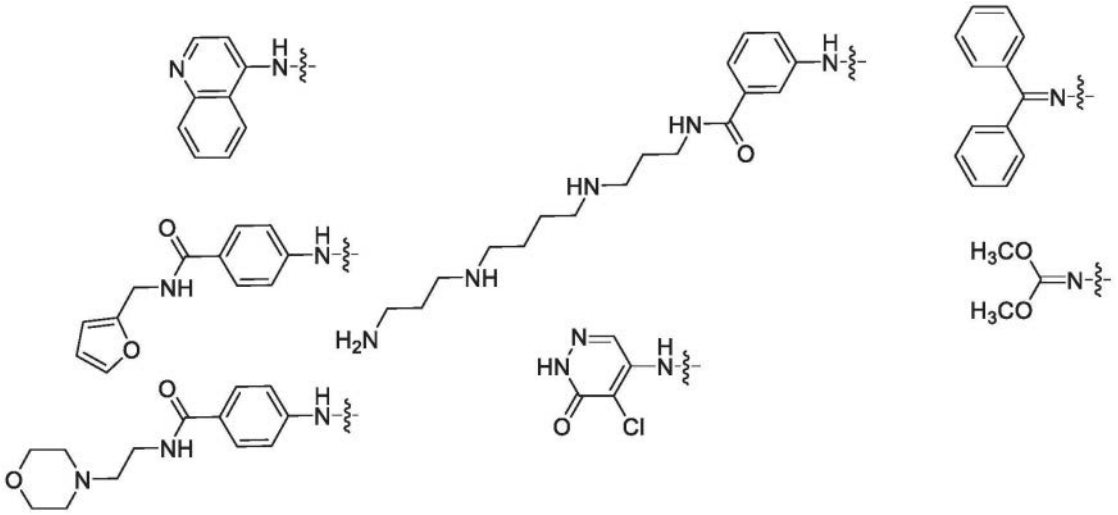




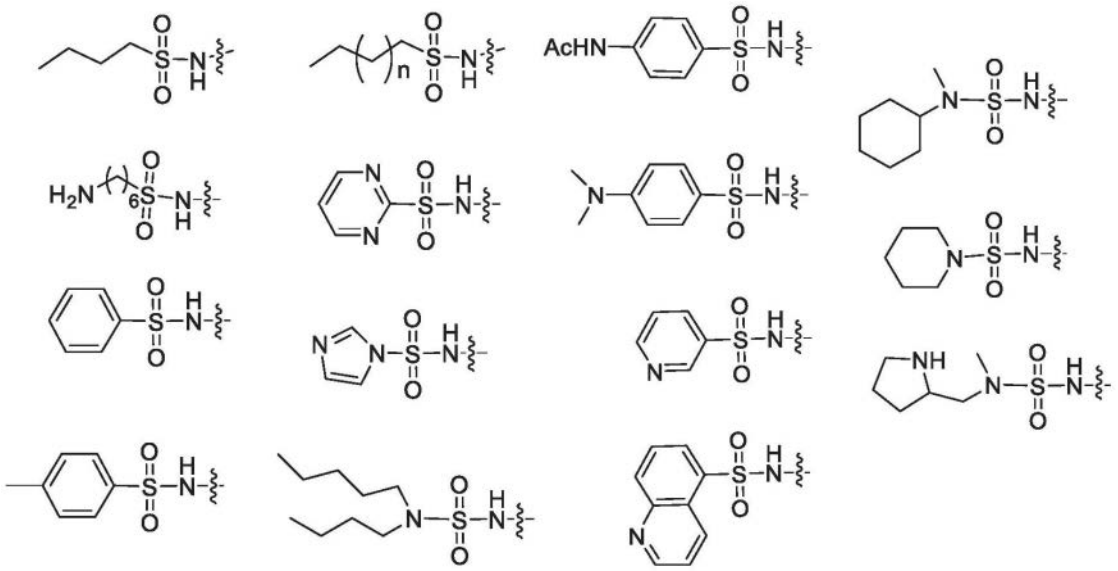
表L-5.某些有用的部分与键联磷键合(例如,-X-R^L)。

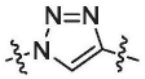
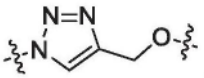






表L-6.某些有用的部分与键联磷键合(例如,-X-R^L)。



[0854] 在一些实施例中,核苷酸间键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联,具有-L^{L1}-Cy^{IL}-L^{L2}-的结构。在一些实施例中,L^{L1}键合到糖的3'-碳。在一些实施例中,L^{L2}键合到糖的5'-碳。在一些实施例中,L^{L1}是-O-CH_2-。在一些实施例中,L^{L2}是共价键。在一些实施例中,L^{L2}是-N(R')-。在一些实施例中,L^{L2}是-NH-。在一些实施例中,L^{L2}与糖的5'-碳键合,该5'-碳被=O取代。在一些实施例中,Cy^{IL}是任选地经取代的具有0-5个杂原子的3-10元饱和环、部分不饱和环或芳族环。在一些实施例中,Cy^{IL}是任选地经取代的三唑环。在一些实施例中,CyIL是。在一些实施例中,键联是。

[0855] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有-OP(=W)(-N(R')$_2$)-O-的结构。

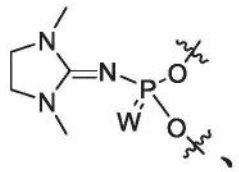
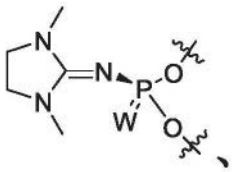
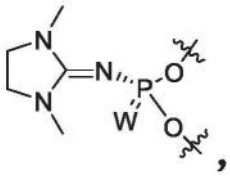
[0856] 在一些实施例中,R'是R。在一些实施例中,R′是-H。在一些实施例中,R'是-C(O)R。在一些实施例中,R'是-C(O)OR。在一些实施例中,R'是-S(O)$_2$R。

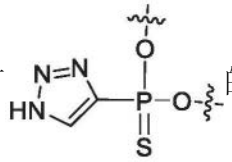
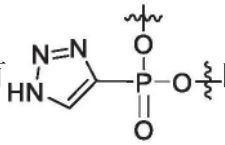
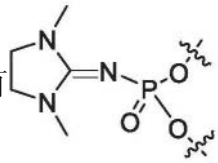
[0857] 在一些实施例中,R"是-NHR'。在一些实施例中,-N(R')$_2$是-NHR'。

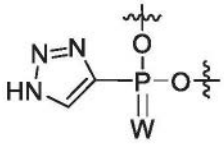
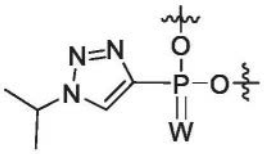
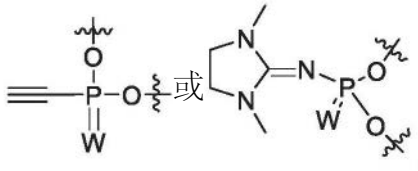
[0858] 如本文所述,在一些实施例中,R是-H。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂

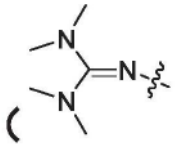
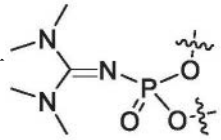
肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是取代的甲基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是取代的乙基。

[0859] 在一些实施例中,如本文所述,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

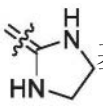
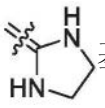
[0860] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,R′是或包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,R′是任选地经取代的炔基。在一些实施例中,R’包含任选地经取代的三键。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑或炔烃部分。在一些实施例中,R′是或包含任选地经取代的三唑或炔烃部分。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是任选地经取代的。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是经取代的。在一些实施例中,三唑部分是未经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的胍部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,R’、R^L、或-X-R^L是或包含任选地经取代的胍部分。在一些实施例中,R’、R^L或-X-R^L是或包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,R’、R^L、或-X-R^L包含任选地经取代的环状胍部分并且核苷酸间键联具有以下结构:、、或,其中W是O或S。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,不带负电荷核苷酸间键联是立体化学控制的。

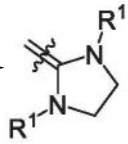
[0861] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是包含三唑部分的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,包含三唑部分(例如,任选地经取代的三唑基)的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联,包含环状胍部分。在一些实施例中,包含环状胍部分的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键

联或中性核苷酸间键联是或包含选自以下的结构：、、其中W是O或S。

[0862] 在一些实施例中，核苷酸间键联包含Tmg基团。在一些实施例中，核苷酸间键联包含Tmg基团并具有的结构（“Tmg核苷酸间键联”）。在一些实施例中，中性核苷酸间键联包括PNA和PMO的核苷酸间键联以及Tmg核苷酸间键联。

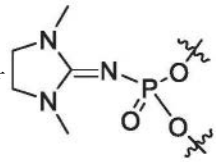
[0863] 在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，这样的杂环基或杂芳基具有5元环。在一些实施例中，这样的杂环基或杂芳基具有6元环。

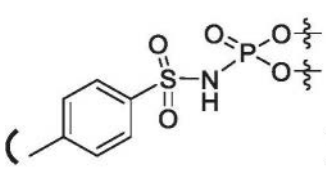
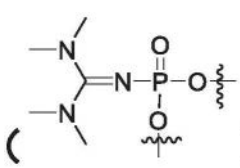
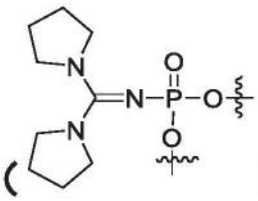
[0864] 在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂芳基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，杂芳基直接键合到键联磷。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基，其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中，至少两个杂原子是氮。在一些实施例中，杂环基直接键合到键联磷。在一些实施例中，当杂环基是经由其=N-直接与键联磷键合的胍部分的一部分时，该杂环基经由接头（例如，=N-）与键联磷键合。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的基团。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联包含经取代的基团。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键

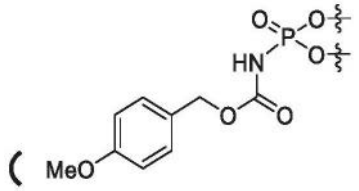
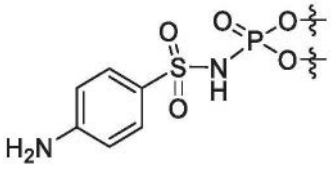
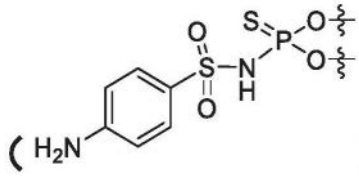
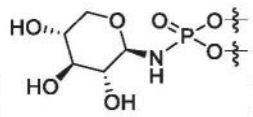
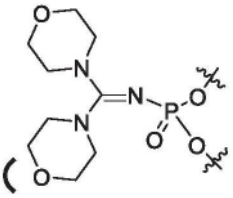
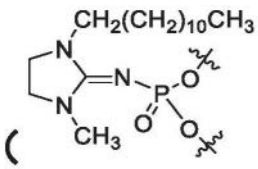
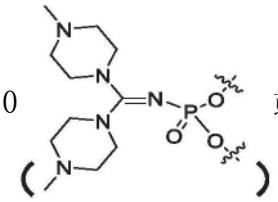
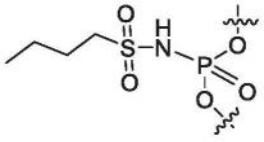
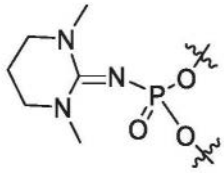
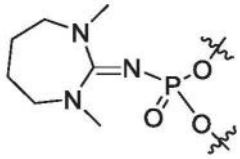
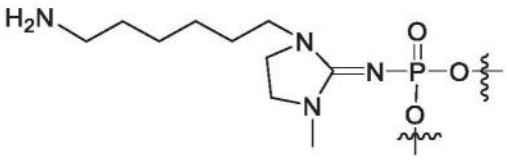
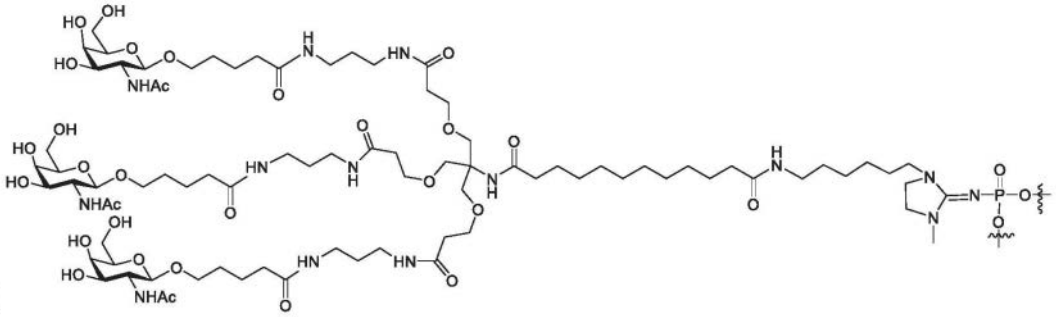
联包含  基团。在一些实施例中,每个R^1独立地是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,每个R^1独立地是甲基。

[0865] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联(例如,中性核苷酸间键联)不是手性控制的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的且其键联磷为Rp。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的且其键联磷为Sp。

[0866] 在一些实施例中,核苷酸间键联不包含键联磷。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-(O)-或-C(O)-N(R')-的结构,其中R′如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-(O)-的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-N(R')-的结构,其中R′如本文所述。在各种实施例中,-C(O)-与氮键合。在一些实施例中,核苷酸间键联是或包含-C(O)-O-,其是氨基甲酸酯部分的一部分。在一些实施例中,核苷酸间键联是或包含-C(O)-O-,其是脲部分的一部分。

[0867] 在一些实施例中,寡核苷酸包含1-20、1-15、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含1-20、1-15、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或多个中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联和/或中性核苷酸间键联各自任选地且独立地是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个中性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个不带负电荷的核苷酸间键联/中性核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个其中键联磷呈Rp构型的不带负电荷的核苷酸间键联和至少一个其中键联磷呈Sp构型的不带负电荷的核苷酸间键联。

[0868] 在许多实施例中,如广泛证明的,本披露的寡核苷酸包含两个或更多个不同的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001、n002  n003  n004  n005


n006

n006sp

n007

n008

n009

n010

或n013。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n020

n025

n026

n051

或n057

在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个手性经修饰的核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。

[0869] 如天然DNA和RNA中的典型连接是核苷酸间键联与两个糖(其可以是未修饰的或如本文所述的经修饰的)形成键。在许多实施例中,如本文所例举的,核苷酸间键联通过其氧原子或杂原子与在其5′碳处的一个任选地修饰的核糖或脱氧核糖和在其3′碳处的另一个任选地修饰的核糖或脱氧核糖形成键。在一些实施例中,核苷酸间键联连接不是核糖的糖,

例如,包含N个环原子的糖和如本文所述的无环糖。

[0870] 在一些实施例中,通过核苷酸间键联连接的每个核苷单元独立地包含核碱基,该核碱基独立地是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

[0871] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如在以下中描述的经修饰的核苷酸间键联(例如,具有式I、I-a、I-b、或I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等或其盐形式的结构的经修饰的核苷酸间键联):US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、和/或WO 2019/032612,其各自的核苷酸间键联(例如,具有式I、I-a、I-b、或I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的那些)通过援引独立地并入本文。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联(例如,具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等中的一个)如在以下中描述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、和/或WO 2019/032612。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的核苷酸间键联,如在以下中描述:WO 2018/223056、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、和/或WO 2019/032612,其各自的这样的核苷酸间键联通过援引独立地并入本文。

[0872] 如本文所述,各种变量可以是R,例如R'、R^L等。在本披露中描述了R的各种实施例(例如,当描述可以是R的变量时)。这样的实施例通常可用于可以是R的所有变量。在一些实施例中,R是氢。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-30}(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丙基。在一些实施例中,R是异丙基。在一些实施例中,R是任

选地经取代的丁基。在一些实施例中,R是任选地经取代的戊基。在一些实施例中,R是任选地经取代的己基。

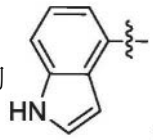
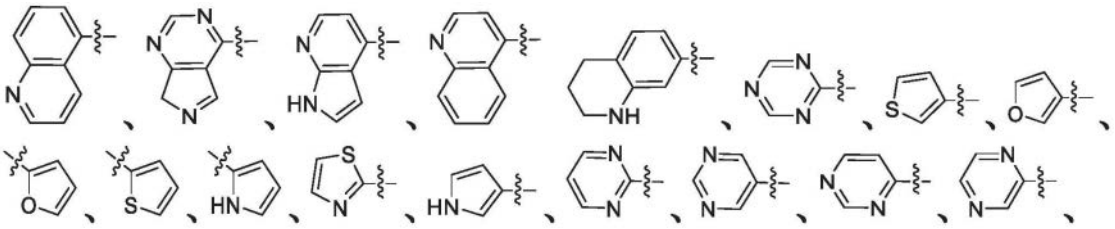
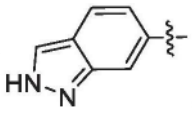
[0873] 在一些实施例中,R任选地经取代的3-30元(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的环脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环烷基。在一些实施例中,环脂肪族是单环、双环或多环,其中每个单环单元独立地是饱和的或部分饱和的。在一些实施例中,R是任选地经取代的环丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环丁基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环戊基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环己基。在一些实施例中,R是任选地经取代的金刚烷基。

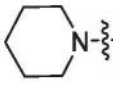
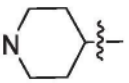
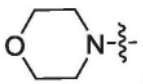
[0874] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C_{1-30}(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的杂脂肪族基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C_{1-20}脂肪族基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}杂烷基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-30元(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的杂环脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂环烷基。在一些实施例中,杂环脂肪族是单环、双环或多环,其中每个单环单元独立地是饱和的或部分饱和的。

[0875] 在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{6-30}芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是C_{6-14}芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{6-30}芳基脂肪族基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的C_{6-30}芳基杂脂肪族基。

[0876] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代5-30(5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-10元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的单环杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环杂芳基。在一些实施例中,杂原子是氮。

[0877] 在一些实施例中,R是任选地经取代的2-吡啶基。在一些实施例中,R是任选地经取

代的3-吡啶基。在一些实施例中,R是任选地经取代的4-吡啶基。在一些实施例中,R任选地经取代的  、 或  。

[0878] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-30(3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)元的杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的3元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的4元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-10元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的单环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的饱和杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的部分不饱和杂环基。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,R是任选地经取代的  。在一些实施例中,R是任选地经取代的  。在一些实施例中,R是任选地经取代的  。

[0879] 在一些实施例中,两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键。在一些实施例中,同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中,两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除这些居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0880] 各种变量可包含任选地经取代的环,或可与它们的一个或多个插入原子一起形成环。在一些实施例中,环是3-30(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)元的。在一些实施例中,环是3-20元的。在一些实施例中,环是3-15元的。在一些实施例中,环是3-10元的。在一些实施例中,环是3-8元的。在一些实施例中,环是3-7元的。在一些实施例中,环是3-6元的。在一些实施例中,环是4-20元的。在一些实施例中,环是5-20元的。在一些实施例中,环是单环的。在一些实施例中,环是双环的。在一些实施例中,环是多环的。在一些实施例中,双环或多环中的每个单环或每个单环单元独立地是饱和的、部分饱和的或芳族的。在一些实施例中,双环或多环中的每个单环或每个单环单元独立地为3-10元且具有0-5个杂原子。

[0881] 在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮、硫、硅和磷。在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮、硫和磷。在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮和硫。在一些实施例中,杂原子呈氧化形式。

[0882] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露,可以利用许多其他类型的核苷酸间键联,例如,在以下中描述的那些:美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,177,195;5,023,243;5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,188,897;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,423;5,264,564;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,938;5,405,939;5,434,257;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,466,677;5,470,967;5,476,925;5,489,677;5,519,126;5,536,821;5,541,307;5,541,316;5,550,111;5,561,225;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,625,050;5,633,360;5,64,562;5,663,312;5,677,437;5,677,439;6,160,109;6,239,265;6,028,188;6,124,445;6,169,170;6,172,209;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;或RE39464。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联描述于以下中:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US10160969、US10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784和/或WO 2019/032612,其各自的核碱基、糖、核苷酸间键联,手性助剂/试剂以及寡核苷酸合成技术(试剂、条件、循环等)通过援引独立地并入本文。

[0883] 在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001、n002、n003、n004、n005、n006、n007、n008、n009、n010、n013等)。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和中性核苷酸间键联(例如,n001、n002、n003、n004、n005、n006、n007、n008、n009、n010、n013等)。

[0884] 寡核苷酸可以包含各种数目的天然磷酸酯键联,例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个。在一些实施例中,寡核苷酸中天然磷酸酯键联中的一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)

是连续的。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1至30个或更多个天然磷酸酯键联。

[0885] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是包含手性键联磷的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是手性控制的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是立体化学纯的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,骨架手性中心模式包含以下或由以下组成:手性控制的核苷酸间键联(Rp或Sp)的位置和键联磷构型以及非手性核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联)的位置。

[0886] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个中性核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,中性核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联和不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

[0887] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自硫代磷酸酯核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自硫代磷酸酯核苷酸间键联、n001和天然磷酸酯键联。

[0888] 多种类型的核苷酸间键联可以与其他结构元件例如糖组合使用,以实现所需的寡核苷酸特性和/或活性。例如,本披露在设计寡核苷酸时通常利用经修饰的核苷酸间键联和经修饰的糖,任选地具有天然磷酸酯键联和天然糖。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中一个或多个是天然磷酸酯键联。

[0889] 在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酰基胍、磷酰基脒、磷酰基异脲、磷酰基异硫脲、磷酰基亚氨酸酯或磷酰基亚氨基硫酸酯核苷酸间键联,例如US 20170362270中描述的那些。

[0890] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露,可以利用许多其他类型的核苷酸间键联,例如,在以下中描述的那些:美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,177,195;5,023,243;5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,188,897;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,423;5,264,564;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,938;5,405,939;5,434,257;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,466,677;5,470,967;5,476,925;5,489,677;5,519,126;5,536,821;5,541,307;5,541,316;5,550,111;5,561,225;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,625,050;5,633,360;5,64,562;5,663,312;5,677,437;5,677,439;6,160,109;6,239,265;6,028,188;6,124,445;6,169,170;6,172,209;6,277,

603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;或RE39464。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是在以下文献中描述的经修饰的核苷酸间键联:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、WO 2017192664、WO 2017015575、WO 2017062862、WO 2018067973、WO 2017160741、WO 2017192679、WO 2017210647、WO 2018098264、WO 2018223056、WO 2018237194或WO 2019055951,其各自的核碱基、糖、核苷酸间键联、手性助剂/试剂以及寡核苷酸合成技术(试剂、条件、循环等)独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,核苷酸间键联描述于WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2019112485、US 20170362270、WO 2018156056、WO 2018056871、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中,并且可以根据本披露来使用。

[0891] 在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和中性核苷酸间键联(例如,n001)。

[0892] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个核苷酸,这些核苷酸独立地包含在某些条件下易于“自行释放”的磷修饰。即,在某些条件下,设计特定的磷修饰,以使其从寡核苷酸自切割以提供例如天然磷酸酯键联。在一些实施例中,这样的磷修饰具有-O-L-R^1的结构,其中L是如本文所述的L^B,并且R^1是如本文所述的R′。在一些实施例中,磷修饰具有-S-L-R^1的结构,其中L和R^1各自独立地如本披露中所述。这样的磷修饰基团的某些实例可以在US 9982257中找到。在一些实施例中,自行释放基团包含吗啉代基。在一些实施例中,自行释放基团的特征在于将试剂递送至核苷酸间磷接头的能力,该试剂有助于进一步修饰磷原子,例如脱硫。在一些实施例中,该试剂是水,并且进一步的修饰是水解以形成天然磷酸酯键联。

[0893] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个核苷酸间键联,其改善寡核苷酸的一种或多种药物特性和/或活性。在本领域充分记载,某些寡核苷酸被核酸酶迅速降解,并且表现出较差的通过细胞质细胞膜发生的细胞摄取(Poijarvi-Virta等人,Curr.Med.Chem.[当代药物化学](2006),13(28);3441-65;Wagner等人,Med.Res.Rev.[医学研究评论](2000),20(6):417-51;Peyrottes等人,Mini Rev.Med.Chem.[药物化学短评](2004),4(4):395-408;Gosselin等人,(1996),43(1):196-208;Bologna等人,(2002),Antisense& Nucleic Acid Drug Development[反义和核酸药物开发]12:33-41)。Vives等人(Nucleic Acids Research[核酸研究](1999),27(20):4071-76)报道,在某些条件下,叔丁基SATE原寡核苷酸(pro-oligonucleotide)相比于母体寡核苷酸表现出明显增加的细胞渗透。

[0894] 寡核苷酸可以包含多种天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的5%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的10%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的15%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的20%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的25%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的30%或更多的

核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的35%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的40%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含4、5、6、7、8、9、10个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为2。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为3。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为4。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为5。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为6。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为7。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为8。在一些实施例中,一些或全部天然磷酸酯键联是连续的。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸中的不超过一定数量的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联,例如不超过1个、不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个、不超过6个、不超过7个、不超过8个、不超过9个、不超过10个、不超过11个、不超过12个、不超过13个、不超过14个、不超过15个、不超过16个、不超过17个、不超过18个、不超过19个、不超过20个、不超过21个、不超过22个、不超过23个、不超过24个、不超过25个、不超过26个、不超过27个、不超过28个、不超过29个或不超过30个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。

[0895] 在一些实施例中,本披露展示,在至少一些情况下,尤其是在5′-末端和/或3′-末端的Sp核苷酸间键联可以改善寡核苷酸稳定性。在一些实施例中,本披露展示,尤其是,天然磷酸酯键联和/或Rp核苷酸间键联可以改善寡核苷酸从系统中移除。如本领域普通技术人员所理解的,根据本披露,可以利用本领域已知的多种测定法来评估这样的特性。

[0896] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0897] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,寡核苷酸或其部分包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,其为约1。在一些实施例中,其为约2。在一些实施例中,其为约3。在一些实施例中,其为约4。在一些实施例中,其为约5。在一些实施例中,其为约6。在一些实施例中,其为约7。在一些实施例中,其为约8。在一些实施例中,其为约9。在一些实施例中,其为约10。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的

核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联在寡核苷酸或其部分的3′-末端。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的最后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp。

[0898] 在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联是手性控制的,并且一个或多个手性核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的,并且一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的,并且每个不带负电荷的核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,寡核苷酸的前两个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,最后两个核苷之间的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,两者独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个另外的核苷酸间键联,例如,其中一个位于相对于与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的位置-1和-2处的核苷之间(两个核苷紧邻与靶核苷相反的核苷的3′(例如,在...$N_0N_{-1}N_{-2}$....中,N_0是与靶核苷相反的核苷,N_{-1}和N_{-2}分别在位置-1和-2处)。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

[0899] 如本文所展示的,在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联诸如n001可以提供改善的特性和/或活性。在一些实施例中,在寡核苷酸中,各自独立地键合到包含如本文所述的核碱基的两个核苷的5′-末端核苷酸间键联和/或3′-末端核苷酸间键联是如本文所述的不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,前一个或多个(例如,前1、2和/或3个)和/或最后一个或多个(例如,最后1、2、3、4、5、6或7个)核苷酸间键联(其各自独立地键合到第一结构域中的两个核苷)独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,键合到第一结构域的两个核苷的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中间的一个或多个核苷酸间键联(例如,第4、第5和第6核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合到第二结构域的两个核苷)独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,键合到第二结构域的两个核苷的第11个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不键合到与靶核苷相反的核苷但键合到其3′紧邻核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,第一结构域的一个或多个核苷酸间键联(例如,第4、第5、第6、第7和第8核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合到第一结构域的两个核苷)独立地不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的一个或多个核苷酸间键联(例如,第1、第2、第3、第7、第8、第9、第12和第13核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合到第一结构域的两个核苷)独立地不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第2和第3核苷酸间键联中的一个或两个不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Rp手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其是Sp手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0900] 在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷的位置+11、+9、+5、-2和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是PN核苷酸间键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联("+"是从与靶腺苷相反的核苷向寡核苷酸的5'-末端计数,+1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相反的核苷与其5'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,在5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的N_1与N_0之间,其中如本文所述,N_0是与靶腺苷相反的核苷),并且"-"是从核苷向寡核苷酸的3'-末端计数,其中-1位置的核苷酸间键联是与靶腺苷相反的核苷与其3'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,在5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的N_{-1}与N_0之间,其中如本文所述,N_0是与靶腺苷相反的核苷))。在一些实施例中,寡核苷酸的第一核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+21、+20、+18、+17、+16、+15、+14、+13、+12、+11、+10、+6、+5、+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,位置+24、+23、+22、+19、+16、+15、+14、+13、+12、+11、+10、+6、+5、+4、-2和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,位置+23、+22、+19、+16、+15、+14、+13、+12、+11、+10、+6、+5、+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联以及位置+23、+22、+19、+16、+15、+14、+13、+12、+11、+10、+6、+5、+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联都是Rp。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,位置-2处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-5处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-2和-5处的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5、-2和-5

处的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11、+9、-2和-5处的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11、+9、+5、-2和-5处的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第1、第14、第16、第20、第26和第29个核苷酸间键联(除非另外说明,否则从5′-末端开始)中的一个或多个或每一个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸不包含至与靶腺苷相反的核苷的5′侧的不带负电荷的核苷酸间键联,除了寡核苷酸的第一核苷酸间键联可以任选地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,除了位置-2处以外,寡核苷酸不包含内部不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联之一或两者独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联之一或两者独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联之一或两者独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联均独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Rp、Sp或非手性控制的。在一些实施例中,一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联独立地不是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地不是手性控制的。在一些实施例中,一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与肌苷或脱氧肌苷或2’-修饰的肌苷(例如2’-OH被-F、-OMe、-MOE等非H部分代替)在其3’位置键合的核苷酸间键联,如n001,是非手性控制的或手性控制的且为Sp。在一些实施例中,其是手性控制的并且是Sp。在一些实施例中,包含与包含次黄嘌呤的核苷的3’-位置键合的手性控制的Sp不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)的寡核苷酸及其组合物提供优于相应立体随机或Rp核苷酸间键联的各种优点,例如相同或更好的特性和/或活性、改善的制造效率和/或降低的制造成本等。在一些实施例中,据观察,用于构建与包含次黄嘌呤的核苷的3’-位置键合的手性控制的Sp不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)的方法可以更容易地进行(例如,更高的试剂浓度、更小的溶液体积、更短的反应时间等)和/或以更低的成本进行(例如,更易获得的材料)。在一些实施例中,包含与包含次黄嘌呤的核苷的3’-位置键合的手性控制的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸及其组合物提供优于相应立体随机或Sp核苷酸间键联的各种优点,例如相同或更好的特性和/或活性、改善的制造效率和/或降低的制造成本等。在一些实施例中,用于构建与包含次黄嘌呤的核苷的3’-位置键合的手性控制的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联的方法可以更容易地进行(例如,更高的试剂浓度、更小的溶液体积、更短的反应时

间等)和/或以更低的成本进行(例如,更易获得的材料)。

[0901] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个PN键联。例如,在一些实施例中,寡核苷酸包含一个且不超过一个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个且不超过两个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含三个且不超过三个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含四个且不超过四个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含五个且不超过五个PN键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含五个或更多个PN键联。在一些实施例中,在某些位置处的PN键联,例如位置1(与来自5'-末端的第一和第二核苷键合的核苷酸间键联在位置1;编号朝向3'-末端增加)、14、16、26和29的1、2、3、4或5提供比其他更高的编辑水平。在一些实施例中,位置29是最后一个核苷酸间键联位置。在一些实施例中,PN键联在两个位置1、14、16、26和29处。在一些实施例中,PN键联在三个位置1、14、16、26和29处。在一些实施例中,PN键联在四个位置1、14、16、26和29处。在一些实施例中,PN键联在五个位置1、14、16、26和29处。在一些实施例中,PN键联在位置1和26处。在一些实施例中,其在位置14和29处。在一些实施例中,其在位置14和29处。在一些实施例中,其在位置26和29处。在一些实施例中,其在位置1、14和26处。在一些实施例中,其在位置1、26和29处。在一些实施例中,其在位置14、16和26处。在一些实施例中,其在位置14、16和29处。在一些实施例中,其在位置14、26和29处。在一些实施例中,其在位置16、26和29处。在一些实施例中,其在位置1、14、16和29处。在一些实施例中,其在位置1、14、26和29处。在一些实施例中,其在位置1、16、26和29处。在一些实施例中,其在位置14、16、26和29处。在一些实施例中,其在位置1、14、16、26和29处。在一些实施例中,每个这样的PN核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个独立地是n001。

[0902] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个等)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与天然磷酸酯键联键合的两个核苷均独立地是2′-修饰的糖。在一些实施例中,与大部分(例如,至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更大)天然磷酸酯键联键合的两个核苷均独立地是2'-经修饰的糖。在一些实施例中,与每个天然磷酸酯键联键合的两个核苷均独立地是2′-修饰的糖。在一些实施例中,2'-修饰的糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是双环糖或2'-OR经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,如n001)一起使用。在一些实施例中,寡核苷酸包含交替的天然磷酸酯键联和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)(例如参见WV-43047)。

[0903] 在一些实施例中,位置-1和-2处的一个或多个核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-3、-2、-1、+1、+3、+4、+5、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+16、+17和+18处的一个或多个核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-3处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1处的核

苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+3处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+4处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+10处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+12处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+13处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+16处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+17处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+18处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个且仅一个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,其包含两个且不多于两个。在一些实施例中,其包含三个且不多于三个。在一些实施例中,其包含四个且不多于四个。在一些实施例中,其包含五个且不多于五个。

[0904] 在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的磷酰基胍核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的n001核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个中性核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个磷酰基胍核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个n001独立地是Sp。

[0905] 在一些实施例中,组合物中控制水平的寡核苷酸是所需的寡核苷酸。在一些实施例中,在组合物中的共享共同碱基序列(例如,用于某目的的所需序列)的所有寡核苷酸中,或在组合物中的所有寡核苷酸中,所需寡核苷酸(其可以以多种形式(例如,盐形式)存在并且通常仅在非手性控制的核苷酸间键联处不同(对于该目的,相同立体异构体的各种形式可被认为是相同的))的水平为约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80-100%、90-100%、95-100%、50%-90%,约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%。在一些实施例中,水平为至少约50%。在一些实施例中,水平为至少约60%。在一些实施例中,水平为至少约70%。在一些实施例中,水平为至少约75%。在一些实施例中,水平为至少约80%。在一些实施例中,水平为至少约85%。在一些实施例中,水平为至少约90%。在一些实施例中,水平为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,并且nc为如本披露所述的手性键联磷的数目(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,水平为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为约90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,并且nc为如本披露所述的手性控制的核苷酸间键联的数目(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,水平为或至少为$(DS)^{nc}$,其中DS为95%-100%。

[0906] 多种类型的核苷酸间键联可以与其他结构元件例如糖组合使用,以实现所需的寡核苷酸特性和/或活性。例如,本披露在设计寡核苷酸时通常利用经修饰的核苷酸间键联和经修饰的糖,任选地具有天然磷酸酯键联和天然糖。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中一个或多个是天然磷酸酯键联。

[0907] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含多个天然RNA糖(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,它们中的两个或更多个或全部任选地是连续的)。在一些实施例中,这样的寡核苷酸包含经修饰的糖,例如2'修饰的糖(例如,2'-F等)和/或2'-OR修饰的糖,其中R在一端或两端不是-H(例如,2-OMe、2-MOE等),和/或多种经修饰的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联等)。在一些实施例中,在5'-末端存在一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个以上这样的2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,在3'-末端存在一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个以上这样的2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,如本文所述,2'-OR是2'-OMe。在一些实施例中,2′-OR是2′-MOE。在一些实施例中,2′-OR中的每一个独立地是2′-OMe或2′-MOE。在一些实施例中,每个2′-OR是2′-OMe。

[0908] 在一些实施例中,评估各种核苷酸间键联的稳定性。在一些实施例中,核苷酸间键联暴露于用于寡核苷酸制造(例如固相寡核苷酸合成)的各种条件,包括试剂、溶剂、温度(在一些情况下,温度高于室温)、切割条件、脱保护条件、纯化条件等,并评估稳定性。在一些实施例中,稳定的核苷酸间键联(例如,暴露于一种或多种条件和/或过程时,或在完整的寡核苷酸制造过程之后具有不超过10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%降解的那些)被选择用于各种寡核苷酸组合物和应用。

另外的化学部分

[0909] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个另外的化学部分。各种另外的化学部分,例如靶向部分、碳水化合物部分、脂质部分等在本领域中是已知的,并且可以根据本披露用于调节所提供的寡核苷酸的特性和/或活性,例如稳定性、半衰期、活性、递送、药效学特性、药代动力学特性等。在一些实施例中,某些另外的化学部分促进寡核苷酸向所需细胞、组织和/或器官的递送,包括但不限于中枢神经系统的细胞。在一些实施例中,某些另外的化学部分促进寡核苷酸的内化。在一些实施例中,某些另外的化学部分提高寡核苷酸稳定性。在一些实施例中,本披露提供用于将多种另外的化学部分掺入寡核苷酸中的技术。

[0910] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含小分子部分。在一些实施例中,小分子是蛋白质(例如,受体)的配体。在一些实施例中,小分子结合多肽。在一些实施例中,小分子

是多肽的抑制剂。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含肽部分(例如,抗体)。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含核酸部分。在一些实施例中,核酸提供新的特性和/或活性。在一些实施例中,核酸部分与原始寡核苷酸链(缀合前)或其部分形成双链体或其他二级结构。在一些实施例中,核酸是或包含靶向相同或不同靶标的寡核苷酸,并且可以通过相同或不同的机制发挥其活性。在一些实施例中,核酸是或包含RNAi剂。在一些实施例中,核酸是或包含miRNA剂。在一些实施例中,核酸是或包含RNA酶H依赖性。在一些实施例中,核酸是或包含gRNA。在一些实施例中,核酸是或包含适体。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含如本文所述的碳水化合物部分。许多有用的药剂(例如小分子、肽、碳水化合物、核酸药剂等)可以与根据本披露的本文的寡核苷酸缀合。

[0911] 在一些实施例中,与参考寡核苷酸例如不具有另外的化学部分但在其他方面相同的参考寡核苷酸相比,包含另外的化学部分的寡核苷酸表现出增加的向组织中的递送和/或在组织中的活性。

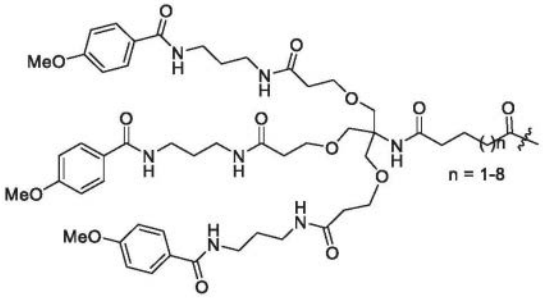
[0912] 在一些实施例中,另外的化学部分的非限制性实例包括碳水化合物部分、靶向部分等,其在掺入寡核苷酸中时可以改善一种或多种特性。在一些实施例中,另外的化学部分选自:葡萄糖、GluNAc(N-乙酰葡糖胺)及茴香酰胺部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可一包含两个或更多个另外的化学部分,其中这些另外的化学部分是相同或不相同的,或属于同一类别(例如,碳水化合物部分、糖部分、靶向部分等)或不属于同一类别。

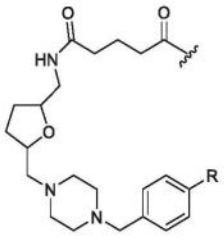
[0913] 在一些实施例中,另外的化学部分是靶向部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含碳水化合物部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含脂质部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含例如细胞受体,诸如sigma受体、脱唾液酸糖蛋白受体等的配体部分。在一些实施例中,配体部分是或包含茴香酰胺部分,其可以是sigma受体的配体部分。在一些实施例中,配体部分是或包含GalNAc部分,其可以是脱唾液酸糖蛋白受体的配体部分。在一些实施例中,另外的化学部分促进向肝的递送。

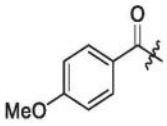
[0914] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以包含一个或多个接头和另外的化学部分(例如,靶向部分),和/或可以是手性控制的或不是手性控制的,和/或具有如本文所述的碱基序列和/或一个或多个修饰和/或形式。

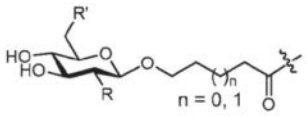
[0915] 根据本披露可使用多种接头、碳水化合物部分和靶向部分(包括本领域中已知的许多者)。在一些实施例中,碳水化合物部分是靶向部分。在一些实施例中,靶向部分是碳水化合物部分。

[0916] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含适合递送的另外的化学部分,例如葡萄糖、GluNAc(N-乙酰基胺葡糖胺)、茴香酰胺或选自以下的结构:

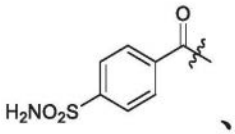


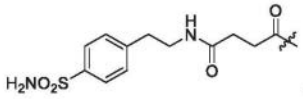


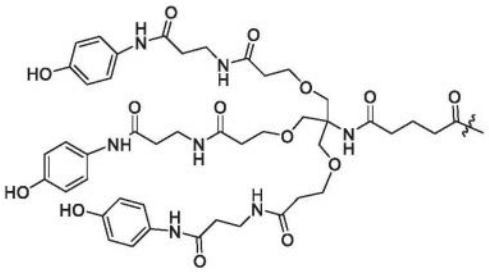


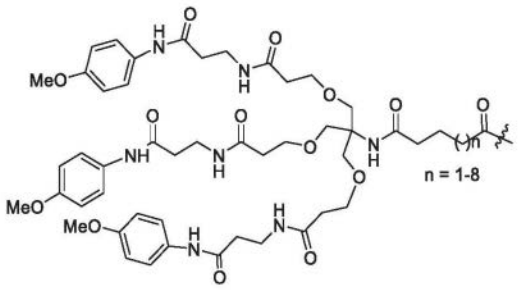


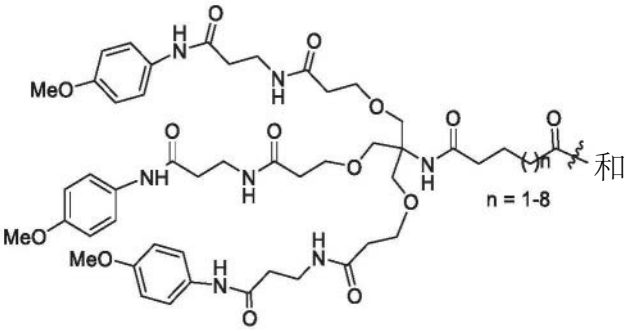
R = NHAc, R' = OH; R = NHCOC6H4OMe(对茴香酰基), R'=OH;
R = NHAc, R' = NHCOC6H4OMe(对茴香酰基);
R = OH, R' = NHCOC6H4OMe(对茴香酰基)



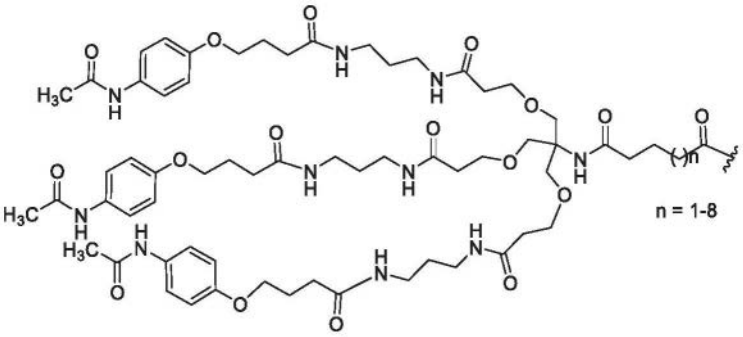








和



在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,n是2。在一些实施例中,n是3。在一些实施例中,n是4。在一些实施例中,n是5。在一些实施例中,n是6。在一些实施例中,n是7。在一些实施例中,n是8。

[0917] 在一些实施例中,另外的化学部分是实例(包括掺入多种寡核苷酸中的多种另外的化学部分的实例)中描述的任何化学部分。

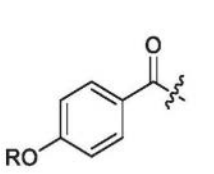
[0918] 在一些实施例中,与寡核苷酸缀合的另外的化学部分能够将寡核苷酸靶向中枢神

经系统中的细胞。

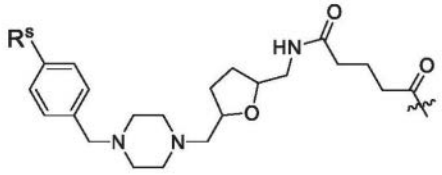
[0919] 在一些实施例中,另外的化学部分包含或是细胞受体配体。在一些实施例中,另外的化学部分包含或是蛋白结合剂,例如,与细胞表面蛋白结合的蛋白结合剂。这样的部分尤其可用于将寡核苷酸靶向递送至表达相应受体或蛋白的细胞。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的另外的化学部分包含茴香酰胺或其衍生物或类似物,并且能够使寡核苷酸靶向表达特定受体(诸如σ1受体)的细胞。

[0920] 在一些实施例中,对所提供的寡核苷酸进行配制以施用至表达其靶标的身体细胞和/或组织。在一些实施例中,与寡核苷酸缀合的另外的化学部分能够将寡核苷酸靶向细胞。

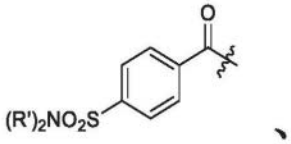
[0921] 在一些实施例中,另外的化学部分选自任选地经取代的苯基、



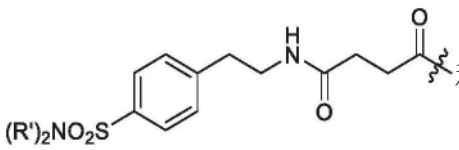
、



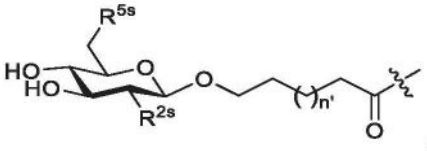
、



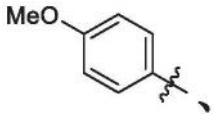
、



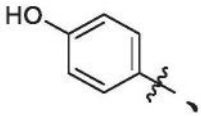
和



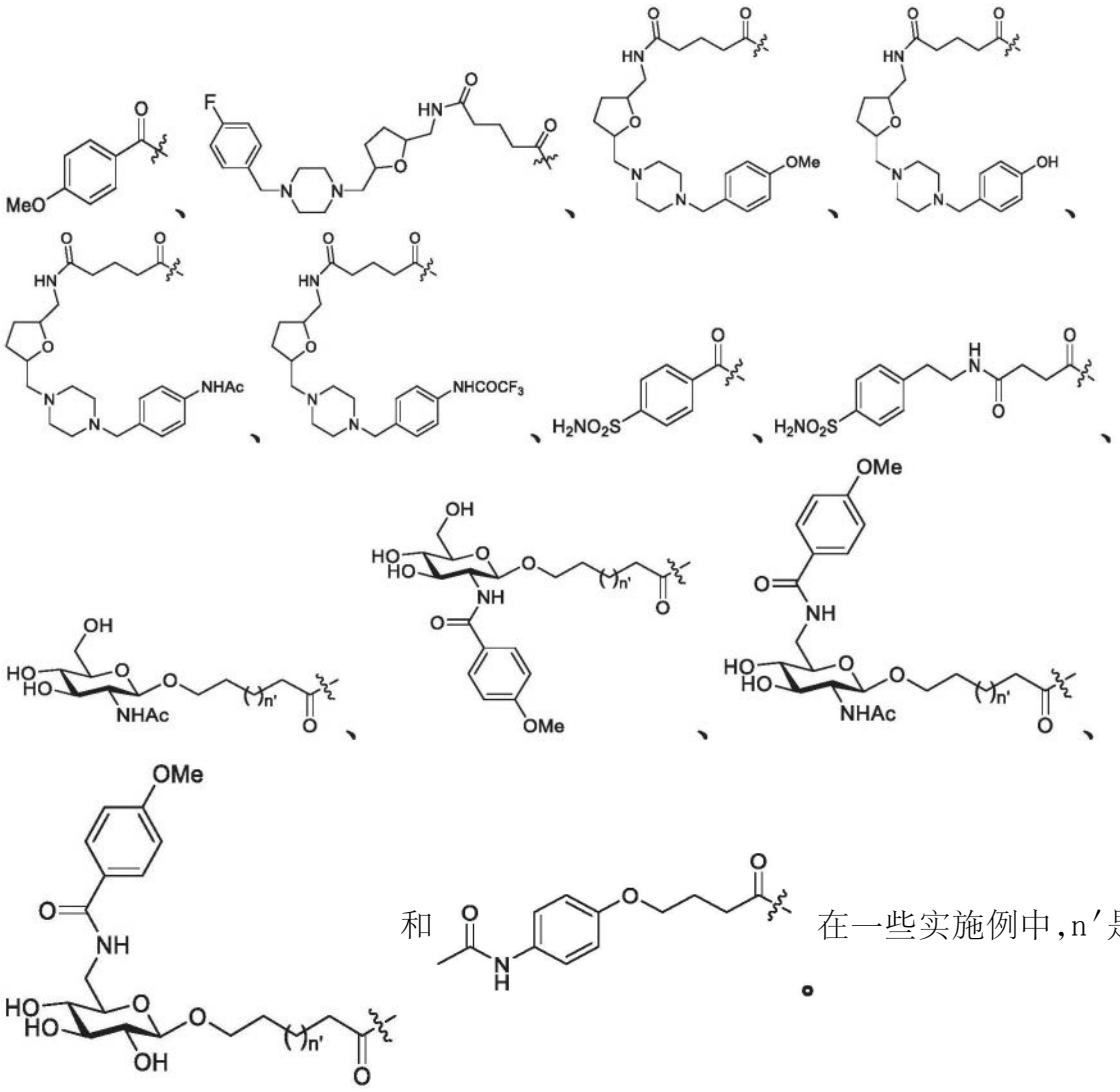
其中n′是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,并且每个其他变量如本披露中所述。在一些实施例中,R^s是F。在一些实施例中,R^s是OMe。在一些实施例中,R^s是OH。在一些实施例中,R^s是NHAc。在一些实施例中,R^s是$NHCOCF_3$。在一些实施例中,R'是H。在一些实施例中,R是H。在一些实施例中,R^{2s}是NHAc,并且R^{5s}是OH。在一些实施例中,R^{2s}是对茴香酰基,并且R^{5s}是OH。在一些实施例中,R^{2s}是NHAc,并且R^{5s}是对茴香酰基。在一些实施例中,R^{2s}是OH,并且R^{5s}是对茴香酰基。在一些实施例中,另外的化学部分选自



、



、

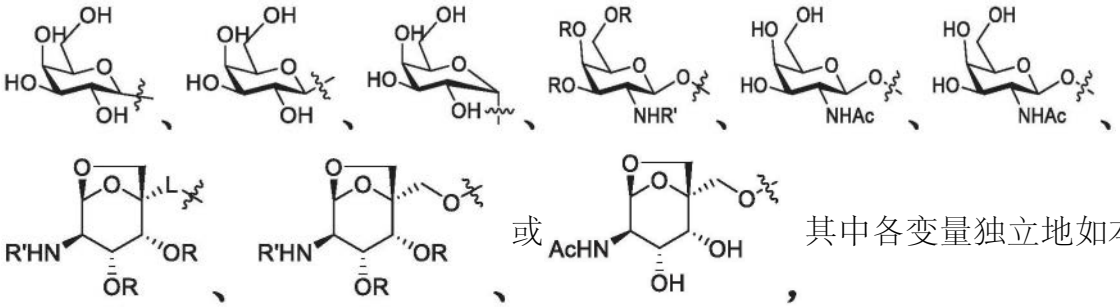


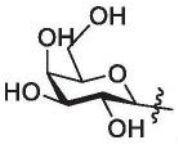
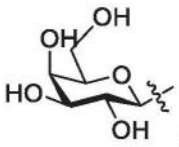
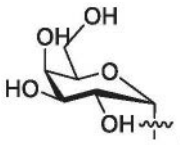
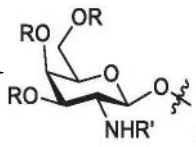
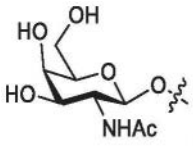
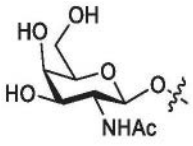
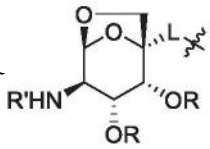
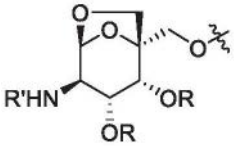
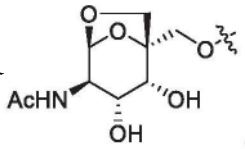
和 在一些实施例中,n′是1。在一些实施例中,n′是0。在一些实施例中,n”是1。在一些实施例中,n”是2。

[0922] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)配体。

[0923] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,还已经报道了ASGPR1在小鼠的海马区和/或小脑浦肯野细胞层中表达。http://mouse.brain-map.org/experiment/show/2048

[0924] 多种其他ASGPR配体是本领域已知的,并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,ASGPR配体是碳水化合物。在一些实施例中,ASGPR配体是GalNac或其衍生物或类似物。在一些实施例中,ASGPR配体是Sanhueza等人.J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2017,139(9),第3528-3536页中描述的ASGPR配体。在一些实施例中,ASGPR配体是Mamidyala等人.J.Am.Chem.Soc.[美国化学会志],2012,134,第1978-1981页中描述的ASGPR配体。在一些实施例中,ASGPR配体是US 20160207953中描述的ASGPR配体。在一些实施例中,ASGPR配体是例如在US 20160207953中披露的经取代的6,8-二氧杂双环[3.2.1]辛烷-2,3-二醇衍生物。在一些实施例中,ASGPR配体是例如在US 20150329555中描述的ASGPR配体。在一些实施例中,ASGPR配体是例如在US 20150329555中披露的经取代的6,8-二氧杂双环[3.2.1]辛烷-2,3-二醇衍生物。在一些实施例中,ASGPR配体是在US 8877917、US 20160376585、US 10086081或US 8106022中描述的ASGPR配体。在一些实施例中,各种GalNAc衍生物及其用途在WO 2022/076922中描述并且可以根据本披露使用。这些文献中描述的ASGPR配体通过援

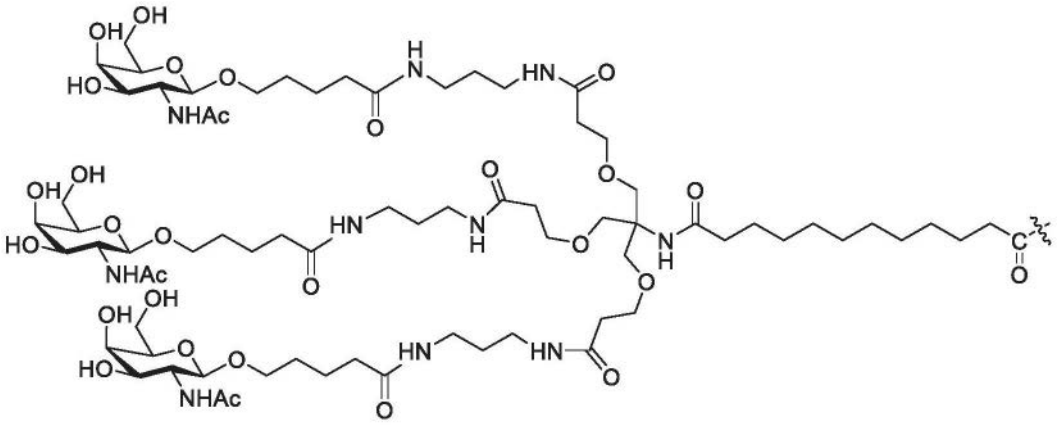
引并入本文。本领域技术人员将理解,包括本文件中描述的那些技术在内的多种技术是已知的,用于评估化学部分与ASGPR的结合,并且可以根据本披露来利用。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸与ASGPR配体缀合。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含ASGPR配体。在一些实施例中,另外的化学部分包含ASGPR配体,该ASGPR配体是或其中各变量独立地如本披露中所描述。在一些实施例中,R是-H。在一些实施例中,R'是-C(O)R。

[0925] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含任选地经取代的。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含。

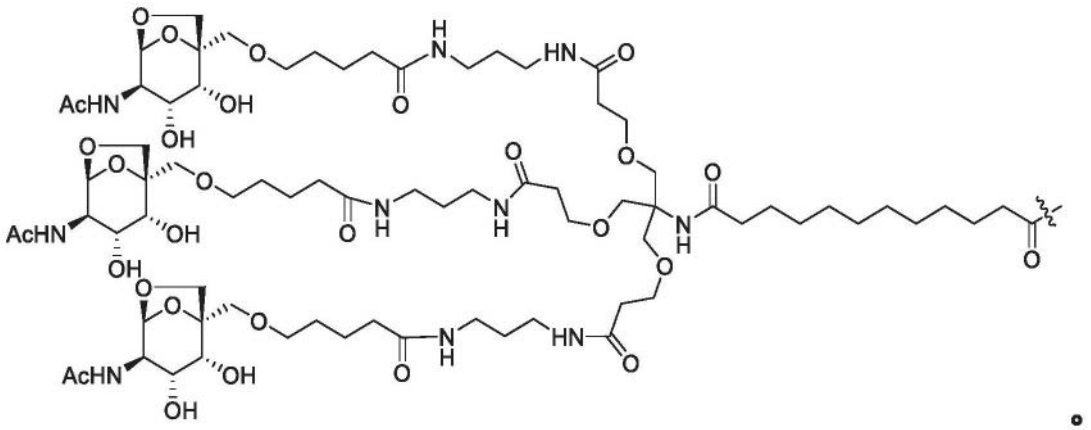
[0926] 在一些实施例中,另外的化学部分包含一个或多个可以与例如寡核苷酸靶细胞结合的部分。例如,在一些实施例中,另外的化学部分包含一个或多个蛋白配体部分,例如,在一些实施例中,另外的化学部分包含多个部分,其中每个独立地是ASGPR配体。在一些实施

例中,如在Mod 001和Mod083中,另外的化学部分包含三个这样的配体。

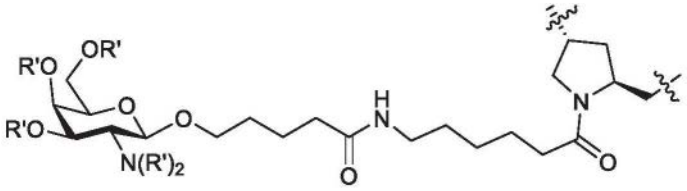
Mod001:



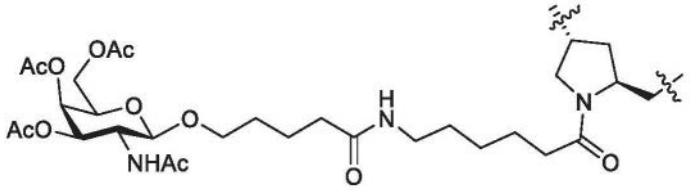
Mod083:



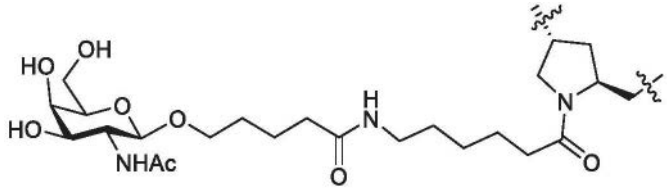
[0927] 在一些实施例中,寡核苷酸包含



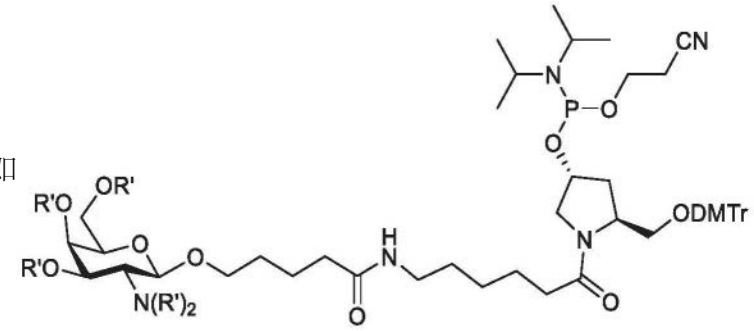
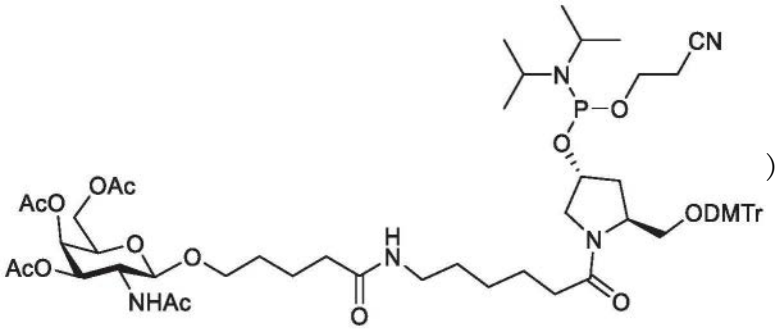
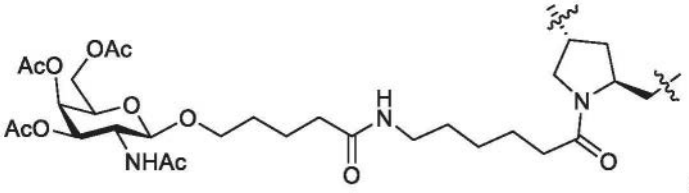
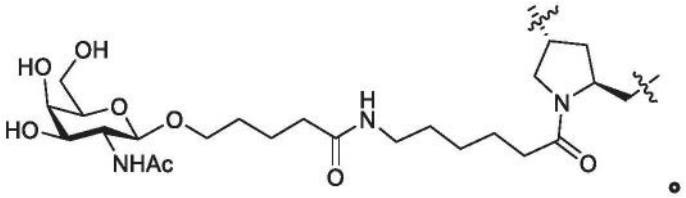
其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,每个-OR′是-OAc,并且-N(R′)$_2$是-NHAc。在一些实施例中,寡核苷酸包含

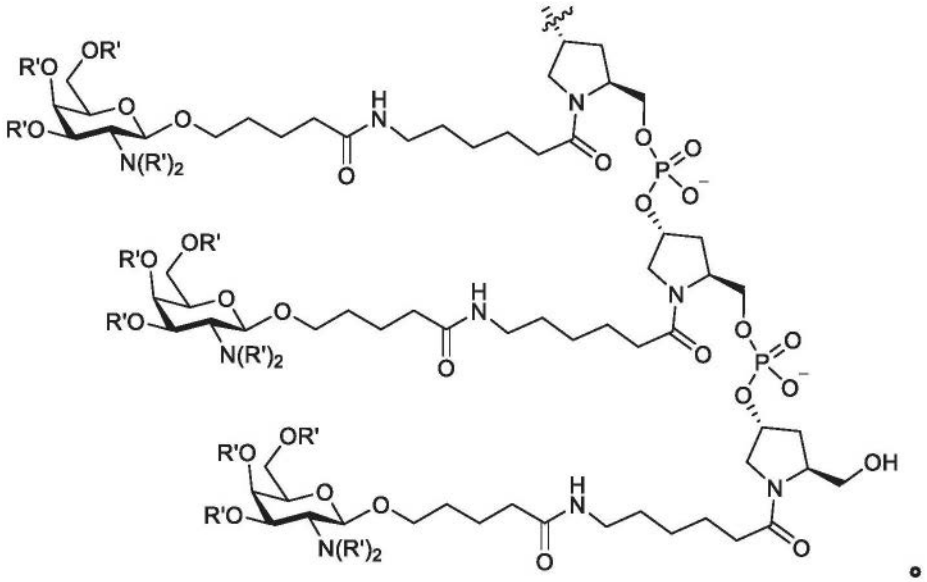


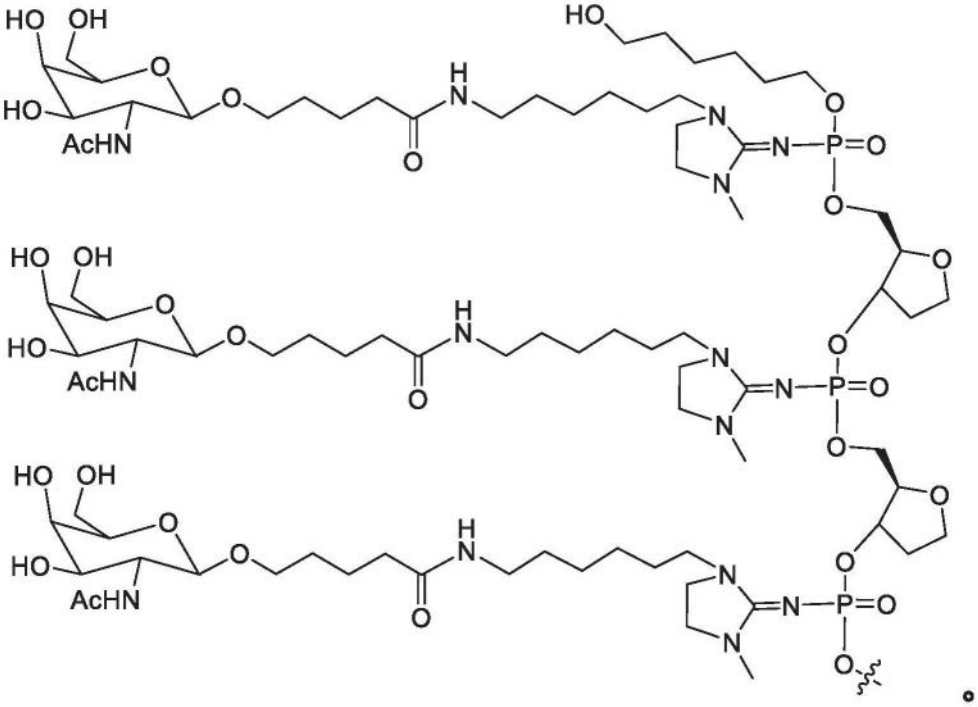
在一些实施例中,每个R’是-H。在一些实施例中,每个-OR’是-OH,并且每个-N(R’)$_2$是-NHC(O)R。在一些实施例中,每个-OR’是-OH,并且每个-N(R’)$_2$是-NHAc。在一些实施例中,寡核苷酸包含



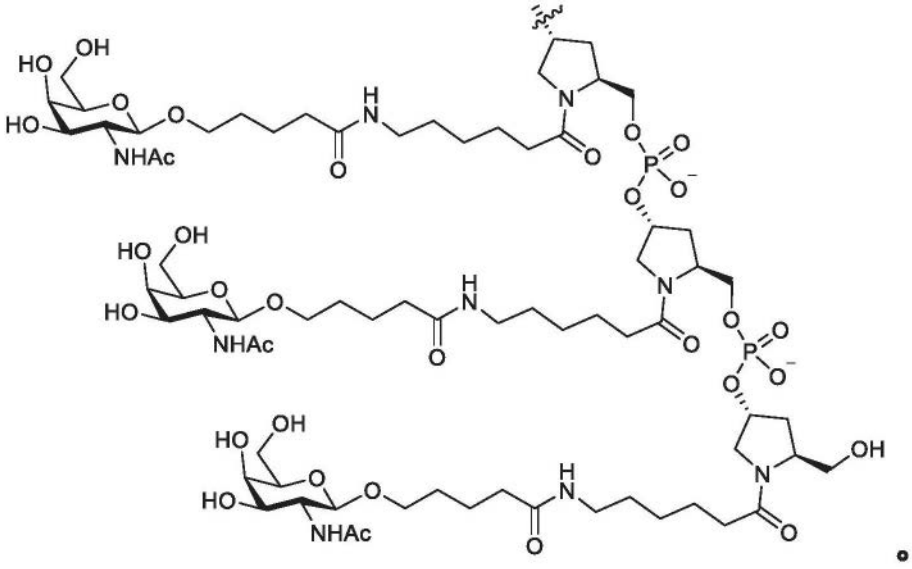
(L025)。在一些实施例中,-CH2-连接位点

用作糖中的C5连接位点。在一些实施例中,环上的连接位点用作糖中的C3连接位点。这样的部分可以利用例如亚磷酰胺诸如(例如,)引入(本领域技术人员理解,可以替代性地利用一个或多个其他基团,诸如用于-OH、-NH_2-、-N(i-Pr)$_2$、-OCH_2CH_2CN等的保护基,并且保护基可以在多种合适的条件下移除,有时在寡核苷酸脱保护和/或切割步骤期间移除)。在一些实施例中,寡核苷酸包含2个、3个或更多个(例如,3个且不多于3个)在一些实施例中,寡核苷酸包含2个、3个或更多个(例如,3个且不多于3个)在一些实施例中,这样的部分的拷贝通过如本文所述的核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联)连接。在一些实施例中,当在5′末端时,-CH_2-连接位点键合到-OH。在一些实施例中,寡

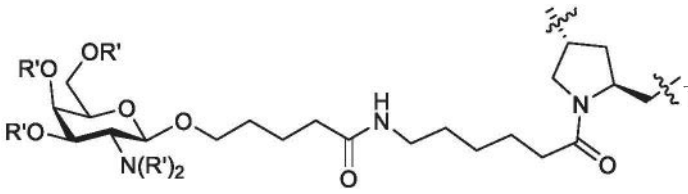
核苷酸包含  在一些实施例中,寡核苷酸包含

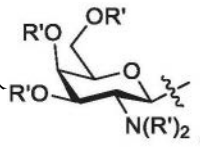
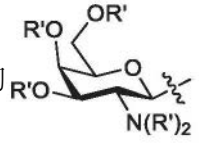


在一些实施例中,每个-OR′是-OAc,并且-N(R′)$_2$是-NHAc。在一些实施例中,寡核苷酸包含



尤其是，



可用于以相当的和/或更好的活性和/或特性引入。在一些实施例中，对于相同数量的，其提供改善的制备效率和/或较低的成本(例如，当与Mod001相比时)。

[0928] 在一些实施例中，另外的化学部分是本文例如在表1中描述的Mod基团。

[0929] 在一些实施例中，另外的化学部分是Mod001。在一些实施例中，另外的化学部分是Mod083。在一些实施例中，另外的化学部分(例如，Mod基团)直接缀合(例如，没有接头)到寡核苷酸的其余部分。在一些实施例中，经由接头将另外的化学部分缀合到寡核苷酸的其余部分。在一些实施例中，另外的化学部分(例如，Mod基团)可以直接连接和/或经由接头连接到寡核苷酸的核碱基、糖和/或核苷酸间键联。在一些实施例中，Mod基团直接或经由接头连接到糖。在一些实施例中，Mod基团直接或经由接头连接到5′-末端糖。在一些实施例中，Mod基团通过5′碳直接或经由接头连接到5′-末端糖。有关实例，参见表1中的各种寡核苷酸。在一些实施例中，Mod基团直接或经由接头连接到3′-末端糖。在一些实施例中，Mod基团通过3′碳直接或经由接头连接到3′-末端糖。在一些实施例中，Mod基团直接或经由接头连接到核碱基。在一些实施例中，Mod基团直接或经由接头连接到核苷酸间键联。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸包含通过L001连接到寡核苷酸链的5′-末端的Mod001。

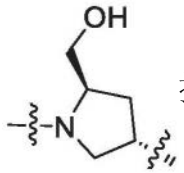
[0930] 如本领域技术人员所理解的，另外的化学部分可以在多种位置连接到寡核苷酸链，例如5′-末端、3′-末端或中间位置(例如，在糖、碱基、核苷酸间键联等上)。在一些实施例中，其连接在5′-末端。在一些实施例中，其连接在3′-末端。在一些实施例中，其连接在中间的核苷酸处。

[0931] 某些另外的化学部分(例如，脂质部分、靶向部分、碳水化合物部分)，包括但不限于Mod012、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086和Mod094，以及用于将另外的化学部分连接到寡

核苷酸链的多种接头,包括但不限于L001、L003、L004、L008、L009和L010,在WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159中描述,其各自的另外的化学部分和接头独立地通过援引并入本文,并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,另外的化学部分是洋地黄毒苷或生物素或其衍生物。

[0932] 在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,例如L001、L004、L008和/或另外的化学部分,例如Modo12、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086或Mod094。在一些实施例中,接头,例如L001、L003、L004、L008、L009、L110等连接到Mod,例如Mod012、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086、Mod094等。

L001:-NH-$(CH_2)_6$-接头(也称为C6接头、C6胺接头或C6氨基接头),其通过-NH-连接到Mod(如果有的话),并且通过如在-CH_2-连接位点处所示的磷酸酯键联(-O-P(O)(OH)-O-,其可以作为盐形式存在,并且可以表示为O或PO)或硫代磷酸酯键联(-O-P(O)(SH)-O-,其可以作为盐形式存在,并且可以表示为*(如果硫代磷酸酯不是手性控制的);或*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Sp构型);或*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Rp构型))连接到寡核苷酸链的5'-末端或3'-末端。如果不存在Mod,则L001通过-NH-连接到-H;

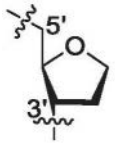
L003:  接头。在一些实施例中,它通过其氨基连接到Mod(如果有的话)(如果没有Mod,则连接到-H),并且例如经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的,或是手性控制的(Sp或Rp)))连接到寡核苷酸链的5′-末端或3′-末端;

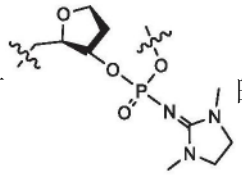
L004:具有-NH$(CH_2)_4$CH$(CH_2OH)CH_2$-的结构的接头,其中-NH-连接到Mod(通过-C(O)-)或-H,并且-CH_2-连接位点通过键联连接到寡核苷酸链(例如,在3′末端),该键联是例如磷酸二酯键联(-O-P(O)(OH)-O-,其可以盐形式存在,并且可以表示为O或PO)、硫代磷酸酯键联(-O-P(O)(SH)-O-,其可以盐形式存在,并且可以表示为*(如果硫代磷酸酯不是手性控制的);或*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Sp构型);或*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Rp构型))、或二硫代磷酸酯键联(-O-P(S)(SH)-O-,其可以作为盐形式存在,并且可以表示为PS2或:或D)。例如,L004前面紧接星号(例如,*L004)表示键联是硫代磷酸酯键联,而L004前面未紧接星号表示键联是磷酸二酯键联。例如,在终止于...mAL004的寡核苷酸中,接头L004通过磷酸二酯键联(经由-CH_2-位点)连接到3'-末端糖(其是2'-OMe修饰的并且连接到核碱基A)的3'位置,并且L004接头经由-NH-连接到-H。类似地,在一个或多个寡核苷酸中,L004接头通过磷酸二酯键联(经由-CH_2-位点)连接到3'-末端糖的3'位置,并且L004经由-NH-连接到例如Mod012、Mod085、Mod086等;

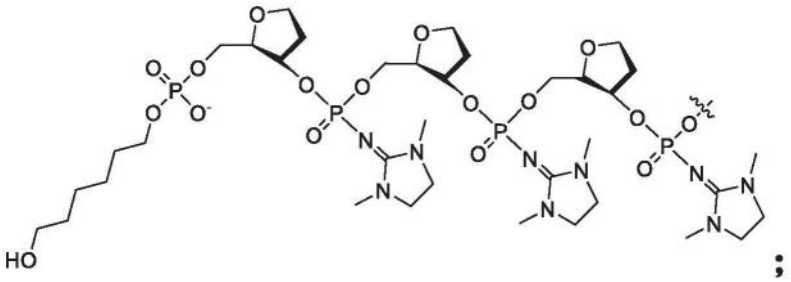
L008:具有-C(O)-$(CH_2)_9$-的结构的接头,其中-C(O)-连接到Mod(通过-NH-)或-OH

(如果未指示Mod),并且-CH_2-连接位点通过键联连接到寡核苷酸链(例如,在5′末端),该键联是例如磷酸二酯键联(-O-P(O)(OH)-O-,其可以盐形式存在,并且可以表示为O或PO)、硫代磷酸酯键联(-O-P(O)(SH)-O-,其可以盐形式存在,并且可以表示为*(如果硫代磷酸酯不是手性控制的);或*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Sp构型);或*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性控制的并且具有Rp构型))、或二硫代磷酸酯键联(-O-P(S)(SH)-O-,其可以作为盐形式存在,并且可以表示为PS2或:或D)。例如,在具有5′-L008mN*mN*mN*mN*N*N*N*N*N*N*N*N*N*N*mN*mN*mN*mN-3′的序列并且具有OXXXXXXXXX XXXXXXXX的立体化学/键联的示例性寡核苷酸(其中N是碱基,其中O是天然磷酸酯核苷酸间键联,并且其中X是立体随机硫代磷酸酯)中,L008通过-C(O)-连接到-OH,并且通过磷酸酯键联(在"立体化学/键联"中表示为"O")连接到寡核苷酸链的5′末端;又如,在具有5′-Mod062L008mN*mN*mN*mN*N*N*N*N*N*N*N*N*N*N*mN*mN*mN*mN-3′的序列并且具有OXXXXXXXXX XXXXXXXX的立体化学/键联的示例性寡核苷酸(其中N是碱基)中,L008通过-C(O)-连接到Mod062,并且通过磷酸酯键联(在"立体化学/键联"中表示为"O")连接到寡核苷酸链的5′末端;

L009:-$CH_2CH_2CH_2$-。在一些实施例中,当L009存在于没有Mod的寡核苷酸的5′-末端时,L009的一端连接到-OH并且另一端例如经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性控制的,或是手性控制的(Sp或Rp)))连接到寡核苷酸链的5′-碳;

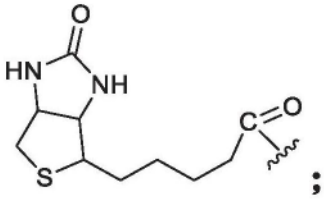
L010: 

。L010通过各种键联(例如,n001;如果未指明,通常为磷酸酯)连接至其他部分,例如L023、L010、寡核苷酸链等。当不存在其他部分时,L010与-OH键合。例如,在各种寡核苷酸中,L010与n001R一起利用形成L010n001R,其具有  的结构,并且其中键联磷的构型是Rp。在一些实施例中,可以使用多个L010n001R。例如,各种寡核苷酸包含L023L010n001RL010n001RL010n001R,其结构如下(与寡核苷酸链5'-末端的5'-碳键键合,并且每个键联磷独立是Rp):

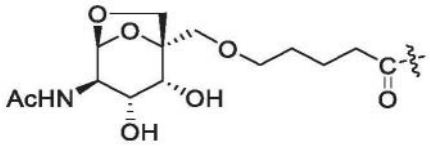


;

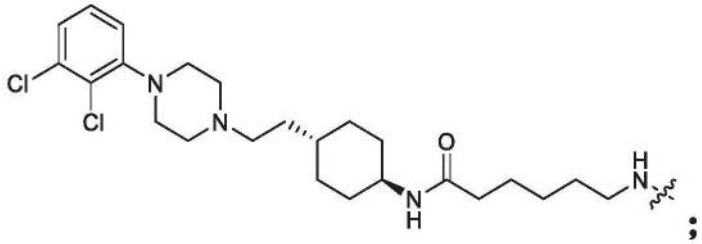
Mod012(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L004、L008等的-NH-):



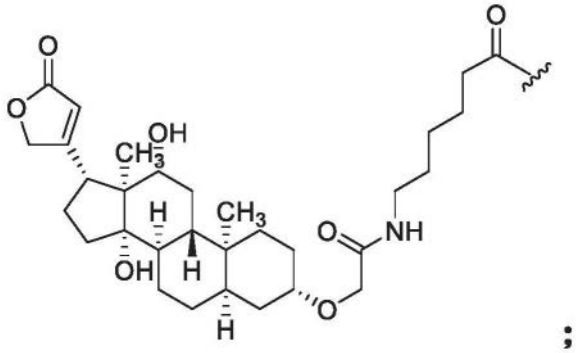
Mod039(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



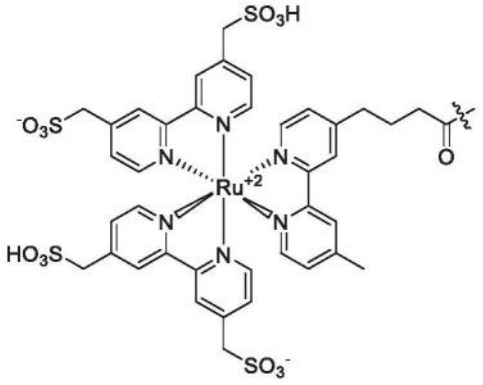
Mod062(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



Mod085(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):

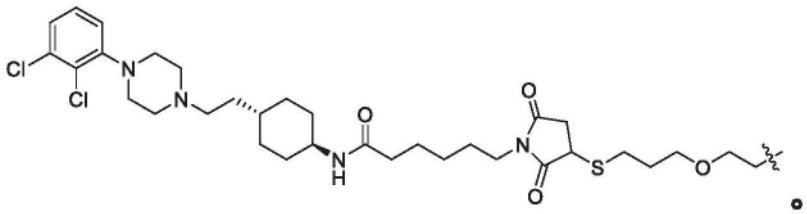


Mod086(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



Mod094(在一些实施例中,经由例如磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联(其任选地是手

性控制的)等键联连接到核苷酸间键联,或连接到寡核苷酸的5'-末端或3'-末端。例如,在具有5'-mN*mN*mN*mN*N*N*N*N*N*N*N*N*N*N*mN*mN*mN*mNMod094-3'的序列并且具有XXXXX XXXXX XXXXX XXO的立体化学/键联(其中N是碱基)的示例寡核苷酸中,Mod094通过磷酸酯基团连接到寡核苷酸链的3'-末端(3'-末端糖的3'-碳)(磷酸酯基团未在下面示出并且可以作为盐形式存在;并且在"立体化学/键联"(...XXXXO)中表示为"O")):



[0933] 在一些实施例中,另外的化学部分(例如,接头、脂质、增溶基团、缀合物基团、靶向基团和/或靶向配体)是WO 2012/030683或WO 2021/030778中描述的化学部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含在WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2019112485、US 20170362270、WO 2018156056、或WO 2018056871、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637、或WO 2020/252376中描述的化学结构(例如,接头、脂质、增溶基团和/或靶向配体)。

[0934] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含以下文献中描述的另外的化学部分(例如,靶向基团、缀合物基团等)和/或修饰(例如,核碱基、糖、核苷酸间键联等的修饰):美国专利号5,688,941、6,294,664、6,320,017、6,576,752、5,258,506、5,591,584、4,958,013、5,082,830、5,118,802、5,138,045、6,783,931、5,254,469、5,414,077、5,486,603、5,112,963、5,599,928、6,900,297、5,214,136、5,109,124、5,512,439、4,667,025、5,525,465、5,514,785、5,565,552、5,541,313、5,545,730、4,835,263、4,876,335、5,578,717、5,580,731、5,451,463、5,510,475、4,904,582、5,082,830、4,762,779、4,789,737、4,824,941、4,828,979、5,595,726、5,214,136、5,245,022、5,317,098、5,371,241、5,391,723、4,948,882、5,218,105、5,112,963、5,567,810、5,574,142、5,578,718、5,608,046;4,587,044、4,605,735、5,585,481、5,292,873、5,552,538、5,512,667、5,597,696、5,599,923、7,037,646、5,587,371、5,416,203、5,262,536、5,272,250、或8,106,022。

[0935] 在一些实施例中,另外的化学部分(例如,Mod)经由接头连接。各种接头是本领域中可用的,并且可以根据本披露使用,例如,用于将多个部分与蛋白质(例如,与抗体缀合形成抗体-药物缀合物)、核酸等缀合的那些接头。某些有用的接头描述于US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159中,其各自的接头部分独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,作为非限制性实例,接头是L001、L004、L009或L010。在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,但不含除接头以外的另外的化学部分。在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,但不含除接头以外的另外的化学部分,其中接头是L001、L004、L009或L010。在一些实施例中,接头是或包含具有如

本文所述的核苷酸间键联结构的部分。在一些实施例中,接头中的这样的部分不连接两个核苷。在一些实施例中,接头具有L的结构。在一些实施例中,接头是二价的。在一些实施例中,接头是多价的。在一些实施例中,接头可以将两个或更多个另外的化学部分连接至如本文所述的寡核苷酸链。例如,在一些实施例中,一个或两个或三个或更多个另外的化学部分(例如,GalNAc部分)通过多价接头部分连接至寡核苷酸链(例如,在5′-末端)。

[0936] 在一些实施例中,例如在向系统、细胞、组织、器官、受试者等施用之后,从寡核苷酸(例如寡核苷酸链)的其余部分切割另外的化学部分。在一些实施例中,另外的化学部分促进、增加和/或加速向某些细胞的递送,并且在将寡核苷酸递送至这样的细胞之后,从寡核苷酸切割另外的化学部分。在一些实施例中,接头部分包含一个或多个可切割部分,其可在所需位置(例如,在某种类型的细胞、亚细胞区室如溶酶体等内)和/或时机切割。在一些实施例中,可切割部分被多肽例如酶如核酸酶选择性切割。报道了许多有用的可切割部分和可切割接头,并可根据本披露使用。在一些实施例中,可切割部分是或包含选自酰胺、酯、醚、磷酸二酯、二硫化物、氨基甲酸酯等的一种或多种官能团。在一些实施例中,接头如WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中所述。

[0937] 如本文所述,在一些实施例中,另外的化学部分(例如,Mod001)可以促进寡核苷酸的递送。在一些实施例中,递送后,另外的化学部分被切割。在一些实施例中,递送或施用后释放另外的部分,从而提供待递送的寡核苷酸。在一些实施例中,用于缀合另外的化学部分的接头(例如,L001)被切割。在一些实施例中,寡核苷酸具有包含另外的化学部分和任选的接头的寡核苷酸的寡核苷酸链的结构。在一些实施例中,寡核苷酸具有在从包含另外的化学部分的寡核苷酸切割另外的化学部分后释放的寡核苷酸的结构。在一些实施例中,也从寡核苷酸切割接头(例如,L001)。在一些实施例中,通过从包含另外的化学部分的寡核苷酸的寡核苷酸链切割另外的化学部分来形成寡核苷酸。在一些实施例中,在寡核苷酸被递送到细胞中之后,另外的化学部分被切割。在一些实施例中,在向受试者施用寡核苷酸之后,另外的化学部分被切割。

[0938] 在一些实施例中,所提供的披露内容提供了用于递送寡核苷酸的技术,这些技术包括施用寡核苷酸的缀合物,其中该缀合物包含待递送的寡核苷酸和如本文所述的另外的化学部分。在一些实施例中,寡核苷酸独立地且任选地通过一个或多个接头与一个或多个另外的化学部分缀合。在一些实施例中,寡核苷酸通过接头与另外的化学部分缀合。

[0939] 如本文所展示的,在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的活性和/或所需的特性,而不利用据报道为所需的和/或必需的特定结构元件(例如,修饰、键联构型和/或模式等)(例如,WO 2019/219581中报道的那些),但某些这样的结构元件可以与根据本披露的多种其他结构元件组合掺入寡核苷酸中。例如,在一些实施例中,本披露的寡核苷酸在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′具有较少的核苷,在一个或多个据报道硫代磷酸酯核苷酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联,在一个或多个据报道Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,在一个或多个据报道Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,和/或与据报道对某些寡核苷酸特性和/或活性有利的或所需的那些修饰和/或立体化学相比,在一个或多个

位置包含不同的修饰(例如,核苷酸间键联修饰、糖修饰等)和/或立体化学(例如,存在2′-MOE、在特定位置不存在硫代磷酸酯键联、在特定位置不存在Sp硫代磷酸酯键联和/或在特定位置存在Rp硫代磷酸酯键联据报道对某些寡核苷酸特性和/或活性是有利或所需的;如本文所证明的,所提供的技术可以提供所需的特性和/或高活性,而无需利用2'MOE,无需在一个或多个这样的特定位置处避免硫代磷酸酯键联,无需在一个或多个这样的特定位置处避免Sp硫代磷酸酯键联,和/或无需在一个或多个这样的特定位置处避免Rp硫代磷酸酯键联)。另外地或替代性地,所提供的寡核苷酸包含先前未认识到的结构元件,诸如利用某些修饰(例如,碱基修饰、糖修饰(例如,2′-F)、键联修饰(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)、另外的部分等)及其水平、模式和组合。

[0940] 例如,在一些实施例中,如本文所述,所提供的寡核苷酸包含不超过5、6、7、8、9、10、11或12个位于与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′的核苷。

[0941] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),对于在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′的结构元件,在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′的核苷酸间键联的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。在一些实施例中,在与靶核苷相反的核苷的3′不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,没有这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过1个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过2个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过3个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,在与靶核苷相反的核苷的3′不超过1、2或3个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在其糖的3′-位(被认为是-1位)键合到与靶核苷相反的核苷的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是在与靶核苷相反的核苷的3′的唯一Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相反的核苷的位置-3处的核苷酸间键联(例如,对于...$N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}$...,连接N_{-2}和N_{-3}的核苷酸间键联,其中N_0是与靶核苷相反的核苷)不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相反的核苷的位置-6处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相反的核苷在位置-4和/或-5处的核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联,或独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-3、-4、-5和-6处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-3、-4、-5和-6处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-4和/或-5处的核苷酸间键联各自独立地是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-4和/或-5处的核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在许多实施例中,不超过1、2、3、4或5个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0942] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的核苷酸间键联的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)各自独立地是经修饰的核

苷酸间键联,其任选地是手性控制的。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,没有这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过1个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过2个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过3个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,在与靶核苷相反的核苷的5′不存在2、3或4个连续核苷酸间键联,其各自不是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷相反的核苷的5′不存在2、3或4个连续的核苷酸间键联,其各自是手性控制的并且不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′没有或不超过1、2、3、4或5个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在其糖的5′-位(被认为是+1位)键合到与靶核苷相反的核苷的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是在与靶核苷相反的核苷的3′的唯一Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相反的核苷的位置+5处的核苷酸间键联(例如,对于...$N_{+5}N_{+4}N_{+3}N_{+2}N_{+1}N_0$...,连接$N_{+4}$和$N_{+5}$的核苷酸间键联,其中$N_0$是与靶核苷相反的核苷)不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相反的核苷,在位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。在一些实施例中,它们各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它们各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相反的核苷,在位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。在一些实施例中,位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+6处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+6处的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸

间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31或32个,或约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的核苷酸间键联各自独立地是手性控制的,并且是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31或32个,或约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的硫代磷酸酯核苷酸间键联各自独立地是手性控制的,并且是Sp。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

[0943] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸中核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,位置+3($N_{+4}N_{+3}$之间)、+4、+6、+8、+9、+12、+14、+15、+17和+18中的一个或多个处的一个或多个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有4个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有5个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有6个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有7个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有8个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有9个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有10个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′一个或多个核苷酸间键联各自独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有一个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,位置-3处的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

[0944] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施

例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸中核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-30、1-25、1-20、1-15、5-30、5-25、5-20、5-15、10-30、10-25、10-20、10-15,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-30、1-25、1-20、1-15、5-30、5-25、5-20、5-15、10-30、10-25、10-20、10-15,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+1($N_{+1}N_0$之间)、+2、+5、+6、+7、+8、+11、+14、+15、+16、+17、+19、+20、+21和+22中的一个或多个处的一个或多个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有5个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有10个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有11个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有12个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有13个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有14个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有15个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′一个或多个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有一个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有两个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有三个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-4和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约或至少约80%、85%、90%或95%独立地是Sp。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。

[0945] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的所有核苷酸间键联中的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个独立地是

不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5′的核苷酸间键联中的一个或多个,例如约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10,或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5($N_{+5}N_{+4}$之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或所有位置处的一个或多个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有2个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有3个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有4个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的5’有5个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的3′一个或多个核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相反的核苷的3’有两个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-2和-6处的一个或两个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性控制的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,每个n001独立地是Sp,除了与dI的3’-碳键合的每个n001独立地是Rp。

ADAR

[0946] 尤其是,所提供的技术可以通过将A转化成I来提供对靶腺苷的修饰/编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和/或由寡核苷酸与靶核酸形成的双链体与蛋白(例如,ADAR蛋白)相互作用。在一些实施例中,这样的蛋白包含腺苷修饰活性并且可以修饰靶核酸中的靶腺苷,例如将它们转化成肌苷。

[0947] ADAR蛋白是在多种细胞、组织、器官和/或生物体中天然表达的蛋白。据报道,一些ADAR蛋白(例如,ADAR1和ADAR2)可以通过脱氨来编辑腺苷,从而将腺苷转化成肌苷,肌苷可以提供多种功能,包括在翻译过程中被读作或类似于G。已经报道了ADAR介导的mRNA编辑(例如,脱氨)的机制。例如,据报道,ADAR蛋白催化具有错配的双链RNA底物上的腺苷向肌苷的转化。如本领域技术人员所理解的,肌苷可以通过细胞翻译和/或剪接机制被辨识为鸟苷。ADAR因此可用于核酸(例如,前体mRNA和mRNA底物)的功能性腺苷至鸟苷编辑。

[0948] 在一些实施例中,本披露提供了用于ADAR介导的靶核酸(例如,RNA)中的靶腺苷编辑的寡核苷酸及其组合物。ADAR介导的RNA编辑可以提供优于DNA编辑的几个优点,例如,因为不需要重组蛋白如Cas9的表达,所以递送被简化。ADAR1和ADAR2均是内源酶,因此单独的寡核苷酸的细胞递送可足以进行编辑。脱靶效应(如果有的话)是瞬时的并且不改变基因组DNA。另外,ADAR介导的编辑可用于有丝分裂后细胞,并且不需要用于HDR模板进行修复。已

经报道了具有共同功能结构域的三种脊椎动物ADAR基因(Nishikura Nat Rev Mol Cell Biol.[自然评论:分子细胞生物学]2016年2月;17(2):83-96;Nishikura Annu Rev Biochem.[生物化学年鉴]2010;79:321-349;Thomas和Beal Bioessays[生物学论文集].2017年4月;39(4))。所有3种ADAR均含有dsRNA结合结构域(dsRBD),其可接触dsRNA底物。一些ADAR1还含有Z-DNA结合结构域。据报道,ADAR1在脑、肺、肾、肝和心脏等中显著表达,并且可以以两种同种型存在。在一些实施例中,同种型p150可以由干扰素诱导,而同种型p110可以组成型表达。在一些实施例中,使用p110可能是有益的,因为据报道它是泛在和组成型表达的。ADAR2可以在例如脑和肺中高表达,并且据报道仅定位到细胞核中。据报道,ADAR3无催化活性并且仅在脑中表达。当选择治疗靶时,可以考虑组织表达的潜在差异。

[0949] 已经报道了寡核苷酸用于通过ADAR进行RNA编辑。尤其是,本披露认识到先前报道的技术通常具有一个或多个缺点,诸如低稳定性(例如,具有天然RNA糖的寡核苷酸)、低编辑效率、低编辑特异性(例如,在与寡核苷酸基本上互补的靶核酸的一部分中编辑许多A)、用于ADAR识别/募集的寡核苷酸中的特定结构、外源性蛋白(例如,被工程化以识别具有特定结构的寡核苷酸和/或其双链体(例如,具有靶核酸)以用于编辑的那些)等。另外,当寡核苷酸包含经修饰的核苷酸间键联的一个或多个手性键联磷时,先前报道的技术典型地利用立体随机寡核苷酸组合物。

[0950] 例如,多种报道的寡核苷酸含有ADAR募集结构域。Merkle等人,Nat Biotechnol.[自然-生物技术]2019年2月;37(2):133-138披露了包含不完美的20bp发夹ADAR募集结构域的寡核苷酸,该结构域是募集内源性人ADAR2以编辑内源性转录物的分子内茎环。Mali等人,Nat Methods.[自然-方法]2019年3月;16(3):239-242中报道的寡核苷酸除了与靶mRNA杂交的特异性结构域外还包含ADAR底物GluR2前信使RNA序列或MS2发夹。

[0951] 某些报道的编辑方法利用外源或工程化蛋白,例如,利用CRISPR/Cas9系统的那些。例如,Komor等人Nature[自然]2016第533卷,第420-424页披露了与CRISPR-Cas9偶联以产生可编程DNA碱基编辑器的脱氨酶。因为它参与外源编辑蛋白,所以它需要递送CRISPR/Cas9系统和指导RNA两者。

[0952] 尤其是,本披露提供了包括一个或多个特征诸如糖修饰、碱基修饰、核苷酸间键联修饰、立体化学控制、其多种模式等的技术,以解决现有腺苷编辑技术中遭受的一个或多个或所有缺点,例如,通过提供本文所述的设计的寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物。例如,如本文所展示的,ADAR募集环是任选的,并且对于所提供的技术来说不是必需的。

[0953] 如本领域技术人员所理解的,一个或多个这样的有用特征可用于改进现有技术中的寡核苷酸(例如,WO 2016097212、WO 2017220751、WO 2018041973、WO 2018134301中所述的那些,其各自的寡核苷酸和寡核苷酸组合物独立地通过援引并入)。在一些实施例中,本披露通过将本文所述的一个或多个有用特征应用于先前报道的寡核苷酸碱基序列来提供对先前技术的改进。在一些实施例中,本披露提供了可用于腺苷编辑的先前报道的寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了使用立体随机寡核苷酸组合物对先前报道的腺苷编辑的改进,其通过使用手性控制的寡核苷酸组合物进行这样的编辑来进行。

[0954] 据报道,ADAR蛋白可具有多种同种型。例如,ADAR1尤其具有报道的p110同种型和报道的p150同种型。在一些实施例中,据观察,对于多种同种型(在一些实施例中,p110和

p150同种型两者),某些手性控制的寡核苷酸组合物可以提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I),而对于一种或多种同种型而言(例如,p110)立体随机组合物提供低水平的腺苷修饰。在一些实施例中,手性控制的寡核苷酸组合物对于在表达或包含ADAR1的p110同种型的系统(例如,细胞、组织、器官、生物体、受试者等)中的腺苷修饰特别有用,特别是相对于p150同种型表达或包含高水平的ADAR1的p110同种型的那些系统,或不表达或表达低水平的ADAR1 p150的那些系统。

[0955] 在一些实施例中,本披露提供了在结构中不需要茎环的顺式作用(CisA)寡核苷酸。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以通过碱基配对与靶mRNA形成dsRNA结构。在一些实施例中,所形成的dsRNA结构(任选地具有二级错配)含有促进ADAR结合的凸起,并且因此可以促进ADAR介导的编辑(例如,靶腺苷的脱氨)。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸比LSL寡核苷酸或CSL寡核苷酸短,例如长度不超过或为约32nt,不超过或为约31nt,不超过或为约30nt,不超过或为约29nt,不超过或为约28nt,不超过或为约27nt,或不超过或为约26nt,并且可以提供高编辑效率。

双链体化(Duplexing)和靶向区

[0956] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

双链体化区;和

靶向区;

其中:

双链体化区能够与核酸形成双链体;并且

靶向区能够与包含靶腺苷的靶核酸形成双链体。

[0957] 在一些实施例中,双链体化区是或包含如本文所述的第一结构域。在一些实施例中,靶向区是或包含如本文所述的第二结构域。

[0958] 在一些实施例中,双链体化区能够与核酸形成双链体,其中该核酸不是靶核酸。在一些实施例中,双链体化区与靶核酸形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与在系统(例如,细胞)中表达的核酸形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与外源性核酸(例如,寡核苷酸)形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与是或包含RNA部分的核酸形成双链体。在一些实施例中,形成的双链体可以被多肽(诸如ADAR多肽,例如ADAR1(p110或p150或两者)、ADAR2等)识别。在一些实施例中,形成的双链体可以募集多肽,诸如ADAR多肽,例如ADAR1(p110或p150或两者)、ADAR2等。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p150。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110和p150。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1和ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110、ADAR p150和/或ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110和p150以及ADAR2。

[0959] 在一些实施例中,双链体化区与寡核苷酸(该寡核苷酸可称为“双链体化寡核苷酸”)形成双链体。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核碱基、经修饰的糖和/或经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含与双链体化区互补的双链体形成区。如本领域技术人员所理解的,在许多情况下,不需要完美的互补,并且可以较好地耐受一种或多种摆动、凸起、错配等。例如,据报道,ADAR蛋白结合完美

和不完美互补的双链体和/或用作底物。

[0960] 双链体化区和/或双链体形成区可以具有各种长度。在一些实施例中,它们是至少10个(例如,约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,约10-20、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100、14-20、14-25、14-30、14-40、14-50、14-100、15-20、15-25、15-30、15-40、15-50、15-100、16-20、16-25、16-30、16-40、16-50、16-100、17-20、17-25、17-30、17-40、17-50、17-100、18-20、18-25、18-30、18-40、18-50、18-100、19-20、19-25、19-30、19-40、19-50、19-100、20-25、20-30、20-40、20-50、20-100个等)核苷长度。在一些实施例中,长度为约或至少约10个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约11个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约12个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约13个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约14个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约15个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约16个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约17个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约18个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约19个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约20个核苷长。

[0961] 在一些实施例中,双链体化寡核苷酸由以下组成或基本上由以下组成:双链体形成区。在一些实施例中,除了双链体形成区之外,双链体化寡核苷酸还包含一个或多个另外的区域。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含茎环区。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含以下或由以下组成:双链体形成区和茎环区。在一些实施例中,茎区为约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9或10个(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,约4-10、4-15、4-20、4-25、4-30、4-40、4-50、5-10、5-15、5-20、5-25、5-30、5-40、5-50、6-10、6-15、6-20、6-25、6-30、6-40、6-50、7-10、7-15、7-20、7-25、7-30、7-40、7-50、8-10、8-15、8-20、8-25、8-30、8-40、8-50、9-10、9-15、9-20、9-25、9-30、9-40、9-50、10-15、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100个等)核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约5个核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约6个核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约7个核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约8个核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约9个核碱基长度。在一些实施例中,其为约或至少约10个核碱基长度。

[0962] 在一些实施例中,一个或多个另外的区域可以促进、增进、促使和/或有助于多肽例如ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2的募集和/或识别和/或与该多肽的相互作用。在一些实施例中,为了使包含一个或多个另外区域的寡核苷酸双链体化,与不存在这样的另外区域相比,可以使用更短的双链体形成区。

[0963] 在一些实施例中,由双链体区和双链体化寡核苷酸形成的双链体结构可以募集多肽,例如ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2。在一些实施例中,双链体结构是或包含如WO 2016/097212所述的募集部分。

[0964] 在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含如本文所述的一种或多种糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个糖修饰。在一些实施例中,如本文所述,双链体化寡核苷酸中的大部分或全部糖是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,

其中R不是氢。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,如本文所述,双链体化寡核苷酸中的大部分或全部核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,如本文所述,手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大部分或全部独立地是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时,5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,增加经修饰的核苷酸间键联(例如硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的数量可以提高编辑效率,例如,当更多的天然DNA/RNA糖、2'-F修饰的糖等与经修饰的核苷酸间键联(例如硫代磷酸酯核苷酸间键联)键合时。

[0965] 在一些实施例中,双链体化区包含如本文所述的一种或多种糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,双链体化区包含一个或多个(例如1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,双链体化区中的大部分或全部糖各自独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的

糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,双链体化区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,寡核苷酸两端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是经修饰的糖;例如,在一些寡核苷酸中,5′末端的3个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖,3′末端的4个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,双链体化区包含一个或多个(例如1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'和/或3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如,在一些实施例中,各自独立地选自不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,并且寡核苷酸3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,如本文所述,手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大部分或全部独立地是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性经修饰的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)不是手性控制的。在一些实施例中,双链体化区包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时,5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,双链体化区处一个或多个(例如,

1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)天然磷酸酯键联的掺入增加编辑效率。在一些实施例中,双链体化区中大部分核苷酸间键联(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,除了寡核苷酸末端的一个或多个天然磷酸酯键联(如果有的话)之外,双链体化区中的每个其他核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0966] 在一些实施例中,靶向区是或包含如本文所述的编辑区。在一些实施例中,靶向区包含如本文所述的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'。

[0967] 在一些实施例中,靶向区包含如本文所述的一种或多种糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,靶向区中的大部分或全部糖各自独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,编辑区包含三个核苷或由三个核苷组成,其中与靶腺苷相反的核苷位于三个核苷的中间。在一些实施例中,编辑区由三个核苷组成,其中与靶腺苷相反的核苷位于三个核苷的中间。在一些实施例中,编辑区包含以下或由以下组成:5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、

3-5个等)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,寡核苷酸两端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是经修饰的糖;例如,在一些寡核苷酸中,5′末端的3个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖,3′末端的4个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'和/或3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如,在一些实施例中,各自独立地选自不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,并且寡核苷酸3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性控制的。在一些实施例中,如本文所述,手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大部分或全部独立地是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性经修饰的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)不是手性控制的。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时,5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,靶向区处一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)天然磷酸酯键联的掺入增加编辑效率。在一些实施例中,靶向区中大部分核苷酸间键联(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%,或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,除了寡核苷酸末端的一个或多个天然磷酸酯键联(如果有的话)之外,靶向区中

的每个其他核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0968] 在一些实施例中,靶向区与靶核酸中序列互补。在一些实施例中,核酸是或包含RNA。在一些实施例中,核酸是RNA。在一些实施例中,靶区域与其互补的靶核酸中的序列包含靶腺苷。如本领域技术人员所理解的,在许多情况下,不需要完全互补,并且可以存在一种或多种摆动、凸起、错配等。

[0969] 靶向区可具有各种长度。在一些实施例中,靶向区是至少10个(例如,约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,约10-20、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100、14-20、14-25、14-30、14-40、14-50、14-100、15-20、15-25、15-30、15-40、15-50、15-100、16-20、16-25、16-30、16-40、16-50、16-100、17-20、17-25、17-30、17-40、17-50、17-100、18-20、18-25、18-30、18-40、18-50、18-100、19-20、19-25、19-30、19-40、19-50、19-100、20-25、20-30、20-40、20-50、20-100个等)核苷长度。在一些实施例中,长度为约或至少约10个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约11个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约12个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约13个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约14个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约15个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约16个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约17个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约18个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约19个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约20个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约21个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约22个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约23个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约24个核苷长。在一些实施例中,长度为约或至少约25个核苷长。

[0970] 在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区和双链体化区,其中靶向区位于双链体化区的3’侧。在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区和双链体化区,其中靶向区位于双链体化区的5’侧。在一些实施例中,寡核苷酸由靶向区和双链体化区组成,其中靶向区位于双链体化区的3’侧。在一些实施例中,寡核苷酸由靶向区和双链体化区组成,其中靶向区位于双链体化区的5’侧。在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区、双链体化区以及靶向区和双链体化区之间的接头区。在一些实施例中,接头区包含或者是寡核苷酸部分。

[0971] 在一些实施例中,包含双链体化和靶向区域的寡核苷酸与其他核酸(例如双链体化寡核苷酸)形成包括双链体的复合物。在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸和核酸的双链体,这些寡核苷酸包含双链体化和靶向区,这些核酸与双链体化区形成双链体。在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸和双链体化寡核苷酸的双链体,这些寡核苷酸包含双链体化和靶向区。在一些实施例中,利用包含双链体化和靶向区的寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物(例如,WV-42707)。在一些实施例中,利用包含双链体化和靶向区的寡核苷酸的非手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,利用双链体化寡核苷酸的手性控制的寡核苷酸组合物(例如,WV-42724)。在一些实施例中,利用双链体化寡核苷酸的非手性控制的寡核苷酸组合物(例如,WV-42721)。

[0972] 在一些实施例中,双链体在施用前形成。在一些实施例中,包含双链体化和靶向区的寡核苷酸以及与其形成双链体的核酸(其可以称为“双链体化核酸”)分开施用。在一些实施例中,包含双链体化和靶向区的寡核苷酸在双链体化核酸(例如本文所述的各种双链体化寡核苷酸)之前、同时(在单一或多个组合物中)或之后施用。在一些实施例中,双链体化

核酸存在于细胞中和/或可以在细胞中表达,因此可能不需要直接施用。

[0973] 本文描述了包含双链体化和靶向区的某些寡核苷酸和/或双链体化核酸(例如,双链体化寡核苷酸)和/或用途。

[0974] 在一些实施例中,靶核酸是或包含RNA。在一些实施例中,靶核酸是或包含mRNA。在一些实施例中,靶核酸中的靶腺苷被编辑成I。

寡核苷酸和组合物的产生

[0975] 多种方法可以用于产生寡核苷酸和组合物,并且可以根据本披露使用。例如,传统的亚磷酰胺化学(例如,包含-CH_2CH_2CN和-$N(i\text{-}Pr)_2$的亚磷酰胺)可以用于制备立体随机的寡核苷酸和组合物,并且某些试剂和手性控制的技术可以用于制备手性控制的寡核苷酸组合物,例如如以下文献中所述:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的试剂和方法通过援引并入本文。

[0976] 在一些实施例中,寡核苷酸及其组合物的手性控制的/立体选择性制备包括利用手性助剂,例如作为单体、二聚体(例如,分离获得的手性纯二聚体)、单体亚磷酰胺、二聚亚磷酰胺(例如,分离获得的手性纯二聚体)等的一部分。这样的手性助剂试剂、单体、二聚体和亚磷酰胺的实例描述于US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159中,其各自的手性助剂试剂、单体、二聚体和亚磷酰胺独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,手性助剂是以下任一文献中描述的手性助剂:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的手性助剂独立地通过援引并入本文。

[0977] 在一些实施例中,手性控制的制备技术(包括寡核苷酸合成循环、试剂和条件)在以下中描述:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、and/WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的寡核苷酸合成方法、循环、试剂和条件独立地通过援引并入本文。

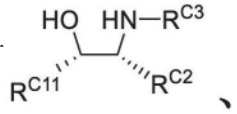
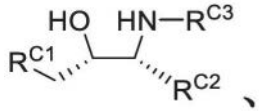
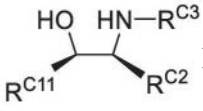
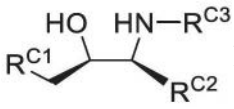
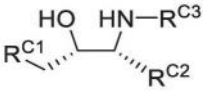
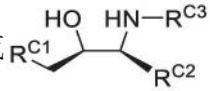
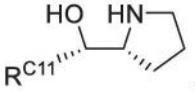
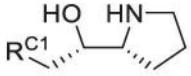
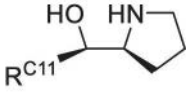
[0978] 一旦合成,通常将进一步纯化所提供的寡核苷酸和组合物。合适的纯化技术是本

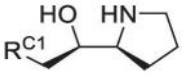
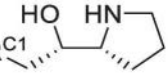
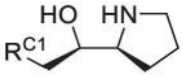
领域技术人员众所周知的和实践的,包括但不限于在以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的纯化技术独立地通过援引并入本文。

[0979] 在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰和解封闭或由其组成。在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰、封端和解封闭或由其组成。这些步骤通常以其列出的顺序执行,但是在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,可以改变某些步骤的顺序,例如封端和修饰。如果需要,可以重复一个或多个步骤以提高转化率、产率和/或纯度,如本领域技术人员通常在合成中所进行的。例如,在一些实施例中,可以重复进行偶联;在一些实施例中,可以重复进行修饰(例如,氧化以安装=O,硫化以安装=S,等等);在一些实施例中,在修饰后重复进行偶联,其可以将P(III)键联转化成在某些情况下可以更稳定的P(V)键联,并且偶联后通常进行修饰以转化新形成的P(III)键联为P(V)键联。在一些实施例中,当重复步骤时,可以采用不同的条件(例如,浓度、温度、试剂、时间等)。

[0980] 用于配制所提供的寡核苷酸和/或制备药物组合物的技术,例如用于经由多种途径施用给受试者的技术,在本领域中是容易获得的,并且可以根据本披露使用,例如以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056或WO 2018/237194及其中引用的参考文献。

[0981] 用于配制所提供的寡核苷酸和/或制备药物组合物的技术,例如用于经由多种途径施用给受试者的技术,在本领域中是容易获得的,并且可以根据本披露使用,例如以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056或WO 2018/237194及其中引用的参考文献。

[0982] 在一些实施例中,有用的手性助剂具有、、或或其盐的结构,其中R^{C11}是$-L^{C1}-R^{C1}$,L^{C1}是任选地经取代的$-CH_2-$,R^{C1}是R、$-Si(R)_3$、$-SO_2R$或吸电子基团,并且R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外还具有0-2个杂原子的任选地经取代的3-10元饱和环。在一些实施例中,有用的手性助剂具有或的结构,其中R^{C1}是R、$-Si(R)_3$或$-SO_2R$,并且R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外还具有0-2个杂原子的任选地经取代的3-7元饱和环。所形成的环是任选地经取代的5元环。在一些实施例中,有用的手性助剂具有、、或

或其盐的结构。在一些实施例中,有用的手性助剂具有或的结构。在一些实施例中,有用的手性助剂是DPSE手性助剂。在一些实施例中,手性助剂的纯度或立体化学纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中,其为至少85%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。在一些实施例中,其为至少96%。在一些实施例中,其为至少97%。在一些实施例中,其为至少98%。在一些实施例中,其为至少99%。

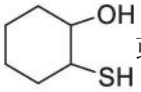
[0983] 在一些实施例中,L^{C1}是-CH_2-。在一些实施例中,L^{C1}是取代的-CH_2-。在一些实施例中,L^{C1}是单取代的-CH_2-。

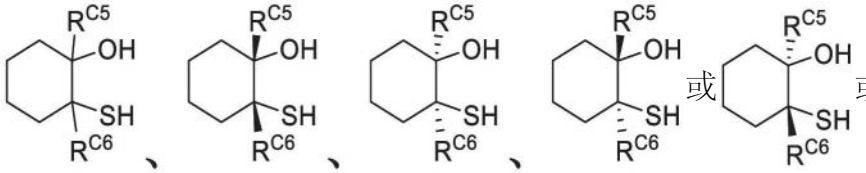
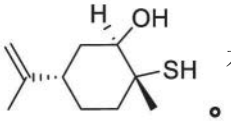
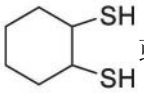
[0984] 在一些实施例中,R^{C1}是R。在一些实施例中,R^{C1}是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R^{C1}是-SiR_3。在一些实施例中,R^{C1}是-$SiPh_2Me$。在一些实施例中,R^{C1}是-SO_2R。在一些实施例中,R不是氢。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是苯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R是C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是叔丁基。

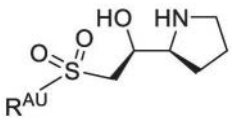
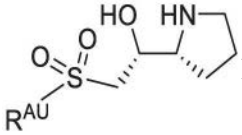
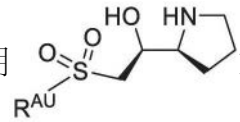
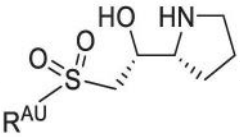
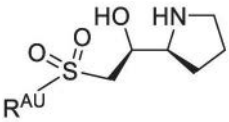
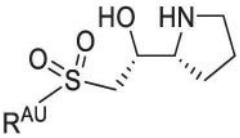
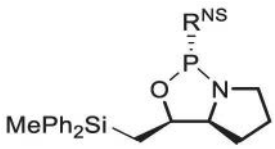
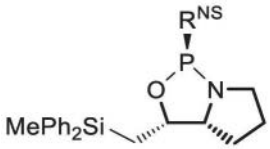
[0985] 在一些实施例中,R^{C1}是吸电子基团,诸如-C(O)R、-OP(O)$(OR)_2$、-OP(O)$(R)_2$、-P(O)$(R)_2$、-S(O)R、-S$(O)_2$R等。在一些实施例中,包含吸电子基团R^{C1}基团的手性助剂特别可用于制备手性控制的不带负电荷的核苷酸间键联和/或与天然RNA糖键合的手性控制的核苷酸间键联。

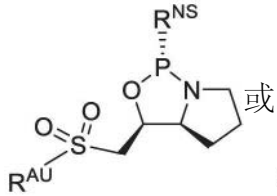
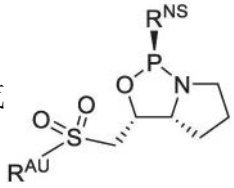
[0986] 在一些实施例中,R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的3-10(例如,3、4、5、6、7、8、9或10)元饱和环。在一些实施例中,R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元饱和环。

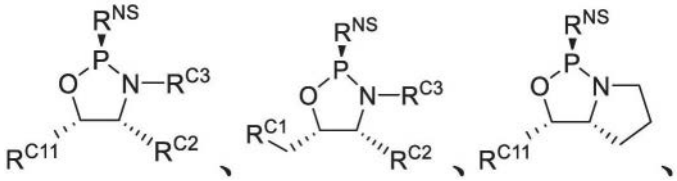
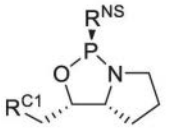
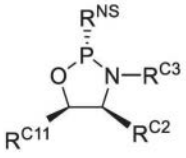
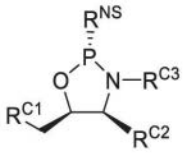
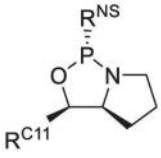
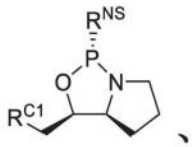
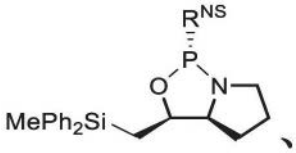
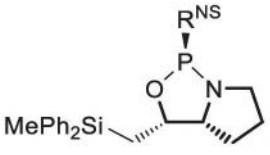
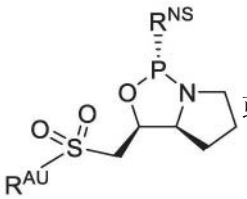
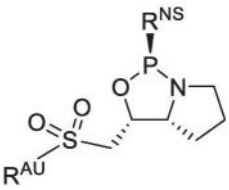
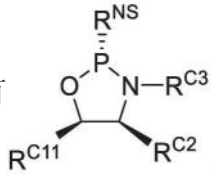
[0987] 在一些实施例中,化合物具有H-X^C-C$(R^{C5})_2$-C$(R^{C6})_2$-SH或其盐的结构,其中X^C是O或S,并且R^{C5}和R^{C6}各自独立地是如本文所述的R。在一些实施例中,这样的化合物可用于制备单体。在一些实施例中,这样的化合物可用作手性助剂。在一些实施例中,这样的化合物特别可用于制备单体,该单体当用于寡核苷酸合成时在其氮原子之间与键联磷形成键(例如,包含sm01、sm18等的单体)。在一些实施例中,X^C是O。在一些实施例中,X^C是S。在一些实施例中,一个R^{C5}是-H。在一些实施例中,一个R^{C6}是-H。在一些实施例中,化合物具有H-X^C-CHR^{C5}-CHR^{C6}-SH或其盐的结构。在一些实施例中,R^{C5}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^{C5}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{C5}是甲基。在一些实施例中,R^{C6}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。在一些实施例中,R^{C6}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,R^{C6}是甲基。在一些实施例中,化合物是HOCH(CH_3)CH(CH_3)SH。在一些实施例中,化合物是HSCH(CH_3)CH(CH_3)SH。在一些实施例中,一个R^{C5}不是氢。在一些实施例中,一个R^{C6}不是氢。在一些实施例中,一个R^{C5}和一个R^{C6}与居于它们之间的原子一起形成具有0-5个杂原子的任选地经取代的3-20(例如,3-15、3-10、5-10、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20)元单环、双环或多环。在一些实施例中,所形成的环是单环的。在一些实施例中,一个R^{C5}和一个R^{C6}与居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的4-8、4-7、5-8、5-7、4、5、6、7或8元单环。在一些实施例中,所形成的环是饱和环烷基环。在一些实施例中,所形成的环是

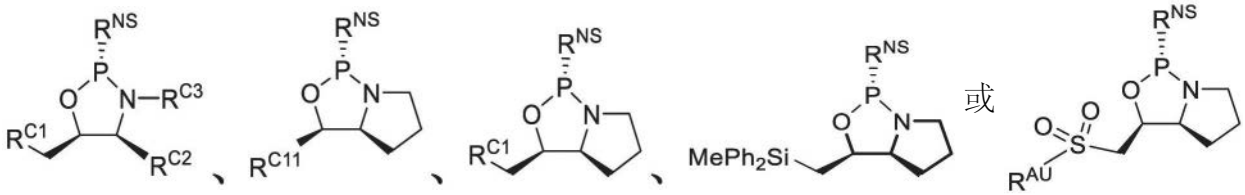
环己基环。在一些实施例中,所形成的环是双环的。在一些实施例中,所形成的环不含有杂原子环原子。在一些实施例中,每个单环单元独立地为3-10元,和/或独立地为饱和的、部分不饱和的或芳族的并且具有0-5个杂原子。在一些实施例中,化合物是或其盐,其中环己基环是任选地经取代的。在一些实施例中,化合物是

或其盐,其中环己基环是任选地经取代的。在一些实施例中,取代基是C_{1-6}脂肪族基,例如-C(CH_3)=CH_2。例如,在一些实施例中,化合物是。在一些实施例中,化合物是或其盐,其中环己基环是任选地经取代的。

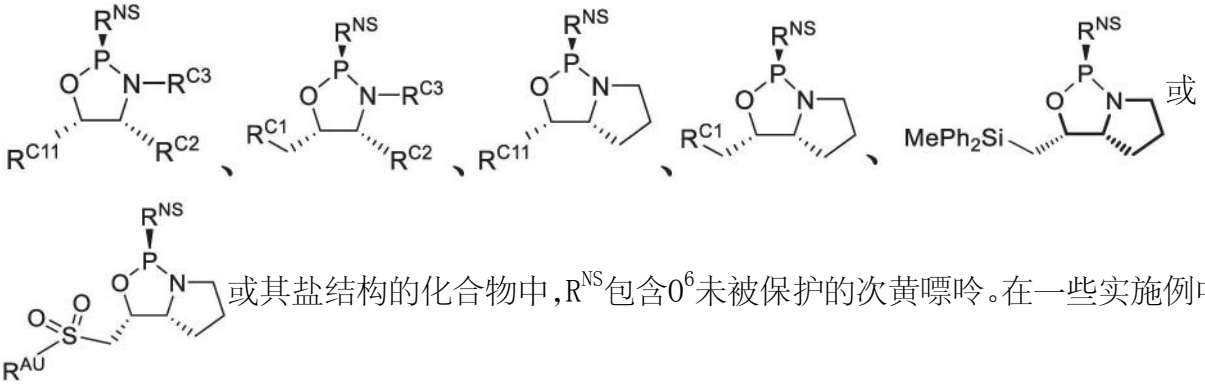
[0988] 在一些实施例中,用于制备寡核苷酸和/或组合物的方法包括使用本文所述的手性助剂,例如用于构建一个或多个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,使用DPSE手性助剂独立地构建一个或多个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,使用DPSE手性助剂独立地构建每个手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,使用或或其盐(其中R^{AU}如本文所述)独立地构建一个或多个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,使用或或其盐独立地构建每个手性控制的不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,使用或或其盐独立地构建每个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,R^{AU}是任选地经取代的C_{1-20}、C_{1-10}、C_{1-6}、C_{1-5}、或C_{1-4}脂肪族基。在一些实施例中,R^{AU}是任选地经取代的C_{1-20}、C_{1-10}、C_{1-6}、C_{1-5}或C_{1-4}烷基。在一些实施例中,R^{AU}是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R^{AU}是苯基。在一些实施例中,使用PSM手性助剂构建一个或多个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,使用PSM手性助剂独立地构建每个手性控制的不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,使用PSM手性助剂独立地构建每个手性控制的核苷酸间键联。如本领域技术人员所理解的,在亚磷酰胺中经常使用手性助剂(例如,或(DPSE亚磷酰胺),

或(其中R^{AU}独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph、PSM亚磷酰胺时),其中R^{NS}是任选地经取代/被保护的核苷(例如,任选地被保护以用于寡核苷酸合成)或其盐等)用于寡核苷酸制备。在一些实施例中,亚磷酰胺是具有

、、、、、、、、、、或或其盐的结构的化合物,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{AU}是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R^{AU}是苯基。在一些实施例中,R^{NS}是任选地经取代的或被保护的核苷,其包含次黄嘌呤。在一些实施例中,R^{NS}包含任选地经取代的或被保护的次黄嘌呤。在一些实施例中,R^{NS}是任选地经取代的或被保护的肌苷。在一些实施例中,R^{NS}是任选地经取代的或被保护的脱氧肌苷。在一些实施例中,R^{NS}是任选地经取代或被保护的2'-F肌苷(2'-OH被2'-F代替)。在一些实施例中,R^{NS}是任选地经取代或被保护的2'-OR修饰的肌苷(2'-OH被如本文所述的2'-OR修饰(例如,2'-OMe、2'-MOE等)代替)。在一些实施例中,次黄嘌呤是O^6被保护的。在一些实施例中,次黄嘌呤是利用-L-Si(R)$_3$而O^6被保护的,其中L是任选地经取代的-CH_2-CH_2-,并且每个R独立地如本文所述并且不是-H。在一些实施例中,每个R独立地是选自C_{1-6}脂肪族基和苯基的任选地经取代的基团。在一些实施例中,每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}烷基。在一些实施例中,-L-Si(R)$_3$是-CH_2CH_2Si(Me)$_3$。在一些实施例中,包含O^6被保护的次黄嘌呤(例如,利用-CH_2CH_2Si(Me)$_3$)的化合物比相应的O^6未被保护的化合物具有更高的溶解度,并且当用于根据本披露的寡核苷酸合成时可以提供各种益处和优点。在一些实施例中,在具有、

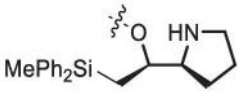
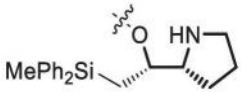
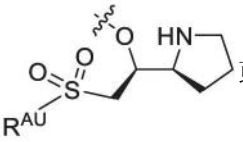
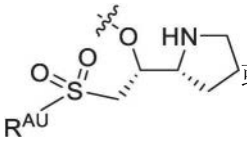
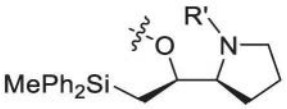
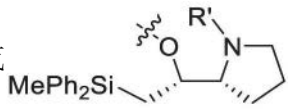
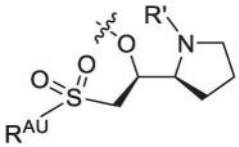
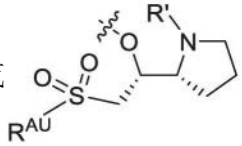
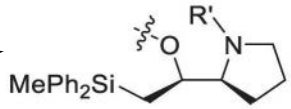
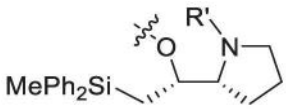
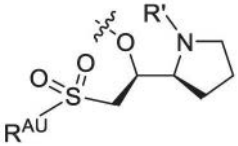
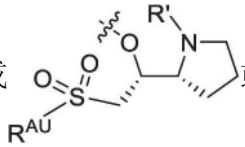
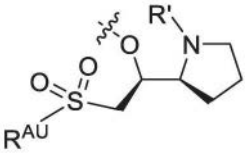
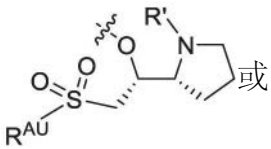


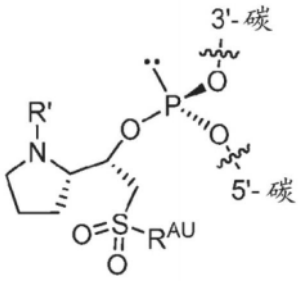
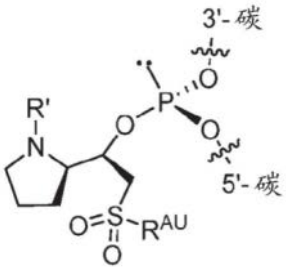
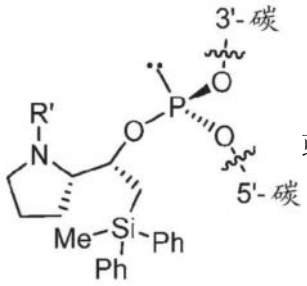
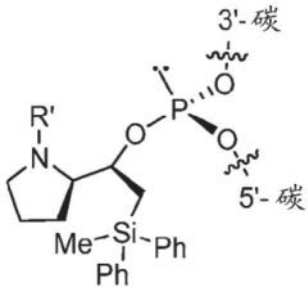
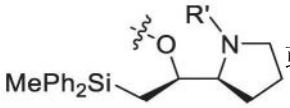
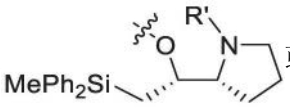
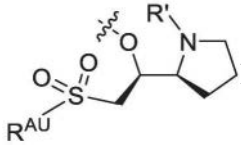
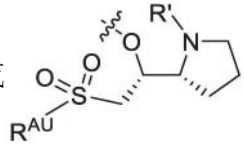
或其盐结构的化合物中，R^{NS}包含O^6被保护的次黄嘌呤（例如，利用-$CH_2CH_2Si(Me)_3$）。在一些实施例中，R^{NS}是O^6被保护的肌苷。在一些实施例中，R^{NS}是O^6被保护的脱氧肌苷。在一些实施例中，R^{NS}是O^6被保护的2'-F肌苷。在一些实施例中，R^{NS}是O^6被保护的2'-OR修饰的肌苷，其2'-OR修饰如本文所述（例如，2'-OMe、2'-MOE等）。本披露尤其涵盖这样的认识：这样的化合物对于寡核苷酸合成具有足够的溶解度并且可以用于寡核苷酸合成，而相应的没有O^6保护的化合物可能没有足够的溶解度来高效合成寡核苷酸。在一些实施例中，亚磷酰胺是(1S,3S,3aS)-1-(((2R,3S,5R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(6-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷。在一些实施例中，亚磷酰胺是(1S,3S,3aS)-1-(((2R,3S,5R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(6-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)-9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-基)氧基)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷。在一些实施例中，在具有

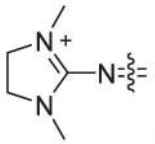
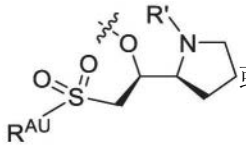
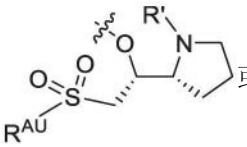
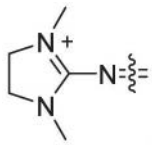
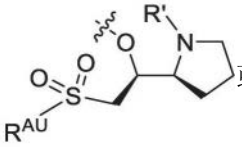
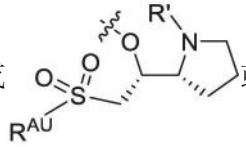
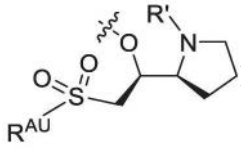
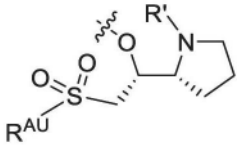
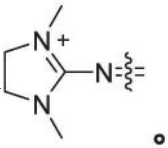
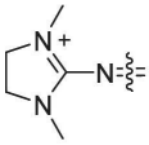
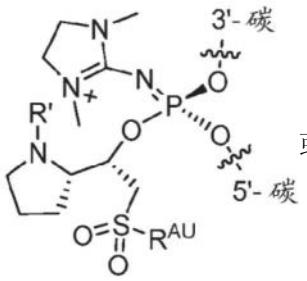


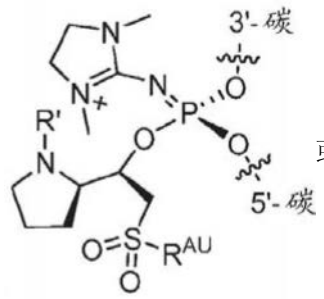
或其盐结构的化合物中，R^{NS}包含O^6未被保护的次黄嘌呤。在一些实施例中，R^{NS}是任选地经取代的或被保护的肌苷，其中次黄嘌呤是未被保护的。在一些实施例中，R^{NS}是任选地经取代的或被保护的脱氧肌苷，其中次黄嘌呤是未被保护的。在一些实施例中，R^{NS}是任选地经取代的或被保护的2'-F肌苷，其中次黄嘌呤是未被保护的。在一些实施例中，R^{NS}是任选地经取代或被保护的2'-OR修饰的肌苷，其中次黄嘌呤是未被保护的并且其2'-OR修饰如本文所述（例如，2'-OMe、2'-MOE等）。本披露尤其涵盖这样的认识：这样的化合物对于寡核苷酸合成具有足够的溶解度并且可以在不具有O^6保护的情况下用于寡核苷酸合成。

[0989] 在一些实施例中，方法包括提供DPSE和/或PSM亚磷酰胺或其盐。在一些实施例中，所提供的方法包括使DPSE和/或PSM亚磷酰胺或其盐与-OH（例如，核苷或寡核苷酸链的5′-OH）接触。如本领域技术人员所理解的，接触可以在多种合适的条件下进行，从而形成磷键联。在一些实施例中，每个手性控制的核苷酸间键联的制备独立地包括使DPSE或PSM亚磷酰胺或其盐与-OH（例如，核苷或寡核苷酸链的5′-OH）接触。在一些实施例中，每个手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联的制备独立地包括使DPSE亚磷酰胺或其盐与-OH（例如，核苷或寡核苷酸链的5′-OH）接触。在一些实施例中，每个手性控制的不带负电荷的核苷酸间键联（如n001）的制备独立地包括使PSM亚磷酰胺或其盐与-OH（例如，核苷或寡核苷酸链的5′-OH）接

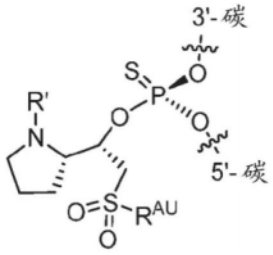
触。在一些实施例中,每个手性控制的核苷酸间键联的制备独立地包括使PSM亚磷酰胺或其盐与-OH(例如,核苷或寡核苷酸链的5′-OH)接触。在一些实施例中,接触形成P(III)键联,该键联包含键合到两个糖的磷原子和手性助剂部分(例如,或或其盐形式(例如,来自DPSE亚磷酰胺或其盐),或或其盐形式(其中R^{AU}独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等)。在一些实施例中,寡核苷酸包含P(III)键联,该键联包含例如来自DPSE或PSM亚磷酰胺的手性助剂部分。在一些实施例中,包含手性助剂部分的P(III)键联是手性控制的。在一些实施例中,可以例如在将P(III)键联转化成P(V)键联之前(例如,在硫化、与叠氮化物反应等之前)保护手性助剂部分。在一些实施例中,被保护的手性助剂具有或或其盐形式(例如,其中R'独立地如本文所述;例如,来自DPSE亚磷酰胺或其盐)、或或或其盐形式(其中每个R'和R^{AU}独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐),其中每个R′独立地如本文所述。在一些实施例中,R′是-C(O)R,其中R如本文所述。在一些实施例中,R是-CH_3。在一些实施例中,寡核苷酸包含被保护的手性助剂。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个手性控制的核苷酸间键联独立地包含或或其盐形式,或或或其盐形式。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个手性控制的核苷酸间键联独立地包含或或其盐形式。在一些实施例中,R'是-C(O)R。在一些实施例中,R'是-C(O)CH_3。在一些实施例

中,R^{AU}是Ph。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种  或其盐形式(PIII-1),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种  或其盐形式(PIII-2),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种  或其盐形式(PIII-5),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种  或其盐形式(PIII-6),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,5′-末端核苷酸间键联是PIII-1、PIII-2、PIII-5或PIII-6。在一些实施例中,5′-末端核苷酸间键联是PIII-1或PIII-2。在一些实施例中,R'是-H。在一些实施例中,R'是-C(O)R。在一些实施例中,R'是-C(O)CH_3。在一些实施例中,R^{AU}是-Ph。在一些实施例中,将P(III)键联转化成P(V)键联。在一些实施例中,P(V)键联包含键合到两个糖的磷原子、手性助剂部分(例如,  或  或其盐形式(其中R′如本文所述;例如来自DPSE亚磷酰胺或其盐),  或  或其盐形式(其中R′和R^{AU}各自独立

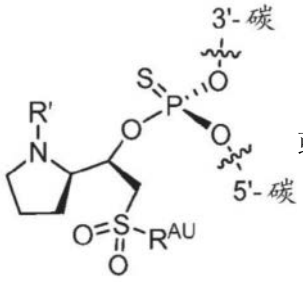
地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S或 在一些实施例中,P(V)键联包含键合到两个糖的磷原子、或或其盐形式(其中R′和R^{AU}各自独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S或 在一些实施例中,P(V)键联包含键合到两个糖的磷原子、或或其盐形式(其中R′和R^{AU}各自独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S。在一些实施例中,P(V)键联包含与两个糖键合的磷原子、或或其盐形式(其中R'和R^{AU}各自独立地如本文所述;当R^{AU}是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及 本领域技术人员将理解,可以与平衡离子(例如,在一些实施例中为PF_6^-)一起存在。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种或其盐形式(PV-1),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种



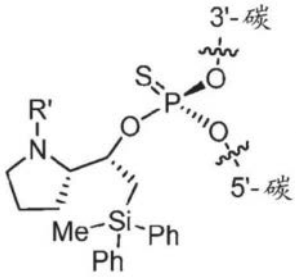
或其盐形式(PV-2),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种



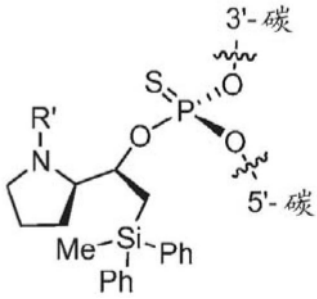
或其盐形式(PV-3),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种



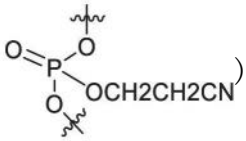
或其盐形式(PV-4),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种



或其盐形式(PV-5),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸包含一种或多种

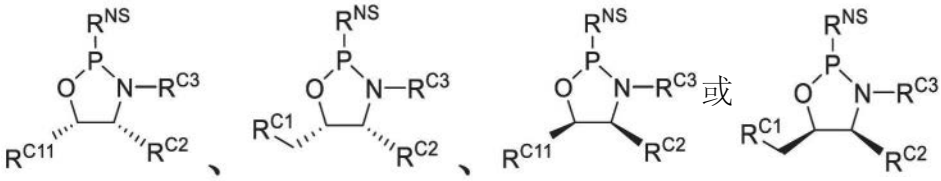


或其盐形式(PV-6),其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性控制的核苷酸间键联独立地选自PIII-1、PIII-2、PIII-5、PIII-6、PV-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5和PV-6。在一些实施例中,寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性控制的核苷酸间键联独立地选自PIII-1、PIII-2、PV-1、PV-2、PV-3和PV-4。在一些实施例中,PIII-1、PIII-2、PIII-5或PIII-6的键联通常是5′-末端核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性控制的核苷酸间键联独立地选自PV-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5和PV-6。在一些实施例中,寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性控制的核苷酸间

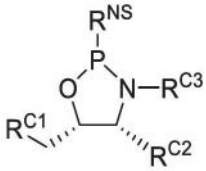
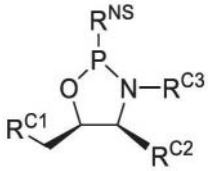
键联独立地选自PV-1、PV-2、PV-3或PV-4。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是如本文所述的(例如,表1的)寡核苷酸,其中每个*S独立地被PV-3或PV-5代替,每个*R独立地被PV-4或PV-6代替,每个n001R独立地被PV-1代替,并且每个n001S独立地被PV-2代替。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是如本文所述的(例如,表1的)寡核苷酸,其中每个*S独立地被PV-3代替,每个*R独立地被PV-4代替,每个n001R独立地被PV-1代替,并且每个n001S独立地被PV-2代替。在一些实施例中,每个天然磷酸酯键联独立地被前体(例如,)代替。在一些实施例中,R'是-H。在一些实施例中,R'是-C(O)R。在一些实施例中,R'是-C(O)CH_3。在一些实施例中,R^{AU}是-Ph。在一些实施例中,方法包括移除一个或多个手性助剂部分,从而形成硫代磷酸酯和/或不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)(例如,从V-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5、PV-6等)。在一些实施例中,除去手性助剂(例如,PSM)包括在无水条件下使寡核苷酸与碱(例如,$N(R)_3$,诸如DEA)接触。

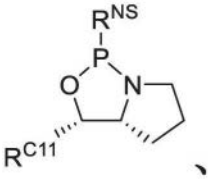
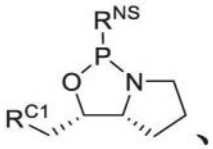
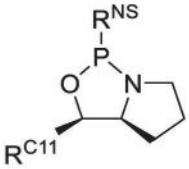
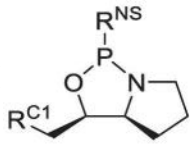
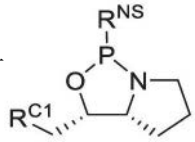
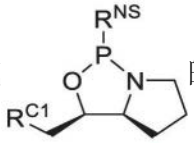
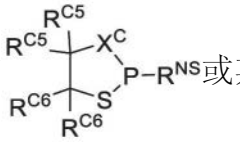
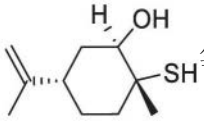
[0990] 在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,为了制备手性控制的核苷酸间键联,通常以手性富集或纯的形式(例如,具有如本文所述的纯度(例如,约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%或约100%))使用单体或亚磷酰胺(例如,DPSE或PSM亚磷酰胺)。

[0991] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物的有用试剂。在一些实施例中,单体和亚磷酰胺包含如本文所述的核苷、核碱基和糖。在一些实施例中,如本领域技术人员将理解的,核碱基和糖被适当地保护,用于寡核苷酸合成。在一些实施例中,亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OR)$N(R)_2$的结构,其中R^{NS}是任选地被保护的核苷部分。在一些实施例中,亚磷酰胺具有R^{NS}-P$(OCH_2CH_2CN)N(i\text{-}Pr)_2$的结构。在一些实施例中,单体包含是或包含环BA或环BA的互变异构体的核碱基,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,亚磷酰胺包含是或包含环BA或环BA的互变异构体的核碱基,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中磷键合到手性助剂部分的氧和氮原子。在一些实施例中,亚磷酰胺具有

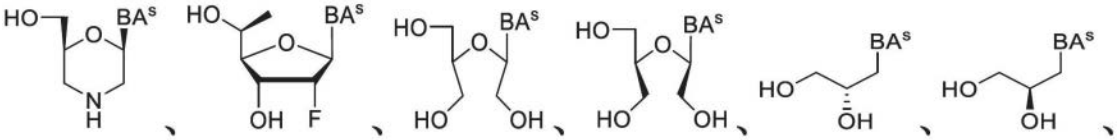


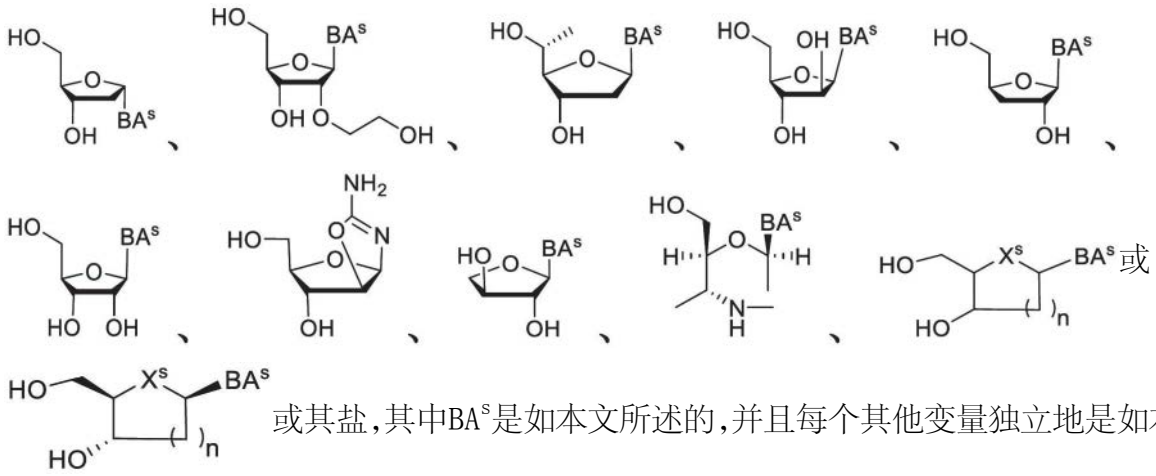
或其盐的结构,其中R^{NS}是被保护的核苷部分(例如,5'-OH和/或为了寡核苷酸合成而适当地被保护的核碱基),

并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中,亚磷酰胺具有  或  的结构,其中R^{NS}是被保护的核苷部分(例如,5′-OH和/或为了寡核苷酸合成而适当地被保护的核碱基),R^{C1}是R、-Si(R)$_3$或-SO_2R,并且R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外还具有0-2个杂原子的任选地经取代的3-7元饱和环,其中偶联形成核苷酸间键联。在一些实施例中,R^{NS}的5′-OH被保护。在一些实施例中,R^{NS}的5′-OH作为-ODMTr被保护。在一些实施例中,R^{NS}通过其3′-O-键合到磷。在一些实施例中,R^{C2}和R^{C3}形成的环是任选地经取代的5元环。在一些实施例中,亚磷酰胺具有

、、或或其盐的结构。在一些实施例中,亚磷酰胺具有或的结构。在一些实施例中,如本文所述,R^{NS}包含经修饰的核碱基(例如,b001A、b002A、b003A、b008U、b001C等),其任选地被保护用于寡核苷酸合成。在一些实施例中,单体具有或其盐的结构,其中R^{NS}是如本文所述的任选地经取代的/被保护的核苷(例如,任选地被保护用于寡核苷酸合成),并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中,-X^C-C(R^{C5})$_2$-C(R^{C6})$_2$-S-具有一种结构,使得H-X^C-C(R^{C5})$_2$-C(R^{C6})$_2$-SH是如本文所述的化合物,例如HOCH(CH_3)CH(CH_3)SH、HSCH(CH_3)CH(CH_3)SH、等。在一些实施例中,R^{NS}的5′-OH被保护。在一些实施例中,R^{NS}的5′-OH作为-ODMTr被保护。

在一些实施例中,R^{NS}是选自以下的任选地经取代的或被保护的核苷:





基(例如,选自表BA-1)或其互变异构体和如本文所述的糖。

[0992] 在一些实施例中,单体或亚磷酰胺的纯度或立体化学纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中,其为至少85%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。

[0993] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的游离-OH(例如,游离5′-OH)与如本文所述的单体偶联。在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的游离-OH(例如,游离5′-OH)与如本文所述的亚磷酰胺偶联。

[0994] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其中寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联,其各自独立地具有-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-的结构,其中:

P^L是P或P(=W);

W是O、S或W^N;

W^N是=N-C(-$N(R^1)_2$)=$N^+(R^1)_2Q^-$;

Q^-是阴离子;

R^{CA}是或包含任选地封端的手性助剂部分,

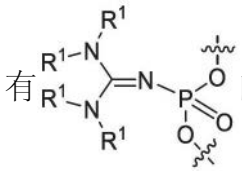
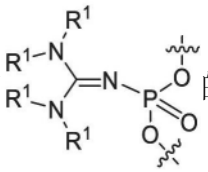
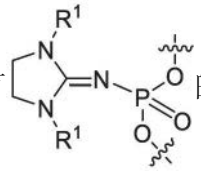
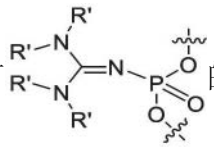
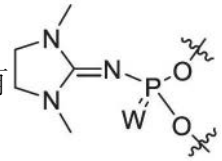
O^5是键合到糖的5'-碳的氧,并且

O^3是键合到糖的3'-碳的氧。

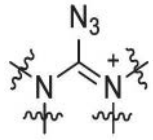
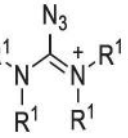
[0995] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联任选地是手性控制的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联任选地是手性控制的。

[0996] 在一些实施例中,提供了包括从这样的经修饰的核苷酸间键联移除R^{CA}的方法。在一些实施例中,在移除后,与R^{CA}的键合被-OH代替。在一些实施例中,在移除后,与R^{CA}的键合被=O代替,并且与W^N的键合被-N=C($N(R^1)_2$)$_2$代替。

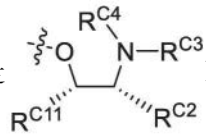
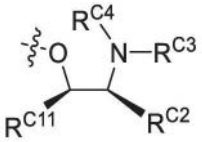
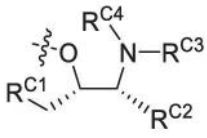
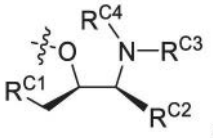
[0997] 在一些实施例中,P^L是P=S,并且当移除RCA时,这样的核苷酸间键联被转化成硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0998] 在一些实施例中,P^L是P=W^N,并且当移除RCA时,这样的核苷酸间键联被转化成具有的结构的核苷酸间键联。在一些实施例中,具有的结构的核苷酸间键联具有的结构。在一些实施例中,具有的结构的核苷酸间键联具有的结构。

[0999] 在一些实施例中,P^L是P(例如,在来自亚磷酰胺与5′-OH偶联的新形成的核苷酸间键联中)。在一些实施例中,W是O或S。在一些实施例中,W是S(例如,在硫化之后)。在一些实

施例中,W是O(例如,在氧化后)。在一些实施例中,某些不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联可通过使P(III)亚磷酸三酯核苷酸间键联与叠氮基咪唑啉盐(例如,包含的化合物)在合适的条件下反应而制备。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉盐是PF_6^-的盐。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉盐是的盐。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉盐是2-叠氮基-1,3-二甲基咪唑啉六氟磷酸盐。

[1000] 如本领域技术人员所理解的,Q^-可以是存在于系统中(例如,在寡核苷酸合成中)的多种合适的阴离子,并且可以在寡核苷酸制备过程期间根据循环、过程阶段、试剂、溶剂等而变化。在某些实施例中,Q^-是PF_6^-。

[1001] 在一些实施例中,R^{CA}是或,其中R^{C4}是-H或-C(O)R′,并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R^{CA}是或,其中R^{C1}是R、-Si(R)$_3$或-SO_2R,R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和环,该环除了氮原子外还具有0-2个杂原子,R^{C4}是-H或-C(O)R′。在一些实施例中,R^{C4}是-H。在一些实施例中,R^{C4}是-C(O)CH_3。在一些实施例中,R^{C2}和R^{C3}合在一起形成任选地经取代的5元环。

[1002] 在一些实施例中,R^{C4}是-H(例如,在来自亚磷酰胺与5′-OH偶联的新形成的核苷酸间键联中)。在一些实施例中,R^{C4}是-C(O)R(例如,在胺的封端之后)。在一些实施例中,R是甲基。

[1003] 在一些实施例中,每个手性控制的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地从-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-转化。

对所提供技的术的评估/表征

[1004] 如本领域的技术人员所理解的,可利用多种技术来评估/表征根据本披露所提供的技术。在实例中描述了某些有用的技术。如所展示的,尤其是,本披露描述了适于评估和表征所提供的技术的多种体内和体外技术。在一些实施例中,例如在具有或不具有外源性ADAR多肽的情况下在细胞中评估/表征所提供的技术;另外地或替代性地,在一些实施例中,例如在动物(例如,非人灵长类动物和小鼠)中评估/表征所提供的技术。

[1005] 尤其是,本披露涵盖这样的见解:可在多种人类系统(例如,细胞)中提供编辑的多种药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物可能在不含或不表达人ADAR(例如,人ADAR1)的某些细

胞(例如,小鼠细胞)和某些动物诸如啮齿类动物(例如,小鼠)中不会显示出编辑或显示出低得多的编辑水平。特别地,小鼠(一种常用的动物模型)对于评估用于在人类中编辑的多种药剂(例如,寡核苷酸)可能具有有限的用途,因为在人类细胞中有活性的多种药剂在未经工程化以包含或表达适当的ADAR1(例如,人ADAR1)多肽或其特征性部分的小鼠细胞和动物中不提供或提供非常低水平的活性。在一些实施例中,本披露提供了表达人ADAR1多肽或其特征性部分的工程化细胞和非人动物。在一些实施例中,这样的细胞和人类可用于评估和表征所提供的技术。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p110多肽或其特征性部分。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150多肽或其特征性部分。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p110肽。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150肽。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1的一个或多个或所有以下结构域:Z-DNA结合结构域、dsRNA结合结构域和脱氨酶结构域。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 Z-DNA结合结构域中的一者或两者;替代性地或另外地,在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 dsRNA结合结构域中的一者、两者或全部;替代性地或另外地,人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人脱氨酶结构域。在一些实施例中,人ADAR1多肽或其特征性部分可与小鼠ADAR1多肽或其特征性部分一起表达,例如一个或多个人dsRNA结合结构域可经工程化以与小鼠脱氨酶结构域一起表达以形成人-小鼠杂合ADAR1多肽。在一些实施例中,细胞和/或非人动物被工程化以包含和/或表达编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和/或非人动物的基因组被工程化以包含编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和/或非人动物的种系基因组被工程化以包含编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和非人动物被工程化以在其基因组(在一些实施例中,种系基因组)中包含各自独立地与病症、障碍或疾病相关的一个或多个G至A突变(例如,突变(例如,SERPINA1基因中导致A1AT蛋白的氨基酸位置342(E342K)处的谷氨酸至赖氨酸取代的突变(例如,c.1024G>A)。如本文所展示的,尤其是,这样的细胞和动物可用于评估/表征所提供的技术,例如评估/表征多种寡核苷酸及其组合物的编辑特性和/或活性,包括评估其对抗一种或多种病症、障碍或疾病的用途。在一些实施例中,细胞是啮齿类动物细胞。在一些实施例中,细胞是小鼠细胞。在一些实施例中,动物是啮齿类动物。在一些实施例中,动物是小鼠。

[1006] 本披露尤其提供了包含糖修饰、碱基修饰、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学和/或其模式的寡核苷酸设计,与具有类似或相同的碱基序列,但具有参考设计的可比寡核苷酸相比,这些寡核苷酸设计可以极大地改善寡核苷酸的一种或多种特性和/或活性。例如,据观察,具有多种所提供的设计的寡核苷酸及其组合物可以在不表达人ADAR蛋白的小鼠(例如,仅表达小鼠ADAR蛋白的小鼠)中提供高水平的编辑(在一些实施例中相当于或不低于被工程化以表达人ADAR蛋白的小鼠中的水平),而具有参考设计的可比较寡核苷酸及其组合物在不表达人ADAR蛋白的小鼠(例如,仅表达小鼠ADAR蛋白的小鼠)中提供低水平的编辑(在一些实施例中显著低于被工程化以表达人ADAR蛋白的小鼠中的水平)。在一些实施

例中,参考设计是WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301 A1、WO 2019/158475、WO 2019/219581、WO 2020/157008、WO 2020/165077、WO 2020/201406或WO 2020/252376中报道的设计。在一些实施例中,参考设计是WO 202I/071858中的设计。在一些实施例中,参考设计是WO 2022/099159中的设计。

[1007] 在一些实施例中,本披露提供了用于评估/表征细胞和/或非人动物的技术,包括被工程化以包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的那些细胞和/或非人动物,该ADAR1多肽或其特征性部分和/或多核苷酸在工程化之前不在这些细胞和/或非人动物中和/或不在这些细胞和/或非人动物中表达。在一些实施例中,所提供的方法包括向细胞或其群体施用一种或多种寡核苷酸或组合物,该一种或多种寡核苷酸或组合物可以各自独立地编辑可比较的人类细胞或其群体中的腺苷。在一些实施例中,所提供的方法包括向动物或其群体施用一种或多种寡核苷酸或组合物,该一种或多种寡核苷酸或组合物可以各自独立地编辑人类细胞或其群体中的腺苷。在一些实施例中,将待评估/表征的细胞中或来自动物的细胞中的编辑水平与在可比较的人类细胞中观察到的编辑水平进行比较。在一些实施例中,可比较的人类细胞与待评估/表征的细胞或来自动物的细胞具有相同的类型。在一些实施例中,细胞是啮齿类动物细胞。在一些实施例中,细胞是小鼠细胞。在一些实施例中,动物是啮齿类动物。在一些实施例中,动物是小鼠。在一些实施例中,将一种或多种寡核苷酸或组合物单独施用于单独的细胞和/或动物。在一些实施例中,一种或多种寡核苷酸或组合物可以任选地同时施用于细胞和/或动物的同一集合。可编辑多种靶腺苷的多种寡核苷酸和组合物如本文所述并可相应地使用。

[1008] 如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,所提供的技术,例如寡核苷酸、组合物等可以在一种或多种模型中评估,例如细胞、组织、器官、动物等。在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,细胞、组织、器官、动物等是或包含病症、障碍或疾病的细胞,与病症、障碍或疾病相关联的细胞,或具有病症、障碍或疾病的一种或多种特征(例如,核苷酸序列,诸如突变)的细胞。例如,在一些实施例中,细胞、组织、器官、动物等包含与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变,例如人SERPINA1中的1024G>A(E342K)。在一些实施例中,动物是NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1*E342K)#Slcw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1 Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植物和基因组编辑的肝细胞治疗α-1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优点]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;FlotteTR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015)。Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors.[用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝]Mol Ther[分子疗法]23(12):1867-76PubMed:26403887MGI:J:230567)。在一些实施例中,细胞、组织、器官、动物等包含一种或多种癌细胞。在一些实施例中,非人细胞、组织、器官、动物等被工程化以包含或表达ADAR1或其特征性部分,例如通过掺入(任选地掺入其基因组或种系基因组中)其序列编码ADAR1多肽或其

特征性部分的多核苷酸进行。在一些实施例中,ADAR1是灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,ADAR1是人ADAR1。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p110。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1p150。如本领域技术人员所理解的,各种技术是本领域可用的,并且可以根据本披露用于生成有用的细胞、组织、器官、动物等。例如,对于表达人ADAR1或其特征性部分的病症、障碍或疾病动物模型,可以将动物模型与本文所述的huADAR1小鼠杂交以提供表达人ADAR1或其特征性部分的工程化动物模型。在一些实施例中,将包含G至A突变的小鼠,例如NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1 Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植物和基因组编辑的肝细胞治疗α-1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优点]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015)与本文所述的huADAR1小鼠杂交,以提供包含G至A突变(例如,人SERPINA1中的024G＞A(E342K))并表达人ADAR1或其特征性部分的小鼠。某些有用的技术,包括有用的转基因小鼠描述于WO 202I/071858、WO 2022/046667或WO 2022/099159中,其各自的全部内容独立地通过援引并入。

[1009] 如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,动物在一个或多个或所有序列方面可以是杂合的。在一些实施例中,动物在一个或多个或所有序列方面是纯合的。在一些实施例中,动物在一个或多个或所有工程化的序列方面是半合的。在一些实施例中,动物在一个或多个序列方面是纯合的,并且在一个或多个序列方面是杂合的。在一些实施例中,动物就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,动物就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是杂合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是纯合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是杂合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是纯合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。细胞或组织就各个序列方面而言是类似的杂合、半合和/或纯合的。

[1010] 在一些实施例中,本披露提供了用于评估药剂(例如寡核苷酸)或其组合物的方法,这些方法包括向动物、细胞或组织施用本文所述的药剂或组合物。在一些实施例中,评估药剂或组合物用于预防或治疗病症、障碍或疾病。在一些实施例中,动物、细胞、组织,例如,如本文各种实施例中所述,是动物模型或细胞或组织,用于各种病症、障碍或疾病(例如,包含与各种病症、障碍或疾病相关的突变,和/或与各种病症、障碍或疾病相关的细胞、组织、器官等或各种病症、障碍或疾病的细胞、组织、器官等),它们被工程化以包含和/或表

达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,可以通过将(例如,IVF、自然繁育等)作为各种病症、障碍或疾病的模型动物但未被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物与经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物交配繁育来提供动物。在一些实施例中,可以通过将其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸引入细胞或组织中来提供细胞或组织。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向受试者施用有效量的药剂或其组合物,其中在本文提供的动物中评估药剂或组合物(例如,经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分的动物,经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物,针对病症、障碍或疾病的经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分的模型动物,针对病症、障碍或疾病的经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的模型动物)。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向受试者施用有效量的药剂或其组合物,其中在本文提供的细胞或组织中评估药剂或组合物。在一些实施例中,动物、细胞或组织包含SERPINA1突变(例如,1024G>A(E342K))并且被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,动物是非人动物。在一些实施例中,细胞是非人动物细胞。在一些实施例中,组织是非人动物组织。在一些实施例中,非人动物是啮齿类动物。在一些实施例中,非人动物是小鼠。在一些实施例中,非人动物是大鼠。在一些实施例中,非人动物是非人灵长类动物。

[1011] 在一些实施例中,本披露提供的方法包括:1)评估药剂或其组合物,包括使该药剂或其组合物与所提供的与病症、障碍或疾病相关的细胞或组织或与病症、障碍或疾病的细胞或组织接触,和2)向患有或易患病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的药剂或其组合物。在一些实施例中,本披露提供的方法包括:1)评估药剂或其组合物,包括将该药剂或其组合物施用于所提供的动物,该动物是病症、障碍或疾病的动物模型,和2)向患有或易患病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的药剂或其组合物。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,细胞、组织或动物经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物还包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如,突变)。在一些实施例中,动物是啮齿类动物,例如小鼠、大鼠等。在一些实施例中,细胞或组织是啮齿类动物,例如小鼠、大鼠等。在一些实施例中,细胞是种系细胞。在一些实施例中,细胞群、组织或动物的一部分而不是所有细胞,例如特定细胞类型或组织或位置的细胞,包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如突变),并且这部分的细胞经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分或经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,肝细胞的集合包含SERPINA1突变,例如1024G>A(E342K)和其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。本领域的技术人员理解,各种技术可用于在各种细胞、组织或器官中任选地受控引入和/或表达核苷酸序列,并且可根据本披露内容加以利用。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物在基因组中,在一些实施例中在种系基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物在基因组中,在一些实施例中在种系基因组中包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如,突变)。

[1012] 如本文所述,在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1p110或其特征性部分。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p110。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p150或其特征性部分。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p150。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p110多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p110多肽的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽的多核苷酸。如本文所述,在一些实施例中,动物是啮齿类动物,例如小鼠或大鼠。

[1013] 在一些实施例中,ADAR(例如,人ADAR1)转基因建立在受精卵上,例如,包含突变(例如,人SERPINA1中的1024G>A(E342K))的SERPINA1小鼠受精卵,反之亦然。在一些实施例中,受精卵是纯合的。在一些实施例中,受精卵是杂合的。

用途和应用

[1014] 如本领域技术人员所理解的,寡核苷酸可用于多种目的。在一些实施例中,所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)可用于调节多种核酸(例如,RNA)和/或由其编码的产物(例如,蛋白)的水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可以降低不期望的靶核酸(例如,包含不期望的腺苷)和/或其产物的水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可以增加所需的靶核酸(例如,在一个或多个位置处包含I而不是不期望的腺苷)和/或其产物的水平和/或活性。

[1015] 例如,在一些实施例中,所提供的技术可以用作用于靶RNA序列中靶腺苷的定点编辑的单链寡核苷酸。在一些实施例中,所提供的技术能够调节表达和活性的水平。尤其是,本披露通过所提供的技术提供了改善,该改善可以是改善多种所需的生物功能,包括但不限于治疗和/或预防多种病症、障碍或疾病(例如,与G至A突变相关联的那些)。

[1016] 在一些实施例中,所提供的技术可以调节靶基因的活性和/或功能。在一些实施例中,靶基因是意图改变一种或多种基因产物(例如,RNA和/或蛋白产物)的表达和/或活性的基因。在许多实施例中,靶基因具有待改变的靶腺苷残基,并且可以受益于这样的残基向肌苷残基的转化。在一些实施例中,当如本文所述的寡核苷酸作用于特定靶基因时,与不存在寡核苷酸时相比,当存在寡核苷酸时,该基因的一种或多种基因产物的水平和/或活性可以改变。

[1017] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物可用于通过以下方式来治疗多种病症、障碍或疾病:降低与病症、障碍或疾病相关联的靶转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性,并且任选地提供与病症、障碍或疾病较少相关或不相关的转录物和/或由其编码的产物(例如,通过将靶腺苷转化成肌苷以校正G至A突变、改变剪接等)。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的所提供的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的单链寡核苷酸或其组合物,以用于对靶RNA序列中的核苷

酸(例如,靶腺苷)进行定点编辑。在一些实施例中,所提供的用于定点编辑靶RNA序列中的核苷酸的单链寡核苷酸具有与转录物的一部分部分地或完全地互补的碱基序列,该转录物与病症、障碍或疾病相关联。在一些实施例中,碱基序列使得其优先结合与病症、障碍或疾病相关联的转录物,而不是与所述病症、障碍或疾病不相关的其他转录物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与G至A突变相关联。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与SERPINA1中的G至A突变相关联。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变相关联。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝脏、肺、皮肤病学等的病症、障碍或疾病,例如与人SERPINA1中的1024G>A(E342K)相关联。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝脏病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝炎。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是纤维化。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝硬化。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是hcc。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝衰竭。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肺病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肺气肿。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是哮喘。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是支气管炎。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肺炎。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是支气管扩张。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是皮肤病学病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是脂膜炎。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是ANCA血管炎。在一些实施例中,所提供的技术以绝对量(例如,血清中的ng/mL)和/或相对量(例如,占总蛋白或总A1AT蛋白的百分比)增加所需产物(例如,血清中正确折叠的野生型A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性和/或降低不期望的产物(例如,血清中突变型(例如,E342K)A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性。在一些实施例中,本披露提供了一种用于增加受试者血清或血液中α-1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,与参考A1AT多肽相比,A1AT多肽提供一种或多种更高的活性。在一些实施例中,A1AT多肽是野生型A1AT多肽。在一些实施例中,方法增加血清中A1AT多肽的量。在一些实施例中,方法降低血清中参考A1AT多肽的量。在一些实施例中,方法增加血清或血液中A1AT多肽相对于参考A1AT多肽的比率。在一些实施例中,参考A1AT多肽发生突变。在一些实施例中,参考A1AT多肽不是正确折叠的。在一些实施例中,参考A1AT多肽是E342K A1AT多肽。在一些实施例中,本披露提供了一种用于降低受试者血清或血液中突变型α-1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者易患或患有病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者包含人SERPINA1中的突变。在一些实施例中,受试者包含人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。在一些实施例中,受试者相对于突变为纯合的。在一些实施例中,受试者相对于突变为杂合的。

[1018] 在一些实施例中,病症、障碍或疾病与G至A突变不相关。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性增加相关联,并且所提供的技术可以例如通过将一个或多个A至I引入转录物来降低转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性降低相关联,并且所提供的技术可以例如通过将一个或多个A至I引入转录物来增加

转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与剪接相关联,并且所提供的技术通过将一个或多个A至I引入转录物(例如,前mRNA)来提供剪接调节。

[1019] 在一些实施例中,所提供的方法中的寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,治疗病症、障碍或疾病的方法可以包括施用包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物,该碱基序列与靶转录物中的靶序列互补。尤其是,本披露提供了一种改善措施,其包括将如本披露所述的手性控制的寡核苷酸组合物作为寡核苷酸组合物施用,其特征在于,当其在系统中与靶转录物接触时,转录物的腺苷编辑相对于在参考条件下观察到的腺苷编辑得到改善,该参考条件选自由以下组成的组:不存在该组合物、存在参考组合物及其任何组合。在一些实施例中,参考组合物是相同序列或构成的寡核苷酸的外消旋制备物。在一些实施例中,靶转录物是寡核苷酸转录物。

[1020] 如本领域技术人员所理解的,尤其是,所提供的技术可以用于涉及腺苷至肌苷转化和/或可以受益于腺苷至肌苷转化的多种应用。下面描述某些应用。

应用	应用	治疗方式		
		寡核苷酸介导的剪接	寡核苷酸/siRNA 介导的沉默	RNA 编辑
改变 mRNA 剪接	外显子跳跃/包含/恢复框架	✓		✓
沉默蛋白表达	降低毒性 mRNA/蛋白水平		✓	✓
修复无义突变(例如,不能进行剪接校正的突变)	恢复蛋白表达			✓
修复错义突变(例如,不能进行剪接校正的突变)	恢复蛋白功能			✓
修饰氨基酸密码子	改变蛋白水平/功能			✓
移除上游 ORF	增加蛋白表达			✓

[1021] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解,多种G至A突变,例如来自C至T突变(一种发生在人基因中的最常见的突变类型)的转录物中的那些突变,可以被校正并因此受益于所提供的技术。在一些实施例中,所提供的技术可以用于靶向与多种极性或带电荷的氨

基酸(例如,Ser、Tyr、Asp、Glu、His、Asn、Gln、Lys等)、终止密码子(乳白型、赭石型和琥珀型)、转录起始位点、剪接信号、微RNA识别位点、重复元件、微RNA(miRNA)、编码蛋白的转录物等相关联的突变。尤其是,所提供的技术可以引起不同的功能结果,例如改变的剪接、恢复/改善的蛋白表达和/或功能等。

[1022] 在一些实施例中,本披露的技术提供了核酸(如mRNA)中的编辑(诸如A至I编辑),并且可以改变由其编码的多肽中氨基酸残基的特性、结构、功能等,例如大小、极性、电荷等,并且可以调节多肽的特性、结构、功能、活性水平等。例如,在一些实施例中,编辑降低了侧链的极性。在一些实施例中,编辑移除带电荷的侧链。在一些实施例中,编辑移除酸性侧链(例如,从Glu至Gly)。在一些实施例中,编辑移除碱性侧链(例如,从Arg至Gly)。在一些实施例中,编辑移除非极性侧链。在一些实施例中,编辑移除具有芳族基团的侧链。在一些实施例中,编辑降低侧链的大小。在一些实施例中,编辑增加侧链的极性。在一些实施例中,编辑增加带电荷的侧链。在一些实施例中,编辑引入酸性侧链。在一些实施例中,编辑引入碱性侧链。在一些实施例中,编辑引入非极性侧链。在一些实施例中,编辑引入具有芳族基团的侧链。在一些实施例中,编辑增加侧链的大小。本领域技术人员理解,通过调节氨基酸残基的特性,可以独立地调节多肽的各种特性、功能、结构等,例如稳定性、定位、加工、折叠、相互作用、修饰等,包括独立地增强、减少和/或维持在各种特性、功能、结构等的可比较水平,并且在一些实施例中,可以引入新的特性、功能、结构等。

[1023] 在一些实施例中,通过编辑,所提供的技术可以恢复蛋白功能(例如,修复不能进行剪接校正的无义和错义突变,移除终止突变,防止蛋白错误折叠和聚集等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如隐性或显性的遗传性疾病),修饰蛋白功能(例如,改变蛋白加工(例如,蛋白酶切割位点),蛋白-蛋白相互作用,调节信号传导途径等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如与离子通道渗透性相关的那些),蛋白上调(例如,miRNA靶位点修饰,修饰上游ORF,修饰泛素化位点等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如单倍体不足疾病))。在一些实施例中,所提供的技术恢复或改善蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗隐性或显性遗传定义的病症、障碍或疾病,例如与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝脏病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是代谢性肝脏病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是神经发育病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术修改蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术降低蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术增加蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术调节离子通道渗透性。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗与离子通道渗透性相关联的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是家族性癫痫。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是神经性疼痛。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是AATD。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是神经系统病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是雷特综合征。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是隐性或显性遗传定义的疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是心血管病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是心血管代谢病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是癌症。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是免疫性病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技

术修饰核酸(例如,miRNA)靶位点。在一些实施例中,所提供的技术修饰上游ORF、降低上游ORF的功能或活性、移除或抑制上游ORF(例如,在一些实施例中,修饰A(例如,uORF的ATG起始密码子的A))。在一些实施例中,所提供的技术修饰蛋白质的修饰位点,例如泛素化位点。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗与单倍体不足相关联的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗神经元病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗神经肌肉病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗痴呆。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗痴呆。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗单倍体不足病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或其组合物。本领域技术人员理解,通过例如编辑RNA中的核碱基诸如A,可以编辑由其编码的蛋白质。在一些实施例中,用另一个氨基酸残基代替氨基酸残基。在一些实施例中,蛋白质是延长的。在一些实施例中,蛋白质是缩短的。在一些实施例中,调节表达、水平、功能、稳定性、特性和/或活性。在一些实施例中,一些特性和/或活性被增强,而其他特性和/或活性被降低或维持相同。在一些实施例中,一些特性和/或活性被降低,而其他特性和/或活性被增强或维持相同。

[1024] 在一些实施例中,所提供的技术编辑包含突变的核酸或密码子。在一些实施例中,突变是无义突变。在一些实施例中,突变是错义突变。在一些实施例中,突变是沉默突变。在一些实施例中,所提供的技术修复无义突变。在一些实施例中,所提供的技术修复错义突变。在一些实施例中,所提供的技术移除终止突变。在一些实施例中,所提供的技术防止或减少错误折叠和/或聚集。在一些实施例中,所提供的技术编辑包含突变的密码子。在一些实施例中,经编辑的核碱基是突变。在一些实施例中,经编辑的核碱基不是突变而是密码子中的另一个核碱基。在一些实施例中,在编辑之后,密码子变成其相应的野生型密码子。在一些实施例中,在编辑之后,密码子编码与野生型密码子相同的氨基酸。在一些实施例中,在编辑之后,密码子编码与野生型密码子不同的氨基酸。在一些实施例中,包含这样的不同氨基酸残基的蛋白质共享其相应野生型蛋白的一种或多种特性和/或执行一种或多种功能。在一些实施例中,包含这样的不同氨基酸残基的蛋白质与野生型蛋白质共享更多相似性,和/或与相应的突变的未编辑的蛋白质相比提供更高水平的所需活性。在一些实施例中,无义或错义突变不能进行剪接校正。在一些实施例中,所提供的技术产生沉默突变。在一些实施例中,沉默突变调节编码的蛋白质的水平。在一些实施例中,蛋白质水平增加。在一些实施例中,蛋白质水平降低。

[1025] 在一些实施例中,所提供的技术修饰蛋白质功能。在一些实施例中,所提供的技术改变核酸(例如转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,所提供的技术增加、促进或增强核酸(例如转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,所提供的技术提供了例如核酸(例如转录物)和/或蛋白质的一种或多种新的特性和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术降低、抑制或去除核酸(例如转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,所提供的技术改变蛋白质加工。例如,在一些实施例中,编辑蛋白酶切割位点。在一些实施例中,所提供的技术编辑参与蛋白质-蛋白质相互作用的一个或多个残基。在一些实施例中,所提供的技术编辑蛋白质-

蛋白质相互作用结构域处的氨基酸残基。在一些实施例中,通过编辑编码蛋白质的mRNA,可以编辑多肽多个区域(例如蛋白酶切割位点、多个结构域(例如蛋白质-蛋白质相互作用结构域)、修饰位点、miRNA靶向位点、泛素化位点等)的残基。在一些实施例中,所提供的技术调节信号传导通路。

[1026] 在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强功能性蛋白的水平。在一些实施例中,所提供的技术降低突变型或不期望的核酸(例如,RNA转录物)和蛋白质的水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术恢复或校正一种或多种多肽的表达。在一些实施例中,所提供的技术可以上调表达。在一些实施例中,所提供的技术可以上调翻译。在一些实施例中,所提供的技术可以上调多肽的活性水平。在一些实施例中,所提供的技术修饰靶核酸(例如,RNA转录物)和/或由其编码的产物(例如,多肽)的功能。在一些实施例中,所提供的技术调节靶核酸(例如,RNA转录物)和/或由其编码的产物(例如,多肽)的翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术可以上调多肽的水平。在一些实施例中,所提供的技术编辑编码参与蛋白质-蛋白质相互作用或蛋白质与其他药剂相互作用的氨基酸残基的密码子,包括在一些实施例中,将氨基酸残基改变为不同的氨基酸残基以增强或减少相互作用。在一些实施例中,所提供的技术修饰核酸和/或蛋白质的一种或多种功能。在一些实施例中,所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用。在一些实施例中,所提供的技术编辑编码转录物以移除、改变或掺入氨基酸残基用于翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术调节翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术调节核酸折叠。在一些实施例中,所提供的技术调节蛋白质折叠。在一些实施例中,所提供的技术调节转录物和/或其产物的稳定性。在一些实施例中,所提供的技术调节蛋白质稳定性。在一些实施例中,所提供的技术调节转录物和/或其产物的加工。在一些实施例中,所提供的技术调节核酸(例如,转录物)加工。在一些实施例中,所提供的技术改变蛋白质加工。在一些实施例中,所提供的技术调节翻译后过程。例如,在一些实施例中,所提供的技术调节PCSK9翻译后过程。在一些实施例中,所提供的技术调节药剂(例如,RNA、多肽等)的定位。在一些实施例中,所提供的技术调节多肽定位。在一些实施例中,所提供的技术调节多肽向细胞核的易位。尤其是,所提供的技术适用于大患者群体的广泛范围的治疗应用。

[1027] 阅读本披露的本领域技术人员理解,通过编辑多肽中的氨基酸残基(例如,通过编辑相应的编码RNA核酸),可以调节多肽与各种药剂(例如,多肽、核酸、脂质、碳水化合物、小分子等)的相互作用。在一些实施例中,编辑可以增强相互作用。在一些实施例中,编辑可以减少相互作用。在一些实施例中,对于多肽,可以独立地调节相互作用,例如,可以增强相互作用,可以减少相互作用,和/或可以将相互作用维持在相当的水平。

[1028] 例如,如本文所展示的,在一些实施例中,可以通过编辑编码mRNA来改变一种或多种蛋白质的一个或多个氨基酸残基,以调节蛋白质-蛋白质相互作用。用于编辑的合适的氨基酸残基包括涉及蛋白质-蛋白质相互作用的各种报道的氨基酸残基,或者可以通过本领域可用的技术(例如,突变技术、结构生物学技术等)来鉴定。在一些实施例中,本披露提供了用于通过编辑核酸(例如,转录物)和/或与其相互作用的蛋白质来调节核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的水平、特性和/或活性的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于调节蛋白质(例如,转录因子)的水平和/或活性和/或由其调节的转录和/或表达的技术。在一些实施例中,所提供的技术包括编辑蛋白质(例如,转录因子)或与其相互作用的伙伴蛋白

(partner protein)的氨基酸残基,其中蛋白质与伙伴蛋白之间的相互作用减少或增强。在一些实施例中,所提供的技术包括编辑蛋白质(例如,转录因子)或与其相互作用的伙伴蛋白的氨基酸残基,其中蛋白质与伙伴蛋白之间的相互作用减少。在一些实施例中,这样的编辑使蛋白质稳定,使得其水平和/或活性(例如,某些核酸的转录激活)增加。在一些实施例中,本披露提供了用于调节(例如,激活、增加、减少、抑制等)核酸的表达的技术,包括编辑转录物中的腺苷,该转录物编码调节核酸表达的蛋白质,或与调节核酸表达的蛋白质相互作用的蛋白质,或作为包含调节核酸表达的蛋白质的途径的成员的蛋白质,其中编辑调控调节核酸表达的蛋白质的水平和/或活性。在一些实施例中,调节核酸的转录物水平和/或活性。在一些实施例中,调节由这样的转录物编码的蛋白质的水平和/或活性。尤其是,本披露证实涉及蛋白质-蛋白质相互作用的许多功能、活性、途径等可以通过编辑一种或多种相互作用蛋白的相互作用氨基酸残基来调节。例如,编辑NRF2(例如,Glu82(例如,至Gly)、Glu79(例如,至Gly)、Glu78(例如,至Gly)、Asp76(例如,至Gly)、Ile28(至Val)、Asp27(例如,至Gly)、Gln26(例如,至Arg)等)或Keap1(例如,Ser603(例如,至Gly)、Tyr572(例如,至Cys)、Tyr525(例如,至Cys)、Ser508(例如,至Gly)、His436(例如,至Arg)、Asn382(例如,至Asp)、Arg380(例如,至Gly)、Tyr334(例如,至Cys)等)中的一个或多个氨基酸残基可以增加NRF2的水平和/或活性,和/或由NRF2调节的各种核酸(例如,各种基因)的表达。在一些实施例中,本披露提供了一种用于调节(例如,减少)系统中的NRF2-Keap1相互作用的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中该寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由该mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,本披露提供了一种用于增加系统中NRF2的水平和/或活性的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中该寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由该mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,本披露提供了一种用于增加NRF2调节的核酸(例如,基因)的转录或表达的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中该寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由该mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,来自NRF2调节的核酸(例如,基因诸如SRGN、HMOX1、SLC7a11、NQO1等)的转录物和/或由其编码的产物(例如,蛋白质)的水平和/或活性被增加。在一些实施例中,包含NRF2和Keap1 mRNA以及NRF2和Keap1蛋白的系统由这样的mRNA翻译。在一些实施例中,编辑NRF2和/或Keap1 mRNA的靶腺苷,使得氨基酸残基在翻译之后被不同的氨基酸残基代替。在一些实施例中,所施用的寡核苷酸或其组合物靶向NRF2 mRNA。在一些实施例中,所施用的寡核苷酸或其组合物靶向Keap1 mRNA。在一些实施例中,编辑NRF2中的氨基酸残基(例如,Glu82(例如,至Gly)、Glu79(例如,至Gly)、Glu78(例如,至Gly)、Asp76(例如,至Gly)、Ile28(至Val)、Asp27(例如,至Gly)、Gln26(例如,至Arg)等)。在一些实施例中,编辑Keap1中的氨基酸残基(例如,Ser603(例如,至Gly)、Tyr572(例如,至Cys)、Tyr525(例如,至Cys)、Ser508(例如,至Gly)、His436(例如,至Arg)、Asn382(例如,至Asp)、Arg380(例如,至Gly)、Tyr334(例如,至Cys)等)。在一些实施例中,编辑两个或更多个氨基酸残基。在一些实施例中,每个经编辑的氨基酸残基独立地是NRF2残基。在一些实施例中,每个经编辑的氨基酸残基独立地是Keap1残基。在一些实施例中,经编辑的氨基酸残基是Keap1残基,并且经编辑的氨基酸残基是NRF2残基。在一些实施例中,系统是或包含细胞。在一些实施例中,系统是或包含组织。在一

些实施例中,系统是或包含器官。在一些实施例中,系统是生物。在一些实施例中,系统是体外系统。某些靶向NRF2和靶向Keap1的寡核苷酸和/或寡核苷酸组合物作为实例呈现在一个或多个表中。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与NRF2相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与Keap1相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与NRF2-Keap1相互作用相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,Nrf2多肽的水平增加。在一些实施例中,与KEAP1-Nrf2相互作用相关联的Nrf2降解减少。在一些实施例中,调节Nrf2调节的表达。在一些实施例中,独立地调节各种Nrf2调节的核酸(例如,基因)的表达水平。在一些实施例中,所提供的技术增加各种Nrf2激活的核酸(例如,基因)的表达。各种Nrf2调节的核酸,包括各种基因,例如NQO1、SLC17a、GSTM1、SLC7a11、HMOX1、SRGN等已经被报道,并且可以用于评估Nrf2水平和/或活性。已经证实,如本文所述的Nrf2的编辑可以提供各种下游核酸的剂量依赖性激活,这些下游核酸包括基因,诸如NQO1、SLC17a、GSTM1、SLC7a11、HMOX1、SRGN等。

[1029] 在一些实施例中,所提供的技术调节酶活性。在一些实施例中,所提供的技术例如通过将密码子编辑为编码可以增加酶活性的氨基酸残基的密码子来增加酶活性。在一些实施例中,所提供的技术例如通过将密码子编辑为编码可以降低酶活性的氨基酸残基的密码子来降低酶活性,例如与病症、障碍或疾病相关联的酶活性。各种酶活性(在许多涉及这样的活性的氨基酸残基的情况下)已被报道或可以被鉴定和表征,并且可以根据本披露对其进行调节。在一些实施例中,活性是激酶活性。

[1030] 在一些实施例中,蛋白质的编辑(例如,通过编辑其编码mRNA以改变一个或多个氨基酸残基)减少蛋白质或与其相互作用的蛋白质的降解。在一些实施例中,蛋白质的编辑上调其水平。在一些实施例中,蛋白质的编辑调节蛋白质加工。在一些实施例中,蛋白质的编辑调节其折叠。在一些实施例中,蛋白质的编辑调节其稳定性。在一些实施例中,蛋白质的编辑调节蛋白质修饰(例如,增加、减少、移除或引入修饰位点等)。在一些实施例中,蛋白质的编辑调节翻译后修饰(例如,增加、减少、移除或引入修饰位点等)。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗相关病症、障碍或疾病,诸如痴呆、家族性癫痫、神经性疼痛、神经肌肉障碍、痴呆、单倍体不足疾病、功能丧失病症、障碍或疾病等。

[1031] 如本文所述,本文所述的技术可以用于调节表达。在一些实施例中,本披露提供了用于调节核酸和/或由其编码的产物的水平的方法,这些方法包括使核酸与本文所述的寡核苷酸或寡核苷酸组合物接触。如本文所述,本文所述的各种技术可以修饰核酸中的A。在一些实施例中,A被修饰成使得如果核酸被翻译,则其被翻译为G。在一些实施例中,A被修饰成I。在一些实施例中,本披露提供了用于上调表达的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于增加核酸(例如,转录物)和/或由其编码的产物的水平的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于下调表达的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于降低核酸(例如,转录物)和/或由其编码的产物的水平的技术。在一些实施例中,核酸是RNA核酸。在一些实施例中,核酸是mRNA。在一些实施例中,核酸是编码多肽的RNA。在一些实施例中,核酸是编码蛋白质的RNA。不希望受任何特定理论的限制,申请人注意到表达调节可以通过各种潜在机制来实现;例如,在一些实施例中,在A至I修饰之后,核酸诸如RNA可以更稳定,和/或可以更有效地加工和/或翻译,使得核酸和/或由其编码的产物的表达可以上调;在一些实施例中,在A至I修饰之后,核酸诸如RNA可以更不稳定,和/或可以更不有效地加工和/或翻译,使得核

酸和/或由其编码的产物的表达可以下调。

[1032] 在一些实施例中,本文的技术调节核酸(例如,RNA诸如各种转录物)的活性。在一些实施例中,本文的技术增加核酸(例如,RNA诸如各种转录物)的活性的水平。在一些实施例中,本文的技术降低核酸(例如,RNA诸如各种转录物)的活性的水平。在一些实施例中,活性是在腺苷编辑之前未观察到的新活性。在一些实施例中,靶腺苷的编辑可以调节核酸(例如,RNA诸如各种转录物)与其他药剂(例如,核酸、多肽等)的相互作用。在一些实施例中,相互作用增强。在一些实施例中,相互作用降低。本领域技术人员理解,在一些实施例中,对于核酸,可以独立地调节相互作用。在一些实施例中,对于核酸和相互作用剂之间的相互作用,在一些情况下它可以增强,而在其他情况下它可以降低或维持在可比较的水平。在一些实施例中,相互作用在腺苷编辑之前未观察到。在一些实施例中,编辑功能基序中的腺苷。本领域技术人员理解,已经报道了多种功能基序,并且已经开发和/或可以开发多种工具来鉴定功能基序。在一些实施例中,本文的技术用于编辑各种功能基序中的腺苷,以调节包含这样的功能基序的各种核酸的特性、结构、功能、活性水平等。

[1033] 例如,在一些实施例中,本文所述的技术可以调节RNA/蛋白质相互作用。在一些实施例中,本文所述的技术可以编辑ARE(AU富含元件)基序中的腺苷。在一些实施例中,ARE基序中的腺苷编辑调节ARE基序和包含这样的基序的核酸的特性、结构、功能、活性水平等。尤其是,已经报道ARE基序调节RNA稳定性。据报道,它们在许多基因中被发现(根据一些报道,约8%的基因)和/或富集在高度调节的RNA中。据报道,各种多肽与ARE基序结合,包括HuR、AUF1、TTP、ELAV等。根据一些报道,ARE基序通常存在于3'-UTR中,但也可以在包括编码区在内的其他区域中发现。常见报道的基序是AUUUA。据报道,ARE基序是对RNA进行程序化以用于例如通过CCR4-NOT复合物降解的一种类型的基序。在一些实施例中,ARE基序中的腺苷编辑调节RNA/蛋白质相互作用。在一些实施例中,所提供的技术编辑与多肽(例如,RNA结合蛋白)相互作用的RNA基序,以调节RNA特性、结构、功能、活性水平等和/或调节基因调节。例如,在一些实施例中,所提供的技术可以调节RNA加工(例如,剪接、polyA使用、封端等)、转运(例如,细胞内定位)、稳定性(例如,抑制或增强mRNA衰变)、蛋白质产生(例如,翻译效率)等。

[1034] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供RNA上调。在一些实施例中,所提供的技术通过靶向RNA基序以调节RNA半衰期来上调RNA水平。例如,在一些实施例中,调节各种转录物(例如,LDLR、FGF21、Klotho等)的水平(例如,在一些实施例中,通过裸递送在原代人肝细胞中证实)。在一些实施例中,编辑RNA基序以调节RNA半衰期,以上调临床相关靶标的RNA表达。在一些实施例中,靶标是临床相关代谢靶标。在一些实施例中,靶标是临床相关免疫靶标。例如,在一些实施例中,上调CTLA4表达(例如,在一些实施例中,通过裸递送在原代CD4+人T细胞中证实)。

[1035] 本披露的技术可以在各种类型的细胞、组织、器官和/或生物体中提供有效的编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以在各种免疫细胞中提供有效的编辑。如本文所展示的,所提供的技术可以在人外周血单核细胞(PBMC)中提供高水平的编辑。尤其是,所提供的技术可以在各种细胞群(诸如CD4+ T细胞、CD8+ T细胞、CD14单核细胞、CD19 B细胞、NK细胞、Treg T细胞等)中提供高水平的编辑。在一些实施例中,免疫细胞在与寡核苷酸接触之前被激活(例如,通过PHA)。在一些实施例中,细胞是未激活的。在一些实施例中,在激活和

未激活细胞中观察到类似水平的编辑。在一些实施例中,在激活的细胞中观察到更高水平的编辑。在一些实施例中,在编辑之后,可以将细胞(例如,PBMC)分选成各种细胞类型。在一些实施例中,可以在与寡核苷酸接触之前首先分选细胞。如本领域技术人员所理解的,免疫细胞具有多种功能并且可以用于多种目的,包括用于治疗各种病症、障碍或疾病。在一些实施例中,免疫细胞用于免疫疗法,例如用于各种类型的癌症。尤其是,本披露提供了用于编辑在免疫细胞中表达的一种或多种转录物以改善其免疫疗法的特性和/或活性的技术。在一些实施例中,所提供的技术可以降低免疫细胞中一种或多种基因(,例如FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC、TRBC等)的表达和/或活性。在一些实施例中,编辑来自这样的基因的转录物。在一些实施例中,靶细胞是T细胞,例如CD8+ T细胞(例如,CD8+初生T细胞、中枢记忆T细胞或效应记忆T细胞)、CD4+ T细胞、自然杀伤T细胞(NK T细胞)、调节性T细胞(Treg)、干细胞记忆T细胞、淋巴样祖细胞、造血干细胞、自然杀伤细胞(NK细胞)或树突细胞。在一些实施例中,细胞是CD4+细胞,例如CD4+ T细胞。在一些实施例中,细胞是CD8+细胞,例如CD8+ T细胞。在一些实施例中,细胞是CD14+细胞,例如CD14+单核细胞。在一些实施例中,细胞是CD19+细胞,例如CD19+ B细胞。在一些实施例中,细胞是NC细胞。在一些实施例中,细胞是T调节性细胞。在一些实施例中,靶细胞是诱导性多功能干(iPS)细胞或衍生自iPS细胞的细胞,例如,由受试者生成的iPS细胞,其被操纵以改变(例如,诱导突变)一种或多种基因(例如,FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC或TRBC基因)的表达,并且分化成例如T细胞,例如,CD8+ T细胞(例如,CD8+初生T细胞、中枢记忆T细胞或效应记忆T细胞)、CD4+ T细胞、干细胞记忆T细胞、淋巴样祖细胞或造血干细胞。

[1036] 尤其是,所提供的技术可用于增加、增强、改善或上调各种多肽(包括各种蛋白质)的水平、特性、活性等。在一些实施例中,所提供的技术修饰结合位点或靶位点,例如miRNA靶位点。在一些实施例中,所提供的技术修饰转录物中的调节元件。在一些实施例中,所提供的技术修饰上游ORF(例如,ATG中的A)。在一些实施例中,所提供的技术修饰可以被修饰的氨基酸残基,例如泛素化位点。本领域技术人员理解,所提供的技术还可以用于通过修饰RNA来降低或下调各种多肽(包括各种蛋白质)的水平、特性、活性等。

[1037] 在一些实施例中,编辑位点(例如,靶腺苷)在编码区中。在一些实施例中,它在非编码区中。在一些实施例中,靶核酸是非编码RNA。

[1038] 某些应用描述于例如WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301A1、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637、WO 2020/252376、WO 2021/130313、WO 2021/231673、WO 2021/231675、WO 2021/231679、WO 2021/231680、WO 2021/231685、WO 2021/231691、WO 2021/231692、WO 2021/231698、WO 2021/231830、WO 2021/243023、WO 2022/018207或WO 2022/026928中。

[1039] 报道或可以鉴定与各种病症、障碍或疾病相关联的许多腺苷,并且可以使用所提供的技术对其进行靶向,例如用于预防或治疗相关联病症、障碍或疾病。例如,已经报道,已经在以下中鉴定到与各种病症、障碍或疾病相关联的各种腺苷:SNCA(例如,帕金森病)、APP(例如,阿尔茨海默病)、Tau(例如,阿尔茨海默病)、Nav1.7(例如,慢性疼痛)、C9orf72(例如,肌萎缩性侧索硬化症)、SOD1(例如,肌萎缩性侧索硬化症)、DYRK1A(例如,唐氏综合征)、IT15(例如,亨廷顿病(Huntington′s disease))、HEXA(例如,泰萨二氏病(Tay-Sachs

Disease))、RAI1(例如,Protocki-Lupski综合征)、ABCA4(例如,斯特格氏病)、USH2A(例如,乌谢尔综合征(Usher syndrome))、NRP1(例如,湿性AMD、干性AMD等)、PCSK9(例如,心血管病症、障碍或疾病)、LIPA(例如,胆固醇酯贮积病)、HFE(例如,血色病)、ALAS1(例如,卟啉症/急性肝性卟啉症)、ATP7B(威尔逊氏症)、COL4A5(例如,奥尔波特综合征)、LDHA(例如,原发性高草酸尿症)、HAO1(例如,2型原发性高草酸尿症)、DUX4(例如,面肩肱型营养不良)、DMPK(例如,强直性肌营养不良)、BCL11A(例如,镰状细胞病)、Mex3B(例如,哮喘)、CIDEC(例如,肥胖症)、SCD1(例如,肥胖症)、GNB3(例如,肥胖症)、FGFR3(例如,软骨发育不全)、CLCN7(例如,骨硬化病)、PMP22(例如,腓骨肌萎缩症(Charcot-Marie-Tooth disease))、ENAC(例如,囊性纤维化)、GHR(例如,肢端肥大症)、TTR(例如,转甲状腺素蛋白淀粉样变性(家族性))等。在一些实施例中,本披露提供了靶向这样的腺苷的寡核苷酸和组合物,以及用于预防或治疗这样的病症、障碍或疾病的方法。

[1040] 在一些实施例中,可以治疗的病症、障碍或疾病包括例如α-1抗胰蛋白酶缺乏症、阿尔茨海默病、淀粉样蛋白病、贝克尔肌营养不良、乳腺癌易感性突变、卡纳万病(Canavan disease)、腓骨肌萎缩症、囊性纤维化、因子V莱顿缺陷、1型糖尿病、2型糖尿病、杜氏肌营养不良、法布里病(Fabry disease)、遗传性I型酪氨酸血症(HTI)、家族性腺瘤性息肉病、家族性淀粉样心肌病、家族性淀粉样多神经病变、家族性自主神经功能障碍、家族性高胆固醇血症、弗里德希氏共济失调(Friedreich's ataxia)、I型戈谢病(Gaucher disease type I)、II型戈谢病、II型糖原贮积病、GM2神经节苷脂贮积症、血色病、血友病A、血友病B、血友病C、氨基己糖苷酶A缺乏症、卵巢癌易感性突变、肥胖症、苯丙酮酸尿、多囊肾病、朊病毒病、老年全身性淀粉样变性、镰状细胞病、Smith-Lemli-Opitz综合征、脊髓性肌萎缩、威尔逊氏症、帕金森病和遗传性失明。在一些实施例中,疾病/靶标包括:囊性纤维化跨膜传导调节基因(CFTR);白化病、肌萎缩症侧索硬化症、哮喘、β-地中海贫血、卡德西尔综合征(Cadasil syndrome)、慢性阻塞性肺病(COPD)、远端脊髓性肌萎缩症(DSMA)、杜氏/贝克尔肌营养不良(Duchenne/Becker muscular dystrophy)、营养不良型大疱性表皮松解症、大疱性表皮松解症、肌营养不良蛋白基因(DMD);淀粉样蛋白β(A4)前体蛋白基因(APP);因子V莱顿相关疾病(Factor V Leiden associated disorder)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、血友病、遗传性血色素沉着症、亨特综合征(Hunter Syndrome)、亨廷顿病(Huntington's disease)、赫尔勒综合征(Hurler Syndrome)、炎症性肠病(IBD)、遗传性多凝集综合征、莱伯氏先天性黑蒙症(Leber congenital amaurosis)、莱施-尼汉综合征(Lesch-Nyhan syndrome)、林奇综合征、马凡综合征(Marfan syndrome)、粘多糖贮积症、肌强直性营养不良I型和II型、神经纤维瘤病、尼曼匹克病(Niemann-Pick disease)A、B和C型、NY-eso1相关癌症、雷特综合征、NY-ESO-1相关癌症、11-地中海贫血、半乳糖血症、戈谢病、因子XII基因;因子IX基因;因子XI基因;HgbS;胰岛素受体基因;腺苷脱氨酶基因;α-1抗胰蛋白酶基因;乳腺癌1基因(BRCA1);乳腺癌2基因(BRCA2);天冬氨酸环化酶基因(ASPA);半乳糖苷酶α基因(GLA);结肠腺瘤性息肉病基因(APC);B细胞中K轻多肽基因增强子的抑制剂,激酶复合物相关蛋白(IKBKAP);酸性β葡萄糖苷酶基因(GBA);酸性α葡萄糖苷酶基因(GAA);血色病基因(HFE);载脂蛋白B基因(APOB);低密度脂蛋白受体基因(LDLR),低密度脂蛋白受体衔接蛋白1基因(LDLRAP1);前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型基因(PCSK9);多囊肾病1(常染色体显性)基因(PKD-1);朊病毒蛋白基因(PRNP);PTP-1B;7-脱氢胆固醇还原酶基因(DHCR7);运

动神经元生存蛋白1,端粒基因(SMN1);泛素样修饰物激活酶1基因(UBA1);细胞质动力蛋白1重链1基因(DYNC1H1),运动神经元生存蛋白2,着丝粒基因(SMN2);(囊泡相关膜蛋白)相关蛋白B和C(VAPB);氨基已糖苷酶A(α多肽)基因(HEXA);转甲状腺素蛋白基因(TTR);ATP酶,Cu++β多肽基因(ATP7B);苯丙氨酸羟化酶基因(PAH);视紫红质基因;色素性视网膜炎1(常染色体显性)基因(RP1);色素性视网膜炎2(X连锁隐性)基因(RP2)、斯特奇-韦伯综合征、帕金森病、黑斑息肉综合征(Peutz-Jeghers Syndrome)、庞贝氏病(Pompe′s disease)、原发性睫毛疾病、凝血酶原突变相关疾病(诸如凝血酶原G20210A突变)、肺动脉高压、桑霍夫病(Sandhoff Disease)、严重联合免疫缺陷综合征(SCID)、斯特格氏病(Stargardt′s Disease)、泰萨二氏病、乌谢尔综合征、X连锁免疫缺陷、各种形式的癌症(例如,BRCA1和2相关的乳腺癌和卵巢癌)等以及其他已知的基因靶标。其他疾病包括可以通过例如2021年9月24日更新的http://www.omim.org/Online Mendelian Inheritance in Man® An Online C atalog of Human Genes and Genetic Disorders[人类基因和遗传障碍的在线目录]中列出的点变化或小缺失或插入来校正的那些点突变或小缺失或插入或疾病。

[1041] 在一些实施例中,本披露提供了靶向IDUA的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与IDUA相关联的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于IDUA中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是赫尔勒综合征。在一些实施例中,本披露提供了靶向PINK1的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗PINK1相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于PINK1中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是帕金森病。在一些实施例中,本披露提供了靶向因子V莱顿的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗因子V莱顿相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于因子V莱顿中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是因子V莱顿缺陷。在一些实施例中,本披露提供了靶向CFTR的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗CFTR相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于CFTR中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是囊性纤维化。

[1042] 据报道,存在超过32,000种致病性人SNP,其中几乎一半是G至A突变,这些突变可以通过所提供的技术来校正。实际上,据报道,数万种疾病与G至A突变相关联,并且可以通过所提供的技术来预防或治疗。尤其是,所提供的技术可以用于预防或治疗与提前终止密码子相关联的许多病症、障碍或疾病;据报道,所有报道的致病突变中的约12%是导致提前终止密码子的单点突变。在一些实施例中,所提供的技术校正提前终止密码子。参见例如,ClinVar数据库;Gaudelli NM等人,Nature.[自然]2017年11月23日;551(7681):464-471;Keeling KM等人,Madame Curie Bioscience Database[居里夫人生物科学数据库]2000-2013;等等。

[1043] 在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,靶核酸中的靶腺苷被修饰。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中

包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸的水平降低。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在寡核苷酸或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸或其产物的剪接被改变。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸的产物的水平被改变。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷被修饰。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷被肌苷代替。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷的腺嘌呤被鸟嘌呤代替。在一些实施例中,产物是蛋白。在一些实施例中,靶腺苷是来自鸟嘌呤的突变。在一些实施例中,靶腺苷与相同位置的鸟嘌呤相比与病症、障碍或疾病更相关。在一些实施例中,寡核苷酸能够与靶核酸形成双链复合物。在一些实施例中,靶核酸或其部分是或包含RNA。在一些实施例中,靶腺苷是RNA的靶腺苷。在一些实施例中,靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包括靶腺苷的脱氨。在一些实施例中,靶腺苷被修饰并且该修饰是或包括靶腺苷向肌苷的转化。在一些实施例中,修饰由ADAR蛋白促进。在一些实施例中,系统是包含ADAR蛋白的体外或离体系统。在一些实施例中,系统是或包括包含或表达ADAR蛋白的细胞。在一些实施例中,系统是包含含有或表达ADAR蛋白的细胞的受试者。在一些实施例中,ADAR蛋白是ADAR1。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p110同种型。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p150同种型。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p110和p150同种型。在一些实施例中,ADAR蛋白是ADAR2。如本文所展示的,本披露尤其提供了用于将酶募集到靶位点(例如,包含靶A的那些靶位点)的技术,这些技术包括使这样的靶位点与所提供的寡核苷酸或其组合物接触,或向包含或表达包含这样的靶位点的多核苷酸(例如,RNA)的系统施用所提供的寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,酶是RNA编辑酶,诸如如本文所述的ADAR1、ADAR2等。

[1044] 在一些实施例中,包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物提供比用可比较的参考寡核苷酸组合物观察到的更高水平,例如靶腺苷以更高水平被修饰。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物不含该多个寡核苷酸或包含更低水平的该多个寡核苷酸。在一些实施例中,参考组合物不含与该多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸。在一些实施例中,参考组合物不含与该多个寡核苷酸具有相同结构的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比包含更低水平的2′-F修饰。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比包含更低水平的2′-OMe修饰。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比具有不同的糖修饰模式。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比包含更低水平的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比包含更低水平的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,组合物是立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考组合物是与该多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。

[1045] 在一些实施例中,本披露提供了用于修饰靶核酸中的靶腺苷的技术,这些技术包括使靶核酸与如本文所述的所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于使靶核酸中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括使靶核酸与如本文所述的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于产生特定核酸的产物、或者恢复或增加特定核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与所提供的寡核苷酸或组合物接触,其中靶核酸包含靶腺苷,并且该特定核酸与靶核酸的不同之处在于该特定核酸具有I或G而不是靶腺苷。在一些实施例中,本披露提供了用于降低靶核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与本披露的寡核苷酸或组合物接触,其中靶核酸包含靶腺苷。在一些实施例中,产物是蛋白。在一些实施例中,产物是mRNA。

[1046] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

使寡核苷酸或组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触,其中:

寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列基本上互补;并且

靶核酸包含靶腺苷;

其中靶腺苷被修饰。

[1047] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1048] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联。

[1049] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性控制的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1050] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性控制的手性核苷酸间键联。

[1051] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含一个或多个手性控制的手性核苷酸间键联;并且

该多个参考寡核苷酸不含手性控制的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”);并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1052] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含一个或多个手性控制的手性核苷酸间键联;并且

该多个参考寡核苷酸不含手性控制的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是"立体随机组合物")。

[1053] 在一些实施例中,第一寡核苷酸组合物是如本文所述的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,第一寡核苷酸组合物是手性控制的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR酶。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR1。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR2。在一些实施例中,样品是或包含细胞。在一些实施例中,与不同于靶核酸的核酸相比,靶核酸与病症、障碍或疾病,或所需的特性或功能的减弱,或不期望的特性或功能的增强更相关,该不同在于其在靶腺苷的位置具有I或G而不是该靶腺苷。在一些实施例中,靶腺苷是G至A突变。

[1054] 尤其是,本披露的寡核苷酸设计,例如核碱基、糖、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学的控制和/或其模式,可应用于改进现有技术。在一些实施例中,本披露通过向现有技术中的寡核苷酸引入本披露的一个或多个结构特征,例如核碱基、糖、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学的控制和/或其模式,提供了对现有技术的改进。在一些实施例中,改进是或包括来自键联磷立体化学控制的改进。

[1055] 在一些实施例中,本披露提供了用于改善多肽例如ADAR1、ADAR2等的腺苷编辑的技术,这些技术包括将本文所述的设计(例如,一种或多种修饰和/或其模式)掺入寡核苷酸中。在一些实施例中,设计是或包含如本文所述的经修饰的碱基,例如在与靶腺苷相反的位置和/或其相邻位置之一或两者处。在一些实施例中,设计是或包含一种或多种糖修饰和/或其模式、一种或多种碱基修饰和/或其模式、一种或多种经修饰的核苷酸间键联和/或其模式、和/或一个或多个位置处的受控立体化学和/或其模式。在一些实施例中,所提供的技术改善ADAR1的编辑多于ADAR2。在一些实施例中,所提供的技术改善ADAR2的编辑多于ADAR1。在一些实施例中,所提供的技术改善ADAR1 p110的编辑多于ADAR1 p150(例如,在一些实施例中,一个或多个位置处的Rp(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联的))。在一些实施例中,所提供的技术改善ADAR1 p150的编辑多于ADAR1 p110。

[1056] 在一些实施例中,所提供的技术包括增加腺苷编辑多肽例如ADAR1(p110或p150)或ADAR2或其部分的水平。在一些实施例中,增加是通过外源多肽的表达实现的。

[1057] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物不引起核酸的显著降解(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。在一些实施例中,组合物不引起靶核酸中显著的

不期望的外显子跳跃或改变的外显子包含(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

[1058] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的腺苷编辑(例如,转化成肌苷)。在一些实施例中,靶腺苷编辑的百分比为约10%-100%,例如至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,其为至少10%。在一些实施例中,其为至少15%。在一些实施例中,其为至少20%。在一些实施例中,其为至少25%。在一些实施例中,其为至少30%。在一些实施例中,其为至少35%。在一些实施例中,其为至少40%。在一些实施例中,其为至少45%。在一些实施例中,其为至少50%。在一些实施例中,其为至少60%。在一些实施例中,其为至少70%。在一些实施例中,其为至少75%。在一些实施例中,其为至少80%。在一些实施例中,其为至少85%。在一些实施例中,其为至少90%。在一些实施例中,其为至少95%。在一些实施例中,其为至少约100%。

[1059] 在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够介导靶核酸或其产物的表达或水平的降低(例如,通过将靶腺苷修饰为肌苷)。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够在体外介导细胞中靶基因或其基因产物的表达或水平的降低(例如,通过将靶腺苷修饰为肌苷)。在一些实施例中,表达或水平可以降低至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,通过由寡核苷酸或其组合物(例如,在体外在细胞中以10uM或更低的浓度)指导的ADAR介导的脱氨,靶基因或其基因产物的表达或水平可以降低至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够在1nM、5nM、10nM或更低的浓度下提供合适水平的活性(例如,当在体外或体内在细胞中测定时)。

[1060] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物的活性可以通过IC50来评估,IC50是在适合的条件下(例如,基于细胞的体外测定中)使靶核酸或其产物的水平降低50%的抑制浓度。在一些实施例中,例如当在基于细胞的测定中评估时,所提供的寡核苷酸或组合物具有不超过0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、5、10、50、100、200、500或1000nM的IC50。在一些实施例中,IC50不超过约500nM。在一些实施例中,IC50不超过约200nM。在一些实施例中,IC50不超过约100nM。在一些实施例中,IC50不超过约50nM。在一些实施例中,IC50不超过约25nM。在一些实施例中,IC50不超过约10nM。在一些实施例中,IC50不超过约5nM。在一些实施例中,IC50不超过约2nM。在一些实施例中,IC50不超过约1nM。在一些实施例中,IC50不超过约0.5$_n$M。

[1061] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供靶腺苷相对于靶腺苷中的其他腺苷残基的选择性编辑。在一些实施例中,靶腺苷相对于非靶腺苷的选择性为至少1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90

倍、100倍或更多倍(例如,如通过在合适的条件下靶腺苷相对于非靶腺苷的编辑水平所测量的,或通过用于某一编辑水平(例如,0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%等)的寡核苷酸浓度所测量的)。在一些实施例中,选择性为至少2倍。在一些实施例中,选择性为至少3倍。在一些实施例中,选择性为至少4倍。在一些实施例中,选择性为至少5倍。在一些实施例中,选择性为至少10倍。在一些实施例中,选择性为至少25倍。在一些实施例中,选择性为至少50倍。在一些实施例中,选择性为至少100倍。

[1062] 在一些实施例中,本披露提供了一种用于抑制靶核酸序列的转录物的方法,对于该靶核酸序列,群体中存在一个或多个相似核酸序列,靶序列和相似序列中的每一者包含相对于相似序列限定靶序列的特定特征性序列元件,该方法包括使包含靶核酸序列的转录物的样品与寡核苷酸或包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物接触,其中该寡核苷酸的碱基序列或该多个寡核苷酸的共同碱基序列是或包含与限定靶核酸序列的特征性序列元件互补的序列。在一些实施例中,其中当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与包含靶核酸序列和相似核酸序列两者的转录物的系统接触时,靶核酸序列的转录物以比相似核酸序列所观察到的抑制水平更高的水平被抑制。在一些实施例中,对靶核酸序列的转录物的抑制可以是对相似核酸序列观察到的抑制的1.1-100、2-100、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7、8、9或10倍。在一些实施例中,靶核酸序列与病症、障碍或疾病相关联(或与相似核酸序列相比,与病症、障碍或疾病更相关)。如本领域技术人员将理解的,选择性减少与病症、障碍或疾病相关联的转录物(和/或其产物),同时保持与病症、障碍或疾病无关或较少相关的转录物可以提供许多优点,例如,提供疾病治疗和/或预防,同时保持一种或多种所需的生物功能(其可以尤其产生较少的或不太严重的副作用)。

[1063] 在一些实施例中,如本文所展示的,在系统(例如,本文所述的报告子测定)中,选择性为至少10倍,或20、30、40或50倍或更多倍。在一些实施例中,寡核苷酸或组合物可有效降低突变体蛋白的水平(例如,突变体蛋白降低至少50%、60%、70%或更多),同时维持系统中野生型蛋白的水平(例如,保留至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的野生型蛋白)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在多种生物系统中(例如,在小鼠脑匀浆中)是稳定的(例如,在1、2、3、4、5、6、7或8天后剩余至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有低毒性。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物(例如,手性控制的寡核苷酸及其组合物)不显著激活TLR9(例如,当与参考寡核苷酸及其组合物(例如,对应的立体随机寡核苷酸及其组合物)相比时)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物(例如,手性控制的寡核苷酸及其组合物)不显著诱导补体激活(例如,当与参考寡核苷酸及其组合物(例如,对应的立体随机寡核苷酸及其组合物)相比时)。

[1064] 对于多种应用,所提供的寡核苷酸和/或组合物可以作为药物组合物提供。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,该组合物包含或递送有效量的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,药物组合物可包含多种形式的寡核苷酸,例如酸、碱和多种药学上可接受的盐形式。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钾盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是胺盐(例如,具有$N(R)_3$的结构的胺的盐)。在一些实施例中,药物组合物进一步包含药学上可接受的载剂。在一些实施例中,药物组合物是或包含液体溶液。在一些实施例中,液体组合物具有控制的pH范围,例

如约生理pH或为生理pH。在一些实施例中,药物组合物包含或配制为生理相容缓冲液中的溶液,例如汉克斯(Hanks′s)溶液、林格氏溶液、脑脊液、人工脑脊液(aCSF)或生理盐水缓冲液。在一些实施例中,药物组合物包含或配制为人工脑脊液(aCSF)中的溶液。在一些实施例中,药物组合物是可注射悬浮液或溶液。在某些实施例中,使用适当的液体载剂、悬浮剂等制备可注射悬浮液或溶液。药物组合物能以各种合适的途径施用。在一些实施例中,药物组合物配制用于口服施用,例如,浸液(drench)(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如,针对口腔、舌下和全身吸收的那些)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、糊剂(应用于舌);肠胃外施用,例如通过皮下、肌内、静脉内、鞘内、脑室内、玻璃体内、视网膜下、脉络膜上或硬膜外注射,例如作为无菌溶液或悬浮液,例如在生理相容的缓冲液,诸如汉克斯溶液、林格氏溶液、人工脑脊液(aCSF)或生理盐水缓冲液或缓释配制品中;局部应用,例如,作为乳膏剂、软膏剂、或控制释放贴剂或喷雾剂应用于皮肤、肺或口腔;阴道内或直肠内,例如作为阴道栓剂、乳膏剂或泡沫剂;舌下;眼部;透皮;或经鼻、肺以及应用于其他粘膜表面。在一些实施例中,本文的技术提供了多种递送优点,例如高递送效率、无脂质媒介物的递送等。在一些实施例中,肠胃外施用或递送寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,静脉内施用或递送寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,鞘内施用或递送寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,玻璃体内施用或递送寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,皮下施用或递送寡核苷酸或组合物。

[1065] 尤其是,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的技术。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病适合(例如,可以受益于)A向I的转化。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物中的一种或多种寡核苷酸的碱基序列与包含靶腺苷的靶核酸的碱基序列基本上互补。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR蛋白。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR1(例如,p110和/或p150形式)。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR2。在一些实施例中,病症、障碍或疾病如本文所述。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,方法包括将靶腺苷转化成I。

[1066] 在一些实施例中,本披露提供了包含与靶序列互补的序列的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了指导位点特异性(也可称为定点)编辑(例如,脱氨)的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了指导由ADAR(例如,内源性ADAR)介导的位点特异性腺苷编辑的寡核苷酸。多种所提供的寡核苷酸可以用作用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了使用所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸及其组合物来预防和/或治疗与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍

或疾病的方法。在一些实施例中,本披露提供了用作药物的寡核苷酸及其组合物,这些药物例如用于与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于制造药物的寡核苷酸及其组合物,这些药物用于治疗与靶序列中的G至A突变相关联的相关病症、障碍或疾病。

[1067] 在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防、治疗或改善易患或患有与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的受试者的该病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1068] 在一些实施例中,本披露提供了一种用于使细胞的靶序列中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了一种使细胞的靶序列(例如,转录物)中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了一种用于降低细胞中与G至A突变相关联的蛋白的水平的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,所提供的方法可以选择性地降低转录物和/或由其编码的产物的水平,这些转录物和/或产物与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病相关。在一些实施例中,所提供的方法可以相对于在靶A的位置处具有G的其他方面相同的核酸选择性地编辑靶核酸,例如包含不期望的A(例如,G至A突变)的转录物。

[1069] 在一些实施例中,本披露提供了一种用于降低有需要的哺乳动物中的突变基因(例如,G至A突变)表达的方法,该方法包括向该哺乳动物施用核酸-脂质颗粒,该核酸-脂质颗粒包含所提供的用于定点编辑靶RNA序列中的核苷酸的单链寡核苷酸或其组合物。

[1070] 在一些实施例中,本披露提供了一种用于体内递送寡核苷酸的方法,该方法包括向哺乳动物施用寡核苷酸或其组合物。

[1071] 在一些实施例中,适合于治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的受试者或患者可以由健康护理专业人员鉴定或诊断。

[1072] 在一些实施例中,与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的症状可以是可以受益于A至I转化的任何病症、障碍或疾病。

[1073] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸或其组合物可以预防、治疗、改善与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病,或与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的至少一种症状,或者减缓其进展。

[1074] 在一些实施例中,本披露的方法可以用于治疗受试者的与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病,其中该方法包括向受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1075] 在一些实施例中,所提供的方法可以减轻与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的至少一种症状,其中该方法包括向受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1076] 在一些实施例中,向患者或受试者施用寡核苷酸能够介导以下任一个或多个方面:减缓与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的进展;延迟与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病或其至少一种症状的发作;改善与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的一种或多种指标;和/或增加患者或受试者的存活时间或寿命。

[1077] 在一些实施例中,减缓疾病进展可以涉及在易患或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病(如本文所述的那些)的个体中预防或延迟一个或多个临床参数的临床上不

合需要的变化。使用本文所述的一种或多种疾病评估测试来鉴定易患或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的个体中疾病进展的减缓完全在医师的能力范围内。另外,应当理解,除了本文所述的那些之外,医师还可以对个体进行诊断测试,以评估易患或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的个体的疾病进展速率。

[1078] 医师可以使用与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的家族史,或与具有相似遗传特征的其他患者的比较。

[1079] 在一些实施例中,与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的指标包括由医学专业人员(诸如医师)用于诊断或测量病症、障碍或疾病的进展的参数。

[1080] 在一些实施例中,向受试者施用寡核苷酸或其组合物和另外的药剂和/或方法,例如另外的治疗剂和/或方法。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物可以单独施用或与一种或多种其他治疗剂和/或治疗组合施用。当组合施用时,每种组分可以同时或以任何顺序在不同时间点依次施用。在一些实施例中,可以分开地但在时间上足够紧密地施用每种组分,以提供期望的治疗效果。在一些实施例中,同时施用所提供的寡核苷酸和另外的治疗组分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和另外的治疗组分可以作为一种组合物施用。在一些实施例中,在一个时间点,被施用的受试者可以同时暴露于所提供的寡核苷酸和另外的组分。

[1081] 在一些实施例中,另外的治疗剂可以与寡核苷酸物理缀合。在一些实施例中,另外的药剂是GalNAc。在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与另外的药剂物理缀合。在一些实施例中,另外的药剂寡核苷酸可以具有如本披露中所述的碱基序列、糖、核碱基、核苷酸间键联,糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰模式,骨架手性中心模式等,或其任何组合,其中每个T独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸可以与第二寡核苷酸物理缀合,该第二寡核苷酸可以降低(直接或间接)靶序列的表达、活性和/或水平,或可用于治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。

[1082] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与一种或多种另外的(或第二)治疗剂一起施用,以用于与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。

[1083] 在一些实施例中,可以向受试者施用寡核苷酸和另外的治疗剂,其中该另外的治疗剂是可用于治疗待治疗的病症、障碍或疾病的本文所述或本领域已知的药剂。

[1084] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与用于病症、障碍或疾病或其症状的一种或多种治疗一起共同施用或作为治疗方案的一部分与用于病症、障碍或疾病或其症状的一种或多种治疗一起使用,该一种或多种治疗包括但不限于:适体、lncRNA、lncRNA抑制剂、抗体、肽、小分子、靶向其他靶标的其他寡核苷酸。

[1085] 在一些实施例中,作为非限制性实例,另外的治疗性处理是编辑基因的方法

[1086] 在一些实施例中,作为非限制性实例,另外的治疗剂是寡核苷酸。

[1087] 在一些实施例中,可以在寡核苷酸之前、同时或之后向受试者施用第二或另外的治疗剂。在一些实施例中,第二或另外的治疗剂可以多次施用给受试者,并且寡核苷酸也多次施用给受试者,并且以任何顺序施用。

[1088] 在一些实施例中,改善可以包括降低在疾病状态下过高的基因或基因产物的表

达、活性和/或水平;增加在疾病状态下过低的基因或基因产物的表达、活性和/或水平;和/或降低基因或基因产物的突变型和/或疾病相关变体的表达、活性和/或水平。

[1089] 在一些实施例中,可用于治疗、改善和/或预防与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的寡核苷酸或组合物可以经由多种合适的可用技术施用(例如,施用给受试者)。

[1090] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸,例如用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸,可以作为药物组合物施用,例如以用于治疗、改善和/或预防病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个手性控制的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物是手性控制的。

[1091] 尤其是,与参考技术(例如,不存在或存在低水平的手性控制(例如,立体随机寡核苷酸组合物(例如,具有相同碱基序列或相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物)),和/或不存在或存在低水平的某些修饰及其模式(例如,2′-F、不带负电荷的核苷酸间键联等))相比,本披露的技术(例如,寡核苷酸及其组合物)可以提供多种改进和优点,诸如改善的稳定性、递送、编辑效率、药代动力学和/或药效动力学。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同碱基序列的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物(如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,多种盐形式可适当地视为具有相同构成)。在一些实施例中,参考寡核苷酸是不含不带负电荷的核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸不含n001。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是不含不带负电荷的核苷酸间键联的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是不含n001的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,与参考技术相比,所提供的技术可以较低的单位或总剂量使用,和/或可以较低的剂量和/或较长的剂量间隔施用(例如,以实现相当的或更好的效果)。在一些实施例中,所提供的技术可以提供持久的编辑。在一些实施例中,所提供的技术一旦施用就能在一段时间内,例如在最后一剂后约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60天或更多天,或1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个月,以某一水平或更高的水平(例如,对提供某些生物和/或治疗效果有用和/或足够的水平)提供活性,例如,靶标编辑。在一些实施例中,所提供的技术提供低毒性。在一些实施例中,与参考技术相比,所提供的技术可以较高的单位或总剂量使用,和/或可以更多的剂量和/或更短的剂量间隔施用(例如,以实现更好的效果)。在一些实施例中,总剂量可以作为单一剂量施用。在一些实施例中,总剂量可以作为两个或更多个单一剂量施用。在一些实施例中,与作为两个或更多个单一剂量施用时相比,作为单一剂量施用的总剂量可以提供更高的最大编辑水平。

[1092] 在一些情况下,已经施用寡核苷酸作为药物的患者可能经历某些副作用或不良反应,包括:血小板减少、肾毒性、肾小球肾炎和/或凝血异常;遗传毒性、靶器官重复剂量毒性和病理效应;剂量反应和暴露关系;慢性毒性;幼年毒性;生殖和发育毒性;心血管安全性;注射部位反应;细胞因子应答补体效应;免疫原性;和/或致癌性。在一些实施例中,施用另外的治疗剂以抵消施用寡核苷酸的副作用或不良反应。在一些实施例中,与用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的不同单链寡核苷酸相比,用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的特定单链寡核苷酸可以具有降低的引起副作用或不良反应的能力。

[1093] 在一些实施例中,可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1094] 在一些实施例中,可以将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1095] 在一些实施例中,可以将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1096] 在一些实施例中,可以将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应,并且其中寡核苷酸经由任何生化机制起作用,该生化机制包括但不限于:降低靶基因或其基因产物的水平、表达和/或活性,增加或降低靶基因mRNA中一个或多个外显子的跳跃,ADAR介导的脱氨,RNA酶H介导的机制,空间位阻介导的机制和/或RNA干扰介导的机制,其中寡核苷酸是单链或双链的。

[1097] 在一些实施例中,可以将寡核苷酸组合物和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸组合物施用相关联的一种或多种副作用或不良反应,并且其中寡核苷酸组合物可以是手性控制的或包含至少一个手性控制的核苷酸间键联(包括但不限于手性控制的硫代磷酸酯)。

[1098] 多种病症、障碍或疾病可以受益于腺苷编辑,包括与G至A突变相关联的那些,例如囊性纤维化、赫尔勒综合征(Hurler Syndrome)、α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症、帕金森病、阿尔茨海默病、白化病、肌萎缩症侧索硬化症、哮喘、β-地中海贫血、卡德西尔综合征(Cadasil syndrome)、腓骨肌萎缩症(Charcot-Marie-Tooth disease)、慢性阻塞性肺病(COPD)、远端脊髓性肌萎缩症(DSMA)、杜氏/贝克尔肌营养不良(Duchenne/Becker muscular dystrophy)、营养不良型大疱性表皮松解症、大疱性表皮松解症、法布里病(Fabry disease)、因子V莱顿相关疾病(Factor V Leiden associated disorder)、家族性腺瘤、息肉病、半乳糖血症、戈谢病(Gaucher′s Disease)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、血友病、遗传性血色素沉着症、亨特综合征(Hunter Syndrome)、亨延顿病(Huntington′s disease)、炎症性肠病(IBD)、遗传性多凝集综合征、莱伯氏先天性黑蒙症(Leber congenital amaurosis)、莱施-尼汉综合征(Lesch-Nyhan syndrome)、林奇综合征(Lynch syndrome)、马凡综合征(Marfan syndrome)、粘多糖贮积症、肌营养不良、肌强直性营养不良I型和II型、神经纤维瘤病、尼曼匹克病(Niemann-Pick disease)A、B和C型、NY-eso1相关癌症、黑斑息肉综合征(Peutz-Jeghers Syndrome)、苯丙酮尿症、庞贝氏病(Pompe′s disease)、原发性睫毛疾病、凝血酶原突变相关疾病(诸如凝血酶原G20210A突变)、肺动脉高压、色素性视网膜炎、桑霍夫病(Sandhoff Disease)、严重联合免疫缺陷综合征(SCID)、镰状细胞性贫血、脊髓性肌肉萎缩症、斯特格氏病(Stargardt′s Disease)、泰萨二氏病(Tay-Sachs Disease)、乌谢尔综合征(Usher syndrome)、X连锁免疫缺陷、斯特奇-韦伯综合征和多种癌症。某些病症、障碍或疾病描述于WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637、WO 2020/252376、WO 2021/130313、WO 2021/231673、WO 2021/231675、WO 2021/231679、WO 2021/231680、WO 2021/231685、WO 2021/231691、WO 2021/231692、WO 2021/231698、WO 2021/231830、WO 2021/243023、WO 2022/018207或WO 2022/026928中。

[1099] 在一些实施例中,病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症(AATD)。

[1100] 据报道,α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症(AATD)是由SERPINA1基因(也称为PI、AIA、AAT、PI1、A1AT、PRO2275和α1AT)的缺陷导致的遗传疾病。严重的A1AT缺乏症与包括肺和肝表型在内的多种表型相关联。

[1101] 据报道,A1AT缺乏症是北欧血统受试者中最常见的遗传疾病之一。仅在美国严重A1AT缺乏症的患病率就达到80,000-100,000例。在欧盟的数量估计相似。全世界估计有300万人患有严重的A1AT缺乏症。A1AT缺乏症会引起肺气肿,受试者在其第三或第四个十年中出现肺气肿。A1AT缺乏症也可能引起肝衰竭和肝细胞癌,高达30%的患有严重A1AT缺乏症的受试者会发展出明显的肝病,包括肝硬化、暴发性肝衰竭和肝细胞癌。

[1102] SERPINA1基因中的A突变(即,c.1024G>A)导致成熟A1AT蛋白的氨基酸位置342处的谷氨酸至赖氨酸取代(E342K,"Z突变")。这种错义突变影响蛋白质构象和分泌,导致A1AT循环水平降低。携带Z突变的等位基因被鉴定为PiZ等位基因。PiZ等位基因纯合的受试者称为PiZZ携带者,并表达正常水平的10%-15%的血清A1AT。大约95%有A1AT缺陷症状的受试者具有PiZZ基因型。Z突变杂合的受试者称为PiMZ突变体,并表达正常水平的60%的血清A1AT。在确诊的患者中,90%患有严重A1AT缺乏症的患者具有ZZ突变。美国约有30,000至50,000人具有PiZZ基因型。

[1103] A1AT缺乏症的病理生理学可能随受影响的器官而变化。据报道,肝病是由于功能获得机制引起的。异常折叠的A1AT,特别是Z型A1AT(Z-AT)在肝细胞内聚集和聚合。A1AT内含物存在于PiZZ受试者中,并且被认为引起肝硬化,并且在一些情况下引起肝细胞癌。肝病中功能获得机制的证据得到了无效纯合子的支持。这些受试者不产生A1AT并且不发展肝细胞内含物或肝病。

[1104] 据报道,A1AT缺乏在高达约50%的A1AT受试者中导致肝病,并且在高达约30%的受试者中导致严重的肝病。肝病可能表现为:(a)儿童期中自限性的肝硬化,(b)儿童期或成年期中需要肝移植或导致死亡的严重肝硬化,和(c)通常致死的肝细胞癌。据报道,肝病的发病呈双峰型,主要影响儿童或成人。儿童疾病在许多情况下是自限性的,但可能导致终末期、致命性肝硬化。据报道,高达约18%的具有PiZZ基因型的受试者可能在儿童期中发展出临床上显著的肝异常。据报道,大约2%的PiZZ受试者发生严重的肝硬化,导致在儿童期死亡(Sveger 1988;Volpert 2000)。成人发病的肝病可能影响具有所有基因型的受试者,但在具有PiZZ基因型的受试者中较早出现。据报道,大约2%-10%的A1AT缺陷型受试者发展出成人发病的肝病。

[1105] 与A1AT缺乏相关联的肺病目前通过静脉内施用人源性代替A1AT蛋白来治疗,但除了成本高昂和需要在受试者的整个生命期内频繁注射外,该方法仅部分有效。目前用化学疗法和手术来治疗患有肝细胞癌的A1AT缺陷型受试者,但没有令人满意的方法来预防A1AT缺乏可能致命的肝表现。

[1106] 尤其是,本披露认识到需要改善对A1AT缺乏症(例如,包括其肝和肺表现)的治疗。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症相关联的病症、障碍或疾病的技术,例如,通过提供可以将A突变转化成I的寡核苷酸和/或组合物,该I可以在蛋白翻译期间被读作G,从而为蛋白翻译校正G至A突变。尤其是,改变一种或多种肝细胞中的SERPINA1可以通过减少或消除毒性Z蛋白(Z-AAT)的产生来预防A1AT缺乏症受试

者中肝病的进展。在某些实施例中,通过利用所提供的技术消除或减少Z蛋白的产生。在某些实施例中,与未接受治疗的受试者相比,疾病被治愈、未进展或进展延迟。

[1107] 在一些实施例中,已经报道了肝脏和肺中的AATD双重病理。在一些实施例中,已报道无法分泌聚合的Z-ATT会导致例如肝损伤/肝硬化。在一些实施例中,一个或两个肺对未受抑制的蛋白酶开放,这在一些实施例中导致炎症和肺损伤。许多患者(例如,据报道,美国和欧盟约有200,000名)具有纯合ZZ基因型,据报道该基因型与最常见的严重AATD相关联。据报道,批准的疗法适度增加具有肺部病变的患者中野生型AAT的循环水平,但没有疗法可以解决肝脏病变。在一些实施例中,所提供的技术增加或恢复肝脏中野生型AAT的表达、水平、特性和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术例如通过将靶向肝脏的部分(例如配体,诸如肝脏中表达的GalNAc靶向受体)引入寡核苷酸中来靶向肝脏。在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强肝脏中的野生型AAT生理调节。在一些实施例中,所提供的技术减少Z-AAT蛋白聚集。在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强肝脏中的野生型AAT生理调节,并减少Z-AAT蛋白聚集。在一些实施例中,所提供的技术增加向血流中的分泌。在一些实施例中,所提供的技术增加循环的野生型AAT。在一些实施例中,所提供的技术增加循环的肺结合野生型AAT。在一些实施例中,所提供的技术增加或恢复肺中野生型AAT的表达、水平、特性和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术保护肺免受不期望的蛋白酶的影响。在一些实施例中,所提供的技术减少或预防炎症和/或肺损伤。在一些实施例中,所提供的技术对肝脏和肺均提供益处。在一些实施例中,所提供的技术减少或预防肝损伤或肝硬化,并且减少或预防炎症和/或肺损伤。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸,例如包含靶向肝脏中表达的受体的某些部分(如配体(例如,GalNAc))的寡核苷酸,对肝脏和肺提供益处。在一些实施例中,所提供的技术同时对肝脏和肺提供益处。在一些实施例中,所提供的技术解决了AATD的肺和/或肝脏表现。在一些实施例中,所提供的技术同时解决了AATD的肺和肝脏表现。在一些实施例中,所提供的技术包括使用GalNAc缀合的寡核苷酸及其组合物来校正由触发AATD的SERPINA1 Z等位基因编码的mRNA中的RNA碱基突变。在一些实施例中,所提供的技术同时减少突变的、错误折叠的α-1蛋白的聚集并增加野生型α-1抗胰蛋白酶蛋白的循环水平,并且在一些实施例中解决了AATD的肝和肺表现。在一些实施例中,所提供的技术避免了DNA永久脱靶改变的风险。在一些实施例中,皮下施用或递送例如用于预防或治疗AATD的寡核苷酸或组合物。

[1108] 在某些实施例中,如本文所述的技术可以为一种或多种经处理的肝细胞的存活提供选择性优点。在某些实施例中,靶细胞被修饰。在一些实施例中,用本文的技术处理的细胞可能不会产生毒性Z蛋白。在一些实施例中,未被修饰的患病细胞产生毒性Z蛋白,并且可能经历继发于由Z蛋白错误折叠诱导的内质网(ER)应激的细胞凋亡。在某些实施例中,在使用所提供的技术处理之后,经处理的细胞将存活而未经处理的细胞将死亡。这种选择性优点可以驱动肝细胞的最终定殖,其中大部分是SERPINA1校正的细胞。

[1109] 在一些实施例中,所提供的技术减轻了Z-AAT在肝脏中的聚集。在一些实施例中,所提供的技术减轻了肝脏炎症。在一些实施例中,所提供的技术校正或降低了Z-AAT功能获得表型的水平,例如与Z-AAT聚集相关联的进行性肝病。在一些实施例中,所提供的技术预防各种病症、障碍或疾病(例如与Z-AAT相关的病症、障碍或疾病,诸如肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌)、降低其严重性、延迟其发作和/或减缓其进展。在一些实施例中,本披露提供了

用于减少例如肝脏中Z-AAT聚集的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于增加AAT血清浓度(例如至约或高于约11uM)的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于增加M-AAT血清浓度的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于将M-AAT血清占总AAT的百分比增加到例如约或高于约60%、65%、70%或75%的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于抑制弹性蛋白酶的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于抑制嗜中性粒细胞弹性蛋白酶的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于增加弹性蛋白酶抑制的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于增加嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制的方法。在一些实施例中,抑制包括肺中的抑制。在一些实施例中,本披露提供了用于减少肝脏炎症的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于减少小叶炎症的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于减少肝脏PAS-D阳性面积(例如,按百分比计)的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于减小肝脏球直径的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于预防肝纤维化的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于预防肝硬化的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于预防肝细胞癌的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗肝纤维化的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗肝硬化的方法。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗肝细胞癌的方法。在一些实施例中,所提供的方法包括向受试者施用或递送有效量的寡核苷酸或寡核苷酸组合物。在一些实施例中,受试者包含SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。在一些实施例中,受试者对于SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是纯合的。在一些实施例中,受试者对于SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合的。在一些实施例中,受试者包含PiZ等位基因。在一些实施例中,受试者是PiZZ携带者。在一些实施例中,寡核苷酸能够将SERPINA1中的1024G>A突变编辑为I。在一些实施例中,寡核苷酸能够校正SERPINA1中的E342K突变。在一些实施例中,施用或递送后,与不存在这样的施用或递送或者施用或递送参考药剂(例如,不含寡核苷酸或含有不是为编辑相同腺苷而设计的寡核苷酸的在其他方面可比或相同的组合物)相比,实现了腺苷编辑、编辑的AAT的产生(例如,M-AAT)、Z-AAT的减少、血清AAT的增加、血清编辑的AAT的增加(例如,M-AAT;绝对浓度和/或%)、Z-AAT聚集的减少、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制的增加、肝脏炎症的减少、肝脏PAS-D阳性面积的减少、肝脏球直径的减小、肝纤维化的减少和/或肝硬化的减少。

[1110] 在一些实施例中,当将寡核苷酸施用于患有或易患与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的患者时,该寡核苷酸能够减轻该病症、障碍或疾病的至少一种症状和/或能够延迟或预防由于基因或基因产物中的G至A突变引起的病症、障碍或疾病的至少一种症状的发作、恶化和/或降低其恶化速率和/或程度。

[1111] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供对系统(例如,细胞、组织、器官、动物等)中的两个或更多个位点的编辑(“多重编辑”)。在一些实施例中,所提供的技术可以靶向相同转录物的两个或更多个位点并提供对这些位点的编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以靶向来自相同核酸或不同核酸的两种或更多种不同转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以靶向来自两种或更多种不同核酸的转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中,所提供的技术可靶向来自两种或更多种不同基因的转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中,在同时编辑的靶标中,各自独立地处于生物学和/或治疗相关的水平。在一些实施例中,在多重编辑中,一个或多个或所有靶标以与在可比较条件下单独进行的编辑相当的水平独立地编辑。在一些实施例中,利用两

种或更多种单独的组合物来执行多重编辑,每种组合物独立地靶向一个或多个靶标。在一些实施例中,这些组合物同时施用。在一些实施例中,这些组合物以合适的间隔施用。在一些实施例中,一种或多种组合物在一种或多种其他组合物之前或之后施用。在一些实施例中,使用单一组合物进行多重编辑,例如包含两种或更多种多个寡核苷酸的组合物,其中该多个寡核苷酸靶向不同的靶标。在一些实施例中,每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的腺苷。在一些实施例中,每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的转录物。在一些实施例中,每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的基因。在一些实施例中,两种或更多种多个寡核苷酸可靶向同一靶标,但该多个寡核苷酸一起靶向所期望的靶标。

[1112] 如本文所述,所提供的技术可以提供许多优点。例如,在一些实施例中,所提供的技术比作用于DNA的技术更安全,因为所提供的技术可以提供可逆且可调的RNA编辑(例如,通过调节剂量)。另外地和替代性地,如本文所展示的,所提供的技术可以在表达内源性ADAR蛋白的系统中提供高水平的编辑,从而避免在多种情况下引入外源性蛋白的需要。此外,所提供的技术不需要依赖于辅助递送媒介物诸如病毒载体或脂质纳米颗粒的复合寡核苷酸,如在许多其他技术中使用的,特别是用于细胞培养以外的应用。在一些实施例中,所提供的技术可以使用内源性ADAR酶以高效率提供序列特异性A至I RNA编辑,并且可在不存在人工递送剂的情况下递送到多种系统(例如,细胞)中。

[1113] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解,可以使用根据本披露内容的多种技术递送所提供的寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物可以经由转染或脂质转染来递送。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物可在不存在递送助剂(诸如用于转染或脂质转染中的那些)的情况下递送。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物以裸递送方式递送。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含可促进递送的另外的化学部分。例如,在一些实施例中,另外的化学部分是或包含受体(例如,脱唾液酸糖蛋白受体)的配体部分(例如,N-乙酰半乳糖胺(GalNAc))。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物可以通过GalNAc介导的递送来递送。在一些实施例中,所提供的技术选择性地递送至靶细胞群、位置、组织、器官等。在一些实施例中,通过靶向递送例如使用配体部分(如GalNAc)递送寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,递送是全身递送。在一些实施例中,递送是局部递送(例如,经由IT、IVT等)。在一些实施例中,所提供的技术提供的优点包括无需复杂的递送媒介物即可进行递送和编辑。例如,在一些实施例中,在对小鼠进行单一皮下剂量后,在多个组织中观察到无脂质或配体部分(例如,GalNAc)的大量递送和RNA编辑,这些组织包括心脏、肾、肺、脾、白色脂肪组织(WAT)、棕色脂肪组织(BAT)、肝脏和各种肝脏相关细胞,诸如CD3+细胞(T细胞和NK细胞亚群)、EpCAM+细胞(例如肝脏中的胆管细胞)、肝窦内皮细胞(LSEC)、巨噬细胞(例如库普弗(Kupfer)细胞)等。

[1114] 在一些实施例中,所提供的技术,例如方法、剂量方案等,可以包括一种或多种负荷剂量。在一些实施例中,包含负荷剂量的技术可以比没有这样的负荷剂量更快地提供一种或多种所需的效果或结果,例如,在一些实施例中,可以比没有负荷剂量更快地增加或实现编辑水平。在一些实施例中,负荷剂量与无负荷剂量相同(例如,维持剂量、在没有负荷剂量的方案中施用的剂量等)。在一些实施例中,负荷剂量含有与无负荷剂量约相同量的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,负荷剂量与无负荷剂量不同。在一些实施例中,与无负荷剂量相比,负荷剂量含有减少量的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,与无负荷剂量

相比,负荷剂量含有增加量的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,使用两种或更多种负荷剂量,与无负荷剂量相比,每种负荷剂量独立地含有约相同量、更少或更多的药剂。在一些实施例中,每种负荷剂量约相同。在一些实施例中,每种负荷剂量含有与无负荷剂量约相同量的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,一种或多种负荷剂量与一种或多种其他负荷剂量不同。在一些实施例中,与无负荷剂量相比,一种或多种或所有负荷剂量独立地含有更多的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,与无负荷剂量相比,一种或多种或所有负荷剂量独立地含有更少的药剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,每种无负荷剂量约相同。在一些实施例中,没有负荷剂量的技术可以在一段时间(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多周,或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个月)之后提供可比较的或约相同的效果或结果。

[1115] 尤其是,本披露提供了以下示例实施例:

1.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

第一结构域;和

第二结构域,

其中:

该第一结构域包含一个或多个2′-F修饰;

该第二结构域包含一个或多个不具有2′-F修饰的糖。

2.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本披露所述的经修饰的核碱基、核苷、糖或核苷酸间键联。

3.一种寡核苷酸,其中所有糖的约或至少约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是2'-F修饰的糖。

4.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本披露所述的第二子结构域。

5.一种包含一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含各自独立地包含一个或多个核碱基的第一结构域和第二结构域。

6.如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰。

7.如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸的水平降低。

8.如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在该寡核苷酸或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸或其产物的剪接被改变。

9.如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸的产物的水平被改变。

10.如实施例7-9中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶核酸被修饰。

11.如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷被修饰。

12.如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷被肌苷代替。

13.如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷的腺嘌呤被鸟嘌呤代替。

14.如实施例11-13中任一项所述的寡核苷酸,其中该产物是蛋白质。

15.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷是来自鸟嘌呤的突变。

16.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷与相同位置处的鸟嘌呤相比与病症、障碍或疾病更相关。

17.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷与α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症相关联。

18.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷在人SERPINA1基因中。

19.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷是人SERPINA1基因中的1024G>A(E342K)突变。

20.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸能够与该靶核酸形成双链复合物。

21.如实施例6-20所述的寡核苷酸,其中靶核酸或其部分是或包含RNA。

22.如实施例6-21中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷是RNA的靶腺苷。

23.如实施例6-22中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包括该靶腺苷的脱氨。

24.如实施例6-23中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包括将该靶腺苷转化成肌苷。

25.如实施例6-24中任一项所述的寡核苷酸,其中该修饰由ADAR蛋白促进。

26.如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸,其中该系统是包含ADAR蛋白的体外或离体系统。

27.如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸,其中该系统是或包括包含或表达ADAR蛋白的细胞。

28.如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸,其中该系统是包含含有或表达ADAR蛋白的细胞的受试者。

29.如实施例25-28中任一项所述的寡核苷酸,其中该ADAR蛋白是ADAR1。

30.如实施例25-28中任一项所述的寡核苷酸,其中该ADAR蛋白是ADAR2。

31.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约10-200个(例如,约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200、10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。

32.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约26-35个核碱基的长度。

33.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约26个核碱基的长度。

34.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约27个核碱基的长度。

35.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约28个核碱基的长度。

36.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约29个核碱基的长度。

37.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约30个核碱基的长度。

38.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约31个核碱基的长度。

39.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约32个核碱基的长度。

40.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约33个核碱基的长度。

41.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约34个核碱基的长度。

42.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约35个核碱基的长度。

43.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与包含该靶腺苷的该靶核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

44.如实施例43所述的寡核苷酸,其中一个或多个错配独立地是摆动碱基配对。

45.如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中互补性为约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。

46.如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中该互补性为约90%-100%或约95%-100%。

47.如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中该互补性为100%。

48.如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中除了在与靶核苷(例如,腺苷)相反的核苷处,该互补性为100%。

49.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。

50.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约2-50个(例

如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

51.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约10-25个核碱基的长度。

52.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约15个核碱基的长度。

53.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

54.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个或更多个错配。

55.如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个且不多于一个错配。

56.如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个且不多于两个错配。

57.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

58.如实施例57所述的寡核苷酸,其中每个凸起独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摆动对的碱基对。

59.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动对。

60.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个或更多个摆动对。

61.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个且不多于两个摆动对。

62.如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域与靶核酸完全互补。

63.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的糖。

64.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-

95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地包含2'-F修饰。

65.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地包含2'-F修饰。

66.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%,或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖独立地包含2'-F修饰。

67.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OMe。

68.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%,或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'-OMe。

69.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OMe。

70.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

71.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%,或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

72.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

73.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OR。

74.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%,或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'OR,其中R不是-H。

75.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OR。

76.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个

(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

77.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-MOE修饰的经修饰的糖。

78.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

79.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从第一结构域的5'-末端计的前约1-5个,例如1、2、3、4或5个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

80.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从第一结构域的5'-末端计的前约1-5个,例如1、2、3、4或5个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

81.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

82.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH_2修饰的经修饰的糖。

83.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

84.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

85.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

86.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

87.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

88.如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中没有糖包含2'-OR。

89.如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中没有糖包含2'-OMe。

90.如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中没有糖包含2'OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

91.如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中的每个糖包含2'-F。

92.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

93.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

94.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

95.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

96.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

97.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

98.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

99.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。

100.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

101.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

102.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40

或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。

103.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。

104.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

105.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

106.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

107.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

108.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。

109.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

110.如实施例1-108中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

111.如实施例1-108和110中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

112.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

113.如实施例1-111中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

114.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域可以将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

115.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域可以使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

116.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。

117.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域基本上不与ADAR的第二RBD结构域接触。

118.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域基本上不与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。

119.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

120.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约1-7个核碱基的长度。

121.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约5-15个核碱基的长度。

122.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约10-25个核碱基的长度。

123.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约15个核碱基的长度。

124.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

125.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个或更多个错配。

126.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个且不多于一个错配。

127.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个且不多于两个错配。

128.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

129.如实施例128所述的寡核苷酸,其中每个凸起独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摆动对的碱基对。

130.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动对。

131.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个或更多个摆动对。

132.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个且不多于两个摆动对。

133.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与靶核酸完全互补。

134.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含与靶腺苷相反的核苷。

135.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是任选地经取代的或被保护的U,或是U的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

136.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是U。

137.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是任选地经取代的或被保护的C,或是C的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

138.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是C。

139.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是任选地经取代的或被保护的A,或是A的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

140.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是A。

141.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是任选地经取代的或被保护的假异胞嘧啶的核碱基,或是该假异胞嘧啶的核碱基的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

142.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该相反核碱基是假异胞嘧啶的核碱基。

143.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含核碱基BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

144.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含核碱基BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

145.如实施例134所述的寡核苷酸,其中该核碱基是BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

146.如实施例143-145中任一项所述的寡核苷酸,其中与U相比,BA与腺苷的靶腺嘌呤具有较弱的氢键结合。

147.如实施例143-146中任一项所述的寡核苷酸,其中与U相比,BA与腺苷的靶腺嘌呤形成较少的氢键。

148.如实施例143-147中任一项所述的寡核苷酸,其中BA与ADAR的一个或多个氨基酸残基形成一个或多个氢键,这些残基与和靶腺苷相反的U形成一个或多个氢键。

149.如实施例143-148中任一项所述的寡核苷酸,其中BA与ADAR的每个氨基酸残基形成一个或多个氢键,该每个氨基酸残基与和靶腺苷相反的U形成一个或多个氢键。

150.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA包含 $-\!-\!-X^2-\!-\!-X^3-\!-\!-$。

151.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA包含

$=\!=\!=X^2=\!=\!=X^3=\!=\!=X^4=\!=\!=$。

152.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA包含$-X^1(=\!=\!=)=\!=\!=X^2=\!=\!=X^3=\!=\!=$。

153.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA包含$-X^1(=\!=\!=)=\!=\!=X^2=\!=\!=X^3=\!=\!=X^4=\!=\!=$。

154.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I的结构。

155.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-a的结构。

156.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-b的结构。

157.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-c的结构。

158.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-d的结构。

159.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II的结构。

160.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-a的结构。

161.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-b的结构。

162.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-c的结构。

163.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-d的结构。

164.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III的结构。

165.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-a的结构。

166.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-b的结构。

167.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-c的结构。

168.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-d的结构。

169.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-e的结构。

170.如实施例169所述的寡核苷酸,其中W^{X2}是O。

171.如实施例169-170中任一项所述的寡核苷酸,其中W^{X6}是O。

172.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是-H。

173.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}不是-H。

174.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是卤素。

175.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是-F。

176.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是-CN或$-NO_2$。

177.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}

(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

178.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

179.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

180.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-4}脂肪族基。

181.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-4}脂肪族基。

182.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-4}脂肪族基。

183.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-3}脂肪族基。

184.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-3}脂肪族基。

185.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-3}脂肪族基。

186.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-2}脂肪族基。

187.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-2}脂肪族基。

188.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-2}脂肪族基。

189.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

190.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

191.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

192.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-4}烷基。

193.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-4}烷基。

194.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-4}烷基。

195.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-3}烷基。

196.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的C_{1-3}烷基。

197.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-3}烷基。

198.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-2}烷基。

199.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是任选地被卤素取代的

C_{1-2}烷基。

200.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是C_{1-2}烷基。

201.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是甲基。

202.如实施例169-171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B4}是乙基。

203.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是-H。

204.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}不是-H。

205.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是卤素。

206.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是-F。

207.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是-CN或-NO_2。

208.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

209.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

210.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)脂肪族基。

211.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-4}脂肪族基。

212。如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-4}脂肪族基。

213.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-4}脂肪族基。

214.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-3}脂肪族基。

215.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-3}脂肪族基。

216.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-3}脂肪族基。

217.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-2}脂肪族基。

218.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-2}脂肪族基。

219.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-2}脂肪族基。

220.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

221.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

222.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-6}(例如,C_{1-5}、C_{1-4}、C_{1-3}、C_{1-2}、C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6等)烷基。

223.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-4}烷基。

224.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的

C_{1-4}烷基。

225.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-4}烷基。

226.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-3}烷基。

227.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-3}烷基。

228.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-3}烷基。

229.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-2}烷基。

230.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是任选地被卤素取代的C_{1-2}烷基。

231.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是C_{1-2}烷基。

232.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是甲基。

233.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是乙基。

234.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是-C≡CH。

235.如实施例169-202中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{B5}是-C≡CCH_3。

236.如实施例143-235中任一项所述的寡核苷酸,其中当X^1、X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{1'}$、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-时,它们中的每个独立地且任选地被取代。

237.如实施例150-236中任一项所述的寡核苷酸,其中X^1是-N(-)-。

238.如实施例150-236中任一项所述的寡核苷酸,其中X^1是-C(-)=。

239.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(O)-。

240.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(S)-。

241.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(Se)-。

242.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(R^{B2})=。

243.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是任选地经取代的-CH=。

244.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(OR^{B2})=。

245.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(OR^{B2})=,其中R^{B2}是-L^{B2}-R'。

246.如实施例150-238中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-N=。

247.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-N(R^{B3})-,其中R^{B3}是-L^{B3}-R'。

248.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-NR'-。

249.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是任选地经取代的-NH-。

250.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-NH-。

251.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-C(R^{B2})=。

252。如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是任选地经取代的-CH=。

253.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-CH=。

254.如实施例150-246中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-N=。

255.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(R^{B4})=、-C(-N(R^{B4})$_2$)=、-C(R^{B4})$_2$-或-C(=NR^{B4})-。

256.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(R^{B4})=。

257.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(R^{B4})=,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

258.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(R^{B4})=,其中R^{B4}是任选地经取代的C_{1-6}烷基。

259.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-CH=。

260.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CH=。

261.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CF=。

262.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CCl=。

263.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CBr=。

264.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CI=。

265.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(CH_3)=。

266.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-N(R^{B4})$_2$)=。

267.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-N(R^{B4})$_2$)=,其中每个R^{B4}独立地是-L^{B4}-R^{B41}。

268.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-C(-NH_2)=。

269.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-NH_2)=。

270.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-N=CHNR_2)=。

271.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-N=CHN(CH_3)$_2$)=。

272.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-NHR')=。

273.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-NHC(O)R)=。

274.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(-NHAc)=。

275.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(R^{B4})$_2$-。

276.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-CH_2-。

277.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-CH_2-。

278.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-C(O)-。

279.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-C(S)-。

280.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-C(Se)-。

281.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是任选地经取代的-C(=NH)-。

282.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(=NR^{B4})-。

283.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(O)=,其中氧原子具有比U中的相应-C(O)-弱的氢键受体。

284.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(O)=,其中氧原子形成分子内氢键。

285.如实施例150-254中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(O)=,其中氧原子与同一核碱基内的氢形成氢键。

286.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(R^{B5})$_2$-。

287.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是任选地经取代的-CH_2-。

288.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CH_2-。

289。如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(R^{B5})=。

290.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(R^{B5})=,其中R^{B5}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

291.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(R^{B5})=,其中R^{B5}是C_{1-6}脂肪族基。

292.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是任选地经取代的-CH=。

293.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CH=。

294.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(CH_3)=。

295.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(CH_2CH_3)=。

296.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(CH≡CH)=。

297.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(CH≡CCH_3)=。

298.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CF=。

299.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CCl=。

300.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CBr=。

301.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-CI=。

302.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(CN)=。

303.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(NO_2)=。

304.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(-L^{B5}-R^{B51})=,其中R^{B51}是-R’、-N(R’)$_2$、-OR’或-SR’。

305.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(-L^{B5}-R^{B51})=,其中R^{B51}是-N(R’)$_2$、-OR’或-SR’。

306.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-C(-L^{B5}-R^{B51})=,其中R^{B51}是-NHR’。

307.如实施例299-306中任一项所述的寡核苷酸,其中L^{B5}是或包含-C(O)。

308.如实施例159-285中任一项所述的寡核苷酸,其中X^5是-N=。

309.如实施例306-307中任一项所述的寡核苷酸,其中X^4是-C(O)=,其中氧原子与R^{B51}中的-NHR’、-OH或-SH的氢形成氢键。

310.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV的结构。

311.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV-a的结构。

312.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV-b的结构。

313.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V的结构。

314.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V-a的结构。

315.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V-b的结构。

316.如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-VI的结构。

317.如实施例310-316中任一项所述的寡核苷酸,其中当X^1、X^2、X^3、X^4、X^5、X^6、$X^{1'}$、$X^{2'}$、$X^{3'}$、$X^{4'}$、$X^{5'}$、$X^{6'}$和$X^{7'}$是-CH=、-C(OH)=、-C(-NH_2)=、-CH_2-、-C(=NH)-或-NH-时,它们中的每个独立地且任选地被取代。

318.如实施例310-317中任一项所述的寡核苷酸,其中X^1是-N(-)-。

319.如实施例310-317中任一项所述的寡核苷酸,其中X^1是-C(-)=。

320.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是任选地经取代的-CH=。

321.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-CH=。

322.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-N=。

323.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(O)-。

324.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(S)-。

325.如实施例310-319中任一项所述的寡核苷酸,其中X^2是-C(Se)-。

326.如实施例310-325中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-NR'-。

327.如实施例310-325中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是任选地经取代的-NH-。

328.如实施例310-325中任一项所述的寡核苷酸,其中X^3是-NH-。

329.如实施例310-328中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是5元的。

330.如实施例310-328中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是6元的。

331.如实施例310-330中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是6元的。

332.如实施例310-328中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是9元的。

333.如实施例310-328中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是10元的。

334.如实施例332-333中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是双环的。

335.如实施例310-334中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是具有1-5个(例如,1、2、3、4或5个)杂原子的任选地经取代的环。

336.如实施例310-335中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A是具有1-3个杂原子的任选地经取代的环。

337.如实施例336所述的寡核苷酸,其中杂原子是氮。

338.如实施例336-337中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA^A含有两个氮。

339.如实施例336-337中任一项所述的寡核苷酸,其中杂原子是氧。

340.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-C(R^{B6})=、-C(OR^{B6})=、-C(R^{B6})$_2$-或-C(O)-。

341.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-C(R)=、-C(R)$_2$-或-C

(O)-。

342.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是任选地经取代的-CH=。

343.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-CH=。

344.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-N=。

345.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是任选地经取代的-CH_2-。

346.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-CH_2-。

347.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-C(O)-。

348.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-C(S)-。

349.如实施例164-339中任一项所述的寡核苷酸,其中X^6是-C(Se)-。

350.如实施例134-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA包含$-X^{4'}-X^{5'}-$。

351.如实施例143-149或350中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-VI的结构。

352.如实施例350-351中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{1'}$是-N(-)-。

353.如实施例350-351中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{1'}$是-C(-)=。

354.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C(O)-。

355.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C(S)-。

356.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C(Se)-。

357.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是任选地经取代的-CH=。

358.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-CH=。

359.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C($R^{B2'}$)=。

360.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-C(O$R^{B2'}$)=,其中$R^{B2'}$是-$L^{B2'}$-R'。

361.如实施例350-353中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{2'}$是-N=。

362.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-NR'-。

363.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是任选地经取代的-NH-。

364.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-NH-。

365.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-N($R^{B3'}$)-,其中$R^{B3'}$是-$L^{B3'}$-R'。

366.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-N(R')-。

367.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-N(C(O)R)-。

368.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-C($R^{B3'}$)=。

369.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是任选地经取代的-CH=。

370.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-CH=。

371.如实施例350-361中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{3'}$是-N=。

372.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(O)=。

373.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(S)=。

374.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(Se)=。

375.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C($R^{B4'}$)=。

376.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是任选地经取代的-CH=。

377.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-CH=。

378.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C($OR^{B4'}$)=,其中$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。

379.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=。

380.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B4'}$独立地是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。

381.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B4'}$独立地是-H或-C(O)N(R')$_2$。

382.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B4'}$独立地是-H或-C(O)NHR'。

383.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N$HR^{B4'}$)=,其中$R^{B4'}$是-C(O)N(R')$_2$。

384.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N$HR^{B4'}$)=,其中$R^{B4'}$是-C(O)NHR'。

385.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是任选地经取代的苯基。

386.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是任选地经取代的萘基。

387.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是任选地经取代的2-萘基。

388.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是2-萘基。

389.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

390.如实施例384所述的寡核苷酸,其中R'是甲基。

391.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B4'}$独立地是R'。

392.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N($R^{B4'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B4'}$独立地是-H或任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

393.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是任选地经取代的-C(-NH_2)=。

394.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NH_2)=。

395.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NHEt)=。

396.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NHiPr)=。

397.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NHBz)=。

398.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N(CH_3)$_2$)=。

399.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-N=CHN(CH_3)$_2$)=。

400.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NHC(O)NHPh)=。

401.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-C(-NHC(O)NHPh)=。

402.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-$C(R^{B4'})_2$-。

403.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是任选地经取代的-CH_2-。

404.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-$C(=NR^{B4'})$=,其中$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。

405.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-$N(R^{B4'})$-,其中$R^{B4'}$是-$L^{B4'}$-$R^{B41'}$。

406.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是任选地经取代的-NH-。

407.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-NH-。

408.如实施例350-371中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{4'}$是-N=。

409.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是任选地经取代的-NH-。

410.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-NH-。

411.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是任选地经取代的-CH_2-。

412.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-CH_2-。

413.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-C(O)=。

414.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-C(S)=。

415.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-C(Se)=。

416.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-N=。

417.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-$C(R^{B5'})$=。

418.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是任选地经取代的-CH=。

419.如实施例350-408中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{5'}$是-CH=。

420.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-$C(R^{B6'})$=。

421.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是任选地经取代的-CH=。

422.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-CH=。

423.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-$C(R^{B6'})_2$-。

424.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是任选地经取代的-CH_2-。

425.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(O)=。

426.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(S)=。

427.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(Se)=。

428.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-N=。

429.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-$C(-N(R^{B6'})_2)$=,其中每个$R^{B6'}$独立地是-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$。

430.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-$C(-N(R')_2)$=。

431.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(-NHR')=。

432.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(-NH_2)=。

433.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C($OR^{B6'}$)=,其中$R^{B6'}$是-$L^{B6'}$-$R^{B61'}$。

434.如实施例350-419中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{6'}$是-C(OR')=。

435.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C($R^{B7'}$)=。

436.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是任选地经取代的-CH=。

437.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-CH=。

438.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C($OR^{B7'}$)=,其中$R^{B7'}$是-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$。

439.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C($R^{B7'}$)$_2$-。

440.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是任选地经取代的-CH_2-。

441.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-N($R^{B7'}$)$_2$)=,其中每个$R^{B7'}$独立地是-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$。

442.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-N(R')$_2$)=。

443.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-NH_2)=。

444.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-NHR')=。

445.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-NHC(O)R)=。

446.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-C(-NHC(O)CH_3)=。

447.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-N($R^{B7'}$)-,其中每个$R^{B7'}$独立地是-$L^{B7'}$-$R^{B71'}$。

448.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是任选地经取代的-NH-。

449.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-NH-。

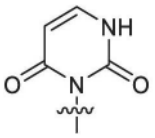
450.如实施例350-434中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{7'}$是-N=。

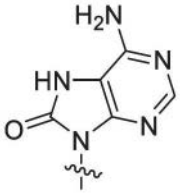
451.如实施例350-450中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{8'}$是C。

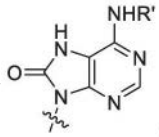
452.如实施例350-450中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{8'}$是N。

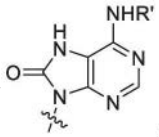
453.如实施例350-452中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{9'}$是C。

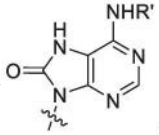
454.如实施例350-452中任一项所述的寡核苷酸,其中$X^{9'}$是N。

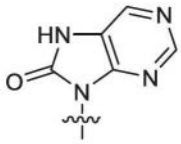
455.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

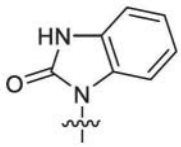
456.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

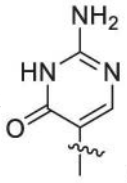
457.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

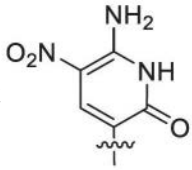
458.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是,其中R'是-C(O)R。

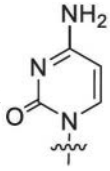
459.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是,其中R'是-C(O)Ph。

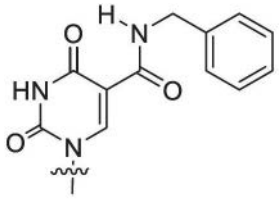
460.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

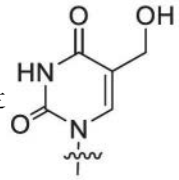
461.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

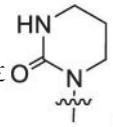
462.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

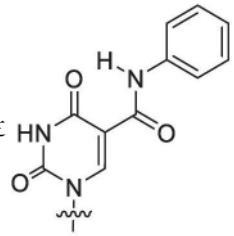
463.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

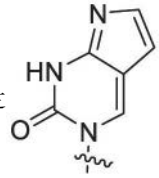
464.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

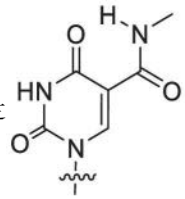
465.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

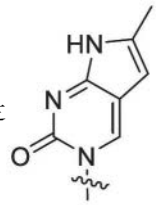
466.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

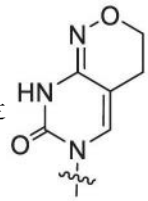
467.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

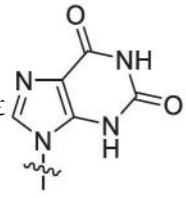
468.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

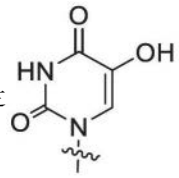
469.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

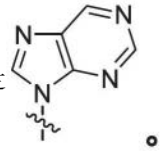
470.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

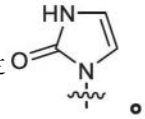
471.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

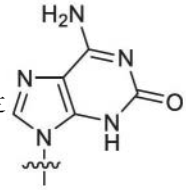
472.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

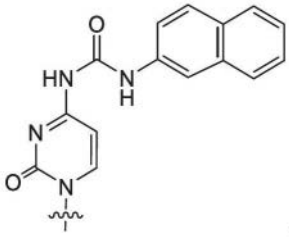
473.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

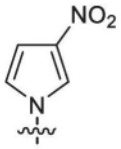
474.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

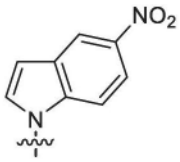
475.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

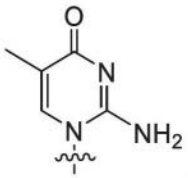
476.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

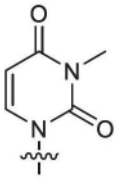
477.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

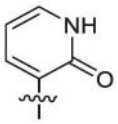
478.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

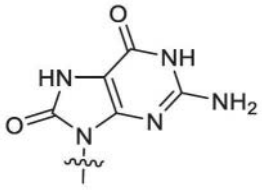
479.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

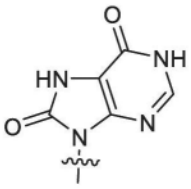
480.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

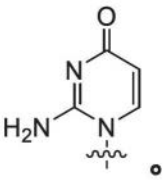
481.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

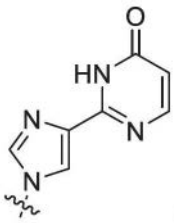
482.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

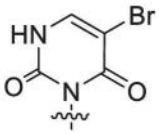
483.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

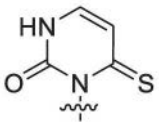
484.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

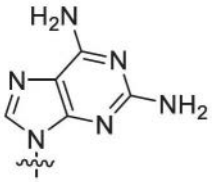
485.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

486.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

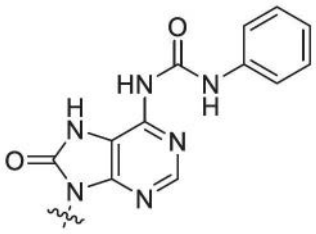
487。如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

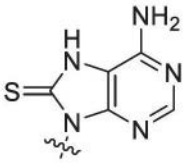
488.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

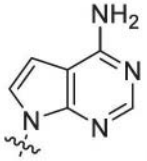
489.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

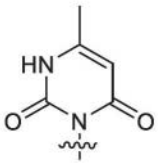
490.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

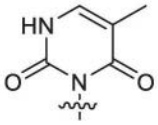
491.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是

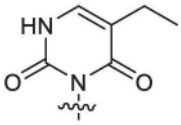


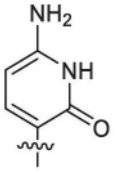
492.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

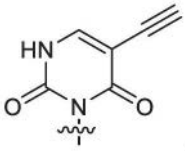
493.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

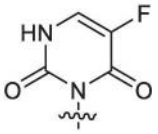
494.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

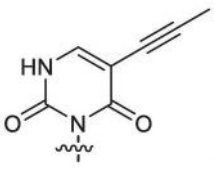
495.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

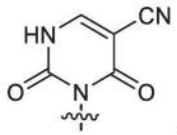
496.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

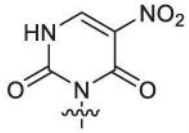
497.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

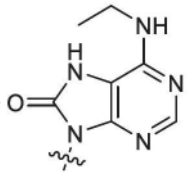
498.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

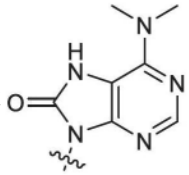
499.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

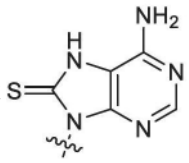
500.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

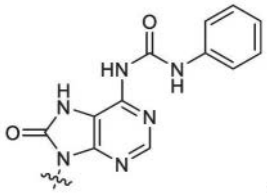
501.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

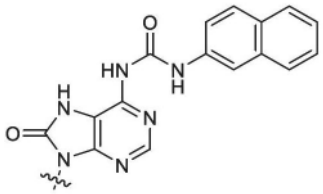
502.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

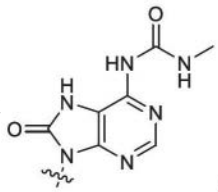
503.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

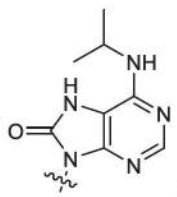
504.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

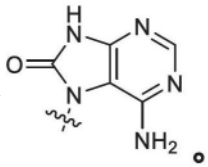
505.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

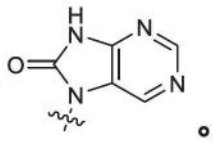
506.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

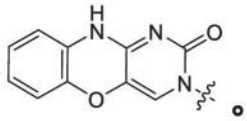
507.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

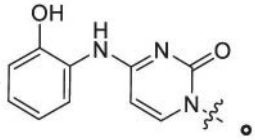
508.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

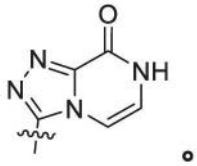
509.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

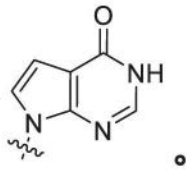
510.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

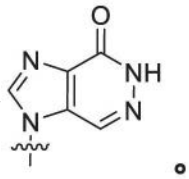
511.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

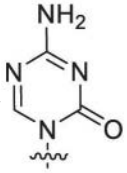
512.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

513.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

514.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

515.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

516.如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

517。如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA是。

518.

519.如实施例143-513中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是环BA或其互变异构体。

520.如实施例143-513中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是经取代的环BA或其互变异构体。

521.如实施例143-513中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=、-CH_2-和-NH-任选地且独立地被取代。

522.如实施例143-513中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=和-CH_2-任选地且独立地被取代。

523.如实施例143-513中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=任选地且独立地被取代。

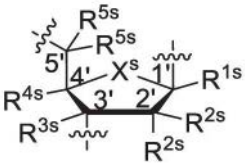
524。如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含糖,该糖包含具有0-2个(0、1或2个)杂原子的6元环。

525.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含双环糖。

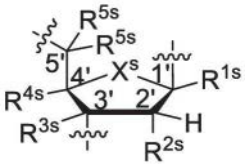
526.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含LNA糖。

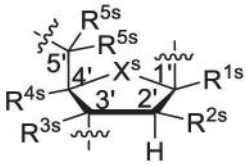
527.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含cEt糖。

528.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含(S)-cEt糖。

529.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含具有的结构的糖。

530.如实施例529所述的寡核苷酸,其中每个R^{2s}独立地是-H、-F、-OH或$-OR^{ak}$,其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

531.如实施例529-530中任一项所述的寡核苷酸,其中该糖具有的结构。

532.如实施例529-531中任一项所述的寡核苷酸,其中该糖具有的结构。

533.如实施例529-532中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{1s}是-H。

534.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-H。

535.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-F。

536.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-OH。

537.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是$-OR^{ak}$,其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

538.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-OMe。

539.如实施例529-533中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是$-OCH_2CH_2OCH_3$。

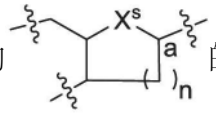
540.如实施例529-539中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{3s}是-H。

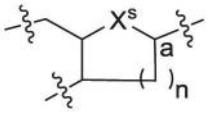
541.如实施例529-540中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{4s}是-H。

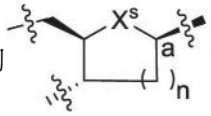
542.如实施例529-541中任一项所述的寡核苷酸,其中一个出现的R^{5s}是-H。

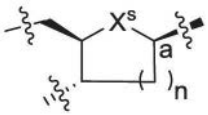
543.如实施例529-542中任一项所述的方法,其中另一个出现的R^{5s}是-H。

544.如实施例529-542中任一项所述的寡核苷酸,其中另一个出现的R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

545.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含作为任选地经取代的的糖,其中位置a与核碱基键合,其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

546.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含作为的糖,其中位置a与核碱基键合,其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

547.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含作为任选地经取代的的糖,其中位置a与核碱基键合,其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

548.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含作为的糖,其中位置a与核碱基键合,其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

549.如实施例545-548中任一项所述的寡核苷酸,其中n是0。

550.如实施例545-548中任一项所述的寡核苷酸,其中n是1。

551.如实施例545-548中任一项所述的寡核苷酸,其中n是2。

552.如实施例545-548中任一项所述的寡核苷酸,其中n是3。

553.如实施例529-552中任一项所述的寡核苷酸,其中X^s是-O-。

554.如实施例529-552中任一项所述的寡核苷酸,其中X^s是-S-。

555.如实施例529-552中任一项所述的寡核苷酸,其中X^s是任选地经取代的$-CH_2-$。

556.如实施例529-552中任一项所述的寡核苷酸,其中X^s是$-CH_2-$。

557.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

558.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%

等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

559.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

560.如实施例139-559中任一项所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

561.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

562.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

563.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

564.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

565.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH_2修饰的经修饰的糖。

566.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

567.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

568.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

569.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

570.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个

2'-H的糖。

571.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

572.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

573.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

574.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

575.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

576.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

577.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

578.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。

579.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

580.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

581.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间

键联是手性控制的。

582.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。

583.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

584.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

585.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

586.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

587.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp,或者其中该第二结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

588.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

589.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

590.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

591.如实施例1-589中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

592.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域可以将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

593.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域可以使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

594.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有酶活性的结构域接触。

595.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

596.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

597.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域从5'到3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。

598.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域从5'到3'由第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域组成。

599.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域具有约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

600.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域具有约10-20个(例如,约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个)核碱基的长度。

601.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

602.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个或更多个错配。

603.如实施例1-601中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个且不多于一个错配。

604.如实施例1-601中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个且不多于两个错配。

605.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

606.如实施例605所述的寡核苷酸,其中每个凸起独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摆动对的碱基对。

607.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动对。

608.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个或更多个摆动对。

609.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个且不多于两个摆动对。

610.如实施例1-599中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域与靶核酸完全互补。

611.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

612.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

613.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

614.如实施例611-613中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

615.如实施例611-613中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

616.如实施例611-613中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-

100％(例如,约50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

617.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

618.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH_2修饰的经修饰的糖。

619.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

620.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

621.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

622.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

623.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

624.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

625.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

626.如实施例597-616中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰。

627.如实施例626所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。

628.如实施例626所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OMe。

629.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含具有约3-8个核碱基的长度的5'-末端部分。

630.如实施例629所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分具有约3-6个核碱基的长度。

631.如实施例629或630所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分包含该第一子结构域的5'-末端核碱基。

632.如实施例629-631中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

633.如实施例632所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

634.如实施例632所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖中的一个或多个独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

635.如实施例632所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖中的一个或多个独立地是2'-F或2'-OMe。

636.如实施例629-635中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分包含一个或多个错配。

637.如实施例629-636中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分包含一个或多个摆动。

638.如实施例629-637中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。

639.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含具有约3-8个核碱基的长度的3'-末端部分。

640.如实施例639所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分具有约1-3个核碱基的长度。

641.如实施例639或640所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含该第一子结构域的3'-末端核碱基。

642.如实施例639-641中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

643.如实施例642所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

644.如实施例642所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖中的一个或多个独立地包含2'-F。

645.如实施例642-644中任一项所述的寡核苷酸,其中没有经修饰的糖包含2'-OMe。

646.如实施例639-645中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分的每个糖独

立地包含两个2'-H或2'-F修饰。

647.如实施例629-635中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含一个或多个错配。

648.如实施例629-636中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含一个或多个摆动。

649.如实施例629-637中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。

650.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

651.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

652.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

653.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

654.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

655.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

656.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

657.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸

间键联是手性控制的。

658.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。

659.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

660.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

661.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

662.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。

663.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

664.如实施例1-663中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

665.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

666.如实施例1-664中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

667.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域可以将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

668.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域可以使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

669.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域与具有酶活性

的结构域接触。

670.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

671.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

672.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域具有约1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核碱基的长度。

673.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域具有约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)核碱基的长度。

674.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域具有约1、2或3个核碱基的长度。

675.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域具有3个核碱基的长度。

676.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含与靶腺苷相反的核苷。

677.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个且不超过一个与靶腺苷相反的核苷。

678.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

679.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个或更多个错配。

680.如实施例1-678中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个且不多于一个错配。

681.如实施例1-678中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个且不多于两个错配。

682.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

683.如实施例682所述的寡核苷酸,其中每个凸起独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摆动对的碱基对。

684.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动对。

685.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个或更多个摆动对。

686.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个且不多于两个摆动对。

687.如实施例1-677中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域与靶核酸完

全互补。

688.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。

689.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。

690.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含约1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)经修饰的糖。

691.如实施例690所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

692.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域不含包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

693.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域不含包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

694.如实施例690所述的寡核苷酸,其中每个2'-修饰的糖是包含2'-F修饰的糖。

695.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是无环糖(例如,UNA糖)。

696.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖包含两个2'-H。

697.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖包含2'-OH。

698.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是天然DNA糖。

699.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖被修饰。

700.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm04。

701.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm11。

702.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm12。

703.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm13。

704.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm14。

705.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm15。

706.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm16。

707.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm17。

708.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm18。

709.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是sm19。

710.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖包含具有0-2个(0、1或2个)杂原子的6元环。

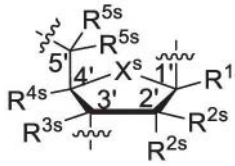
711.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是双环糖。

712.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是LNA糖。

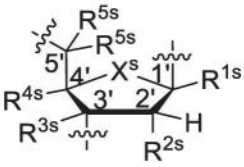
713.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是cEt糖。

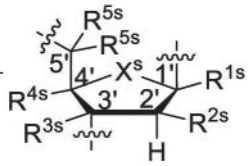
714.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是(S)-cEt

糖。

715.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖具有的结构。

716.如实施例715所述的寡核苷酸,其中每个R^{2s}独立地是-H、-F、-OH或-OR^{ak},其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

717.如实施例715-716中任一项所述的寡核苷酸,其中该糖具有的结构。

718.如实施例715-716中任一项所述的寡核苷酸,其中该糖具有的结构。

719.如实施例715-718中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{1s}是-H。

720.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-H。

721.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-F。

722.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-OH。

723.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-OR^{ak},其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

724.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-OMe。

725.如实施例715-719中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{2s}是-$OCH_2CH_2OCH_3$。

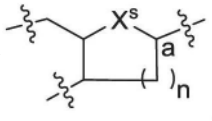
726.如实施例715-725中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{3s}是-H。

727.如实施例715-726中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{4s}是-H。

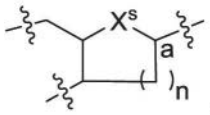
728.如实施例715-727中任一项所述的寡核苷酸,其中一个出现的R^{5s}是-H。

729.如实施例715-728中任一项所述的方法,其中另一个出现的R^{5s}是-H。

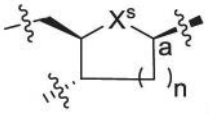
730.如实施例715-728中任一项所述的寡核苷酸,其中另一个出现的R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

731.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是任选地经取代的,其中位置a与核碱基键合,其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

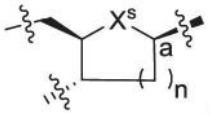
732.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是



，其中位置a与核碱基键合，其中X^s是-O-、-S-或-Se-，并且n是0、1、2或3。

733.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸，其中该相反核苷的糖是任选地经取代的

，其中位置a与核碱基键合，其中X^s是-O-、-S-或-Se-，并且n是0、1、2或3。

734.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸，其中该相反核苷的糖是

，其中位置a与核碱基键合，其中X^s是-O-、-S-或-Se-，并且n是0、1、2或3。

735.如实施例731-734中任一项所述的寡核苷酸，其中n是0。

736.如实施例731-734中任一项所述的寡核苷酸，其中n是1。

737.如实施例731-734中任一项所述的寡核苷酸，其中n是2。

738.如实施例731-734中任一项所述的寡核苷酸，其中n是3。

739.如实施例715-738中任一项所述的寡核苷酸，其中X^s是-O-。

740.如实施例715-738中任一项所述的寡核苷酸，其中X^s是-S-。

741.如实施例715-738中任一项所述的寡核苷酸，其中X^s是任选地经取代的-CH_2-。

742.如实施例715-738中任一项所述的寡核苷酸，其中X^s是-CH_2-。

743.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸，其中该相反核苷的糖包含2'-F。

744.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-...N_1N_0...3'中的N_1的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含两个2'-H。

745.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-...N_1N_0...3'中的N_1的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含2'-OH。

746.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-...N_1N_0...3'中的N_1的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)是天然DNA糖。

747.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-...N_1N_0...3'中的N_1的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含2'-F。

748。如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-...N_0N_{-1}...3'中的N_{-1}的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含两个2'-H。

749.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-...N_0N_{-1}...3'中的N_{-1}的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含2'-OH。

750.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-...N_0N_{-1}...3'中的N_{-1}的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)是天然DNA糖。

751.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中与该相反核苷3'-相邻的核苷的糖(5-...N_0N_{-1}...3'中的N_{-1}的糖，其中当与靶标比对时，N_0与靶腺苷相反)包含2'-F。

752.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸，其中该相反核苷的糖、与该相反核

苷5’-相邻的核苷的糖(5’-...N_1N_0…3’中的N_1的糖,其中当与靶标比对时,N_0与靶腺苷相反)和与该相反核苷3’-相邻的核苷的糖(5’-...N_0N_{-1}...3’中的N_{-1}的糖,其中当与靶标比对时,N_0与靶腺苷相反)中的每个独立地是天然DNA糖。

753.如实施例1-693中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷的糖是天然DNA糖,与该相反核苷5’-相邻的核苷的糖(5’-...N_1N_0...3’中的N_1的糖,其中当与靶标比对时,N_0与靶腺苷相反)是2’-F修饰的糖,并且与该相反核苷3’-相邻的核苷的糖(5’-...N_0N_{-1}...3’中的N_{-1}的糖,其中当与靶标比对时,N_0与靶腺苷相反)是天然DNA糖。

754.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含连接到该相反核苷的5’-侧的5’-末端部分。

755.如实施例751所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该5’-末端部分包含一个或多个错配或摆动。

756.如实施例751或755所述的寡核苷酸,其中该5’-末端部分具有1、2或3个核碱基的长度。

757.如实施例751-756中任一项所述的寡核苷酸,其中该5’-末端部分的糖选自具有两个2’-H的糖(例如,天然DNA糖)和2’-F修饰的糖。

758.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含连接到该相反核苷的3’-侧的3’-末端部分。

759.如实施例758所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3’-末端部分包含一个或多个错配或摆动。

760.如实施例758所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3’-末端部分包含一个或多个错配和/或摆动。

761.如实施例758所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3’-末端部分包含一个或多个摆动。

762.如实施例758所述的寡核苷酸,其中该3’-末端部分包含I或其衍生物。

763.如实施例758所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3’-末端部分包含I和1-C摆动。

764.如实施例758-763中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-末端部分具有1、2或3个核碱基的长度。

765.如实施例758-764中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-末端部分的糖选自具有两个2’-H的糖(例如,天然DNA糖)和2’-F修饰的糖。

766.如实施例758-764中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-末端部分的糖是具有两个2’-H的糖(例如,天然DNA糖)。

767.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含约1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

768.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、

70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

769.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

770.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

771.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

772.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

773.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。

774.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。

775.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

776.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

777.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、

40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Rp。

778.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。

779.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

780.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

781.如实施例1-779中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

782.如实施例1-779中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷通过天然磷酸酯键联连接到其5'紧邻核苷。

783.如实施例1-781中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其5'紧邻核苷。

784.如实施例1-783中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷。

785.如实施例1-784中任一项所述的寡核苷酸,其中与相反核苷(位置0)3'紧邻的核苷(位置-1)通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷(位置-2)。

786.如实施例783-785中任一项所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。

787.如实施例783-786中任一项所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

788.如实施例783-786中任一项所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

789.如实施例783-786中任一项所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。

790.如实施例786-789中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是手性控制的。

791.如实施例786-790中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是Rp。

792.如实施例786-790中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是Sp。

793.如实施例782-792中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'紧邻核苷包含经修饰的糖。

794.如实施例782-792中任一项所述的寡核苷酸,其中该5’紧邻核苷包含含有2’-F修饰的经修饰的糖。

795.如实施例782-792中任一项所述的寡核苷酸,其中该5’紧邻核苷包含含有两个2’-H的糖(例如,天然DNA糖)。

796.如实施例1-779和781-795中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷通过天然磷酸酯键联连接到其3’紧邻核苷。

797.如实施例1-779和781-795中任一项所述的寡核苷酸,其中该相反核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3’紧邻核苷。

798.如实施例797所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。

799.如实施例797或798所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

800.如实施例797或798所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

801.如实施例797或798所述的寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。

802.如实施例798-801中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是手性控制的。

803.如实施例798-802中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是Rp。

804.如实施例798-802中任一项所述的寡核苷酸,其中该手性核苷酸间键联是Sp。

805.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’紧邻核苷包含经修饰的糖。

806.如实施例804所述的寡核苷酸,其中该3’紧邻核苷包含含有2’-F修饰的经修饰的糖。

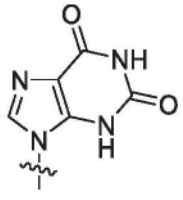
807.如实施例804所述的寡核苷酸,其中该3’紧邻核苷包含含有两个2’-H的糖(例如,天然DNA糖)。

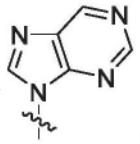
808.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-紧邻核苷包含不是G的碱基。

809.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-紧邻核苷包含空间位阻小于G的碱基。

810.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该3’-紧邻核苷包含核碱基,该核碱基是或包含具有式BA-VI的结构的环BA。

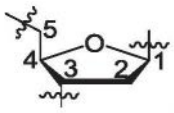
811.如实施例808-810中任一项所述的寡核苷酸,其中BA是如实施例352-523中任一项所述的环BA。

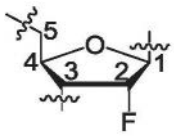
812.如实施例808-811中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基是。

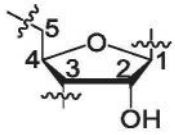
813.如实施例808-811中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基是。

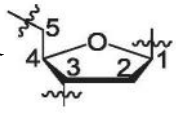
814.如实施例808-811中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基是次黄嘌呤。

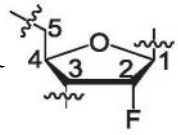
815.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中靶核酸包含5'-CA-3',其中A是靶腺苷。

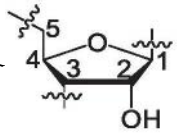
816.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中5'紧邻核苷中的糖是或包含。

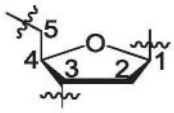
817.如实施例1-815中任一项所述的寡核苷酸,其中5'紧邻核苷中的糖是或包含。

818.如实施例1-815中任一项所述的寡核苷酸,其中5'紧邻核苷中的糖是或包含。

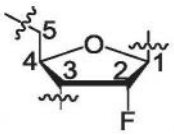
819.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相反的核苷中的糖是或包含。

820.如实施例1-818中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相反的核苷中的糖是或包含。

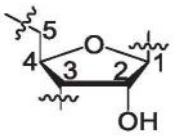
821.如实施例1-818中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相反的核苷中的糖是或包含。

822.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中3'紧邻核苷中的糖是或包含。

823.如实施例1-821中任一项所述的寡核苷酸,其中3'紧邻核苷中的糖是或包含



824.如实施例1-821中任一项所述的寡核苷酸,其中3'-紧邻核苷中的糖是或包含



825.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域可以将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸.

826.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域可以使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

827.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域与具有酶活性的结构域接触。

828.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

829.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

830.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域具有约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

831.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域具有约1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核碱基的长度。

832.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

833.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含两个或更多个错配。

834.如实施例1-832中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含一个且不多于一个错配。

835.如实施例1-832中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含两个且不多于两个错配。

836.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

837.如实施例836所述的寡核苷酸,其中每个凸起独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摆动对的碱基对。

838.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互

补性比对时,该第三子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摆动对。

839.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含两个或更多个摆动对。

840.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第三子结构域包含两个且不多于两个摆动对。

841.如实施例1-831中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域与靶核酸完全互补。

842.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10一约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

843.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

844.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

845.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

846.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-

85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

847.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50％-100％(例如,约50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

848.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-$N(R)_2$修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

849.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH_2修饰的经修饰的糖。

850.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

851.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

852.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

853.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

854.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

855.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

856.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-

OMe修饰的经修饰的糖.

857.如实施例1-847中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰。

858.如实施例857所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。

859.如实施例857所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OMe。

860.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含具有约1-8个核碱基的长度的5'-末端部分。

861.如实施例860所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分具有约1、2或3个核碱基的长度

862.如实施例860或861所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分与该第二子结构域键合。

863.如实施例860-862中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

864.如实施例863所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)$_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基.

865.如实施例863所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖中的一个或多个独立地包含2'-F。

866.如实施例860-862中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分的一个或多个糖独立地包含两个2'-H(例如,天然DNA糖)。

867.如实施例860-866中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分的一个或多个糖独立地包含2'-OH(例如,天然RNA糖)。

868.如实施例860-862中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分的糖独立地包含两个2'-H(例如,天然DNA糖)或2'-OH(例如,天然RNA糖)。

869.如实施例860-862中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分的糖独立地是天然DNA或RNA糖。

870.如实施例860-869中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分包含一个或多个错配。

871.如实施例860-870中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分包含一个或多个摆动。

872.如实施例860-871中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。

873.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含具有约1-8个核碱基的长度的3'-末端部分。

874.如实施例873所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分具有约1、2、3或4个核碱基的长度。

875.如实施例873或874所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含该第三子结构域的3'-末端核碱基。

876.如实施例873-875中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

877.如实施例876所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-$N(R)_2$修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

878.如实施例876-877中任一项所述的寡核苷酸,其中一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。

879.如实施例876-877中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%的糖独立地包含2'-F。

880.如实施例876-879中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分中的一个或多个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰。

881.如实施例880所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或2'-O-L^B-4'修饰。

882.如实施例880-881中任一项所述的寡核苷酸,其中L^B是任选地经取代的-CH_2-。

883.如实施例880-881中任一项所述的寡核苷酸,其中L^B是-CH_2-。

884.如实施例880所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分中的每个糖独立地包含2'-OMe。

885.如实施例873-884中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含一个或多个错配。

886.如实施例873-885中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分包含一个或多个摆动。

887.如实施例873-886中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-末端部分与靶核酸约60%-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。

888.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

889.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

890.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

891.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

892.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

893.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

894.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

895.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性控制的。

896.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性控制的。

897.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性控制的。

898.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性控制的核苷酸间键联。

899.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

900.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、

50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。

901.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

902.如实施例1-900中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

903.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中连接该第二子结构域的最后一个核苷和该第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

904.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

905.如实施例903-904中任一项所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。

906.如实施例905所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是Rp。

907.如实施例905所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。

908.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

909.如实施例1-907中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

910.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域可以将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

911.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域可以使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

912.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域与具有酶活性的结构域接触。

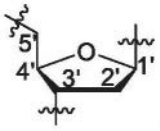
913.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

914.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

915.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个摆动碱基对独立地是G-U、I-A、G-A、I-U、I-C、I-T、A-A或反向A-T。

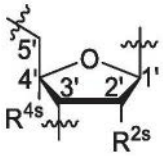
916.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个摆动碱基对独立地是G-U、I-A、G-A、I-U或I-C。

917.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个环糖或每个糖独立地是任

选地经取代的 

。

918.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个环糖或每个糖独立地具有



的结构。

919.如实施例918所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{2s}和R^{4s}是H。

920.如实施例918-919中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{2s}是-OR,并且R^{4s}是H。

921.如实施例918-920中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{2s}是-OR,其中R是任选地经取代的C_{1-4}烷基并且R^{4s}是H。

922.如实施例918-921中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{2s}是-OMe并且R^{4s}是H。

923.如实施例918-922中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{2s}是-F并且R^{4s}是H。

924.如实施例918-923中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{4s}和R^{2s}形成具有任选地经取代的2'-O-CH_2-4'的结构的桥。

925.如实施例918-923中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个糖,其中R^{4s}和R^{2s}形成具有2'-O-CH_2-4'的结构的桥。

926.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含另外的化学部分。

927.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含靶向部分。

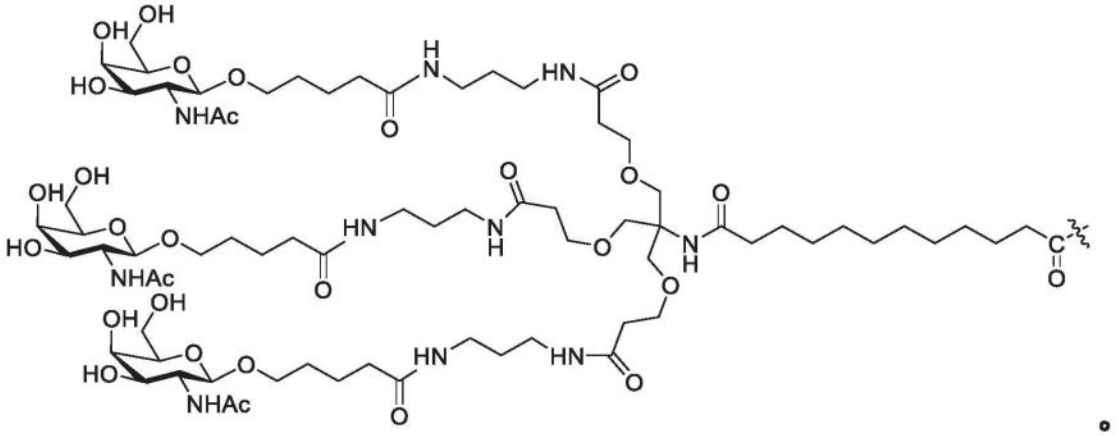
928.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含碳水化合物部分。

929.如实施例926-928中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体。

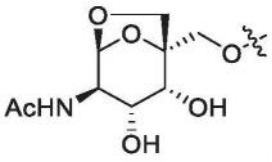
930.如实施例926-929中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含GalNAc或其衍生物。

931.如实施例926-929中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含GalNAc。

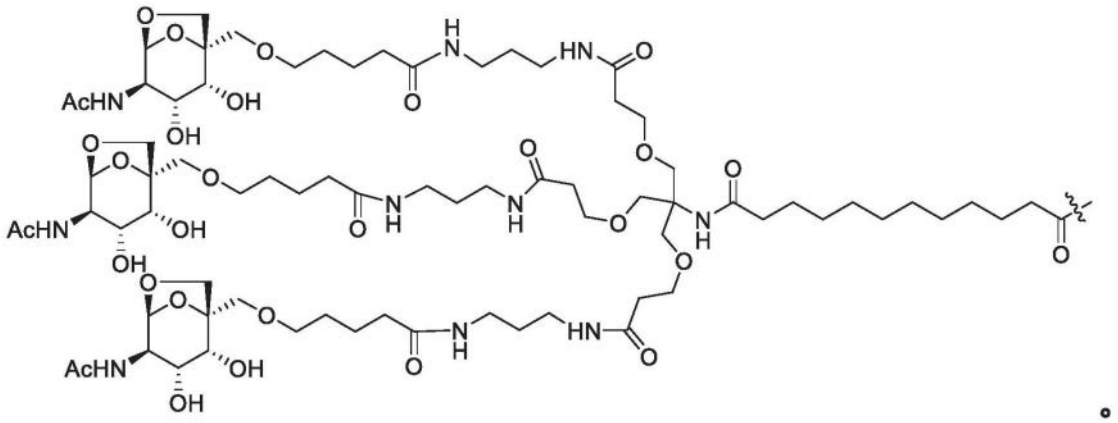
932.如实施例926-930中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含任选地经取代的



933.如实施例926-930中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含任选地经取代的



934.如实施例926-930中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含任选地经取代的



935.如实施例926-934中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分通过接头连接到寡核苷酸链。

936.如实施例935所述的寡核苷酸,其中该接头是或包含L001。

937.如实施例936所述的寡核苷酸,其中L001通过磷酸酯基团连接到寡核苷酸链的5'-末端5'-碳

938.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中另外的化学部分是或包含核酸部分。

939.如实施例938所述的寡核苷酸,其中该核酸是或包含适体。

940.如实施例926-939中任一项所述的寡核苷酸,其中在该寡核苷酸被递送(例如,进入细胞中)之后,该另外的化学部分被切割。

941.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈盐形式。

942.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

943.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈钠盐形式。

944.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈铵盐形式。

945.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中如果有的话,至少一个或每个中性核苷酸间键联独立地是n001。

946.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中如果有的话,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

947.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中不超过5、6、7、8、9、10、11或12个核苷位于与靶腺苷相反的核苷的3'。

948.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中不超过5、6、7、8、9、10、11或12个核苷位于与靶核苷相反的核苷的3',其中这些核苷中的每一个独立地是任选地经取代的A、T、C、G、U或其互变异构体。

949.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位于与靶腺苷相反的核苷的3'的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)的核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。

950.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位于与靶腺苷相反的核苷的3'的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)的核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

951.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶腺苷相反的核苷的3'的不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

952.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶腺苷相反的核苷的3'的不超过1、2或3个核苷酸间键联是Rp核苷酸间键联。

953.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶腺苷相反的核苷的3'的不超过1、2或3个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

954.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶核苷相反的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是位置-1)之间的核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。

955.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶核苷相反的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是位置-1)之间的核苷酸间键联是手性控制的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

956.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶核苷相反的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是位置-1)之间的核苷酸间键联是手性控制的Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联

957.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在其糖的3'-位置(被认为是位置-1)处键合到与靶核苷相反的核苷的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且任选地只有Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联位于与靶腺苷相反的核苷的3'。

958.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在其糖的3'-位置(被认为是位置-1)处键合到与靶核苷相反的核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

959.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在其糖的3'-位置(被认为是位置-1)处键合到与靶核苷相反的核苷的核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键

联。

960.如实施例1-953中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶核苷相反的核苷的3'紧邻核苷与下一个3'紧邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,5'...$N_0N_{-1}N_{-2}$...-3'的N_{-1}与N_{-2}之间的位置-2,其中N_0表示与靶核苷相反的核苷)是不带负电荷的核苷酸间键联。

961.如实施例960所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

962.如实施例960所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。

963.如实施例960所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

964.如实施例960所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

965.如实施例960-964中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

966.如实施例960-964中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

967.如实施例960-964中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025或n026。

968.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

969.如实施例968所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

970.如实施例968所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的。

971.如实施例968所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

972.如实施例968所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

973.如实施例968-972中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

974.如实施例968-972中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

975.如实施例968-972中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

976.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

977.如实施例976所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

978.如实施例976所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控

制的。

979.如实施例976所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

980.如实施例976所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

981.如实施例976-980中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

982.如实施例976-980中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

983.如实施例976-980中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

984.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置-3处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

985.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置-6处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

986.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶核苷相反的核苷的位置-4和/或-5处的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。

987.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相反的核苷在从5'-末端起的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远处。

988.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相反的核苷在从3'-末端起的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远处。

989.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置4。

990.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置5。

991.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置6。

992.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置7。

993.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置8。

994.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置9。

995.如实施例987或988所述的寡核苷酸,其中该位置是位置10。

996.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,位于与靶腺苷相反的核苷的5'的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。

997.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,位于与靶核苷(例如,靶腺苷)相反的核苷的5'的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的硫代磷酸酯核苷酸间键联各自是手性控制的并且是Sp。

998.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在与靶腺苷相反的核苷的5'的没有或不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联

999.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,在相对于与靶核苷相反的核苷的位置+5处的核苷酸间键联(例如,对于...$N_{+5}N_{+4}N_{+3}N_{+2}N_{+1}N_0$...,连接$N_{+4}$和$N_{+5}$的核苷酸间键联,其中$N_0$是与靶核苷相反的核苷)不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1000.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。

1001.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联,其任选地是手性控制的。

1002.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1003.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在相对于与靶腺苷相反的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1004.如前述实施例中任一项所述的寡聚核苷酸,其中该寡聚核苷酸与PiZZ等位基因(例如,atcgacAagaaagggactgaagc)具有约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,或至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的互补性。

1005.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1006.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1007.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1008.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1009.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1010.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1011.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA。

1012.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA。

1013.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1014.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1015.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1016.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1017.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1018.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1019.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA。

1020.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。

1021.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1022.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1023.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1024.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1025.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1026.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1027.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1028.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。

1029.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是

CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。

1030.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1031.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1032.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1033.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

1034.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1035.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1036.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地被T代替并且反之亦然。

1037.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

1038.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

1039.如实施例1-1028中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

1040.如实施例1-1028中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

1041.如实施例1-1028中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU。

1042.如实施例1-1028中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU。

1043.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nfl5U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]和zdnp的核苷的任选地被保护的核碱基,或选自表BA-1的核碱基。

1044.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的核碱基:b014U、b015U、b004A、b005A、b006A和b007A。

1045.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的核碱基:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、

b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A和b007C。

1046.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的核碱基:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nfl5U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]和zdnp。

1047.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的核碱基:b014U、b015U、b004A、b005A、b006A和b007A。

1048.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的核碱基:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A和b007C。

1049.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b001U。

1050.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b002U。

1051.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b003U。

1052.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b004U。

1053.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b005U。

1054.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b006U。

1055.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b007U。

1056.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b008U。

1057.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b009U。

1058.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b011U。

1059.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b012U。

1060.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b013U。

1061.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b014U。

1062.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的

核碱基bO15U。

1063.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b001A。

1064.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b002A。

1065.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b003A。

1066.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b004A。

1067.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b005A。

1068.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b006A。

1069.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b007A。

1070.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b001G。

1071.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b002G。

1072.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b001C。

1073.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b002C。

1074.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b003C。

1075.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b004C。

1076.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b005C。

1077.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b006C。

1078.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b007C。

1079.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b008C。

1080.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b009C。

1081.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b002I。

1082.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b003I。

1083.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b004I。

1084.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基b014I。

1085.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[3nT]。

1086.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[3ne5U]。

1087.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[3nf15U]。

1088.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[3npry5U]。

1089.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[3ncn5U]。

1090.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[napth608A]。

1091.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[ipr608A]。

1092.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[c7In]。

1093.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[c39z48In]。

1094.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[z2c3In]。

1095.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基[z5C]。

1096.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核碱基zdnp。

1097.如实施例1043-1096中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基与天然DNA糖键合。

1098.如实施例1043-1096中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基与天然RNA糖键合。

1099.如实施例1043-1096中任一项所述的寡核苷酸,其中该核碱基与经修饰的糖键合。

1100.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-修饰的糖。

1101.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-F修饰的糖。

1102.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R

是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1103.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。

1104.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

1105.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。

1106.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是LNA糖。

1107.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是无环糖。

1108.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖包含任选地经取代的6元环。

1109.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm04。

1110.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm11。

1111.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm12。

1112.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm13。

1113.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm14。

1114.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm15。

1115.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm16。

1116.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm17。

1117.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm18。

1118.如实施例1099所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是sm19。

1119.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nfl5U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、Csm19、L034、zdnp和Tsm18。

1120.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b014U、b015U、b004A、b005A、b006A和b007A。

1121.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b001Asm15、b004A、b005A、b006A、b014U、b015U、b008Usm15、Csm19、b008Usm19。

1122.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17、Csm19和Tsm18。

1123.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、

b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、Csm19、L034、zdnp和Tsm18。

1124.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b014U、b015U、b004A、b005A、b006A和b007A。

1125.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b001Asm15、b004A、b005A、b006A、b014U、b015U、b008Usm15、Csm19、b008Usm19。

1126.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的任选地被保护的核苷:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17、Csm19和Tsm18。

1127.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含选自以下的核苷的任选地被保护的糖:Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17、Csm19和Tsm18。

1128.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷aC。

1129.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001U。

1130.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b002U。

1131.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b003U。

1132.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b004U。

1133.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b005U。

1134.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b006U。

1135.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b007U。

1136.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b008U。

1137.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b009U。

1138.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b010U。

1139.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的

核苷b011U。

1140.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b012U。

1141.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b013U。

1142.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b014U。

1143.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b015U。

1144.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001A。

1145.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001rA。

1146.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b002A。

1147.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b003A。

1148.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b004A。

1149.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b005A。

1150.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b006A。

1151.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b007A。

1152.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001G。

1153.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b002G。

1154.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001C。

1155.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b002C。

1156.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b003C。

1157.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b003mC。

1158.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b004C。

1159.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b005C。

1160.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b006C。

1161.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b007C。

1162.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b008C。

1163.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b002I。

1164.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b003I。

1165.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b004I。

1166.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b014I。

1167.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3nT]。

1168.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3ne5U]。

1169.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3nf15U]。

1170.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3npry5U]。

1171.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3ncn5U]。

1172.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[napth608A]。

1173.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[ipr608A]。

1174.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[c7In]。

1175.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[c39z48In]。

1176.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[z2c3In]。

1177.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[z5C]。

1178.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的

核苷Asm01。

1179.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Gsm01。

1180.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷5MSfC。

1181.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Usm04。

1182.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷5MRdT。

1183.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm04。

1184.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm11。

1185.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Gsm11。

1186.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Tsm11。

1187.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b009Csm11。

1188.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b009Csm12。

1189.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Gsm12。

1190.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Tsm12。

1191.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm12。

1192.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷rCsm13。

1193.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷rCsm14。

1194.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm15。

1195.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b001Asm15。

1196.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b008Usm15。

1197.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm16。

1198.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm17。

1199.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷b008Usm19。

1200.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Csm19。

1201.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的无碱基核苷。

1202.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的L010。

1203.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷L034。

1204.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷zdnp。

1205.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷Tsm18。

1206.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3nT]。

1207.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3ne5U]。

1208.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3nf15U]。

1209.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3npry5U]。

1210.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[3ncn5U]。

1211.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[nath608A]。

1212.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[ipr608A]。

1213.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[c7In]。

1214.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[c39z48In]。

1215.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[z2c3In]。

1216.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含任选地被保护的核苷[z5C]。

1217.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个任选地被保护的核碱基

或核苷分别独立地是任选地经取代的核碱基或核苷。

1218.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个任选地被保护的或经取代的核碱基或核苷分别是未被保护的或经取代的。

1219.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含具有-Y-P(=W)(-X-R^L)-Z-的结构的核苷酸间键联。

1220.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含具有-Y-P(=W)(-X-R^L)-Z-的结构的核苷酸间键联。

1221.如实施例1219或1220所述的寡核苷酸,其中W是O。

1222.如实施例1219或1220所述的寡核苷酸,其中W是S。

1223.如实施例1219-1222中任一项所述的寡核苷酸,其中Y是-O-。

1224.如实施例1219-1223中任一项所述的寡核苷酸,其中Z是共价键。

1225.如实施例1219-1223中任一项所述的寡核苷酸,其中Z是-O-。

1226.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含含有-X-R^L的核苷酸间键联。

1227.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含含有-X-R^L的核苷酸间键联。

1228.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-N(R')SO_2R",其中R"是R'、-OR'或-N(R')$_2$。

1229.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHSO_2R",其中R"是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1230.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHSO_2R",其中R"是甲基。

1231.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHSO_2R",其中R"是任选地经取代的苯基。

1232.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含n002。

1233.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含n006。

1234.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含n020。

1235.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含-OP(=O)($NHSO_2CH_3$)O-。

1236.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该前一个、两个或三个核苷酸间键联各自独立地是实施例1228-1235中任一项的核苷酸间键联。

1237.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该最后一个、两个或三个核苷酸间键联各自独立地是实施例1228-1235中任一项的核苷酸间键联。

1238.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一个或多个内部核苷酸间键联各自独立地是实施例1228-1235中任一项的核苷酸间键联。

1239.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-N(R')C(O)R",其中R"是R'、-OR'或-N(R')$_2$。

1240.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHC(O)R",其中R"是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1241.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHC(O)R",其

中R”是甲基。

1242.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHC(O)R”,其中R”是任选地经取代的苯基。

1243.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHC(O)R”,其中R”是-OR’。

1244.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-NHC(O)R”,其中R”是-N(R’)$_2$。

1245.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-N(R’)P(O)(R”)$_2$,其中每个R”独立地是R’、-OR’或-N(R’)$_2$。

1246.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L是-N(R’)P(S)(R”)$_2$,其中每个R”独立地是R’、-OR’或-N(R’)$_2$。

1247.如实施例1219-1227中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R^L选自表L-1、L-2、L-3、L-4、L-5或L-6。

1248.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约20%-90%(例如,约20%-80%、20%-70%、30%-90%、30%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%,约30%、40%、50%、60%或70%)是2’-F修饰的糖。

1249.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%,约30%、40%、50%、60%或70%)是2’-F修饰的糖。

1250.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约30%-60%(例如,约40%-60%、30%-50%,约30%、40%、50%、60%或70%)是2’-F修饰的糖。

1251.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约65%是2’-F修饰的糖。

1252.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约70%是2’-F修饰的糖。

1253.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约75%是2’-F修饰的糖。

1254.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约80%是2’-F修饰的糖。

1255.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约85%是2’-F修饰的糖。

1256.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的至少约90%是2’-F修饰的糖。

1257.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约20%-90%(例如,约20%-80%、20%-70%、30%-90%、30%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是2’-OR修饰的糖,其中R不是-H。

1258.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是

2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

1259.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖的约30%-60%(例如,约40%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

1260.如实施例1257-1259中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1261.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

1262.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。

1263.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是双环糖。

1264.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是LNA糖。

1265.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是$_{c}$Et糖。

1266.如实施例1257-1259中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1}-$_{6}$脂肪族基。

1267.如实施例1257-1259中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1268.如实施例1257-1259中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖,其中至少一个是2'-OMe修饰的糖并且至少一个是2'-MOE修饰的糖。

1269.如实施例1257-1259中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

1270.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分离嵌段,其中每个2'-F嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,并且其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是糖而不是2'-F修饰的糖。

1271.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在2个或更多个2'-F嵌段。

1272.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在3个或更多个2'-F嵌段。

1273.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在4个或更多个2'-F嵌段。

1274.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在5个或更多个2'-F嵌段。

1275.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在2个或更多个分离嵌段。

1276.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在3个或更

多个分离嵌段。

1277.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在4个或更多个分离嵌段。

1278.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中存在5个或更多个分离嵌段。

1279.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-修饰的糖。

1280.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的糖独立地是2'-OR糖,其中R不是-H。

1281。如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

1282.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的糖独立地是2'-OR糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1283.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1284.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1285.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1286.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1287.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1288.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1289.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖是2'-OME修饰的糖。

1290.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

1291.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

1292.如实施例1-1278中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

1293.如实施例1-1278中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

1294.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中独立地存在约1-20个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F修饰的糖。

1295.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在

约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。

1296.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。

1297.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2或3个2'-F修饰的糖。

1298.如实施例1270-1297中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分离嵌段中独立地存在约1-20个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)糖。

1299.如实施例1270-1297中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分离嵌段中存在约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖。

1300.如实施例1270-1297中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分离嵌段中存在约1、2、3、4或5个糖。

1301.如实施例1270-1297中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分离嵌段中存在约1、2或3个糖。

1302.如实施例1270-1301中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中与第一结构域中的2'-F嵌段键合的每个嵌段是分离嵌段。

1303.如实施例1270-1302中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中与第一结构域中的分离嵌段键合的每个嵌段是2'-F嵌段。

1304.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含两个或更多个2'-F修饰的糖嵌段,其中每个2'-F修饰的糖嵌段独立地包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的2'-F修饰的糖或由其组成,其中两个连续的2'-F修饰的糖嵌段各自独立地被分离嵌段分离,该分离嵌段包含独立地不是2'-F修饰的糖的一个或多个糖,并且不包含连续的2'-F修饰的糖。

1305.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如,50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或99%等),或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

1306.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域在第二结构域的5'侧处。

1307.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域在第二结构域的3'侧处。

1308.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第二结构域中,该第一子结构域在该第二子结构域的5'侧处,并且该第三子结构域在该第二子结构域的3'侧处。

1309.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_1N_0N_{-1}$-3',其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地是核苷。

1310.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中N_2、N_1、N_0、N_{-1}和N_{-2}中的每个独立地是核苷。

1311.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-

$N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}$-3’，其中$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$和$N_{-3}$中的每个独立地是核苷。

1312.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中该寡核苷酸包含5’-$N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}$-3’，其中$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$和$N_{-4}$中的每个独立地是核苷。

1313.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中该寡核苷酸包含5’-$N_5N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}$-3’，其中$N_5$、$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$和$N_{-5}$中的每个独立地是核苷。

1314.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中该寡核苷酸包含5’-$N_6N_5N_4N_3N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}N_{-4}N_{-5}N_{-6}$-3’，其中$N_6$、$N_5$、$N_4$、$N_3$、$N_2$、$N_1$、$N_0$、$N_{-1}$、$N_{-2}$、$N_{-3}$、$N_{-4}$、$N_{-5}$和$N_{-6}$中的每个独立地是核苷。

1315.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中该第二子结构域包含5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’，其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地是核苷。

1316.一种寡核苷酸，该寡核苷酸包含如本披露所述的5’-$N_1N_0N_{-1}$-3’。

1317.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时，N_0与靶腺苷相反。

1318.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地具有2’-F修饰的糖、天然RNA糖、或没有2’-取代基代替天然RNA糖的2’-OH的糖。

1319.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地具有2’-F修饰的糖、天然RNA糖、或没有2’-取代基的糖。

1320.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_{-1}、N_0和N_1中的每个独立地具有2’-F修饰的糖、天然RNA糖、或天然DNA糖。

1321.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_{-1}、N_0和N_1中不超过一个具有2’-F修饰的糖。

1322.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_{-1}、N_0和N_1中不超过一个具有天然RNA糖。

1323.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_1的糖是2’-F修饰的糖。

1324.如实施例1-1322中任一项所述的寡核苷酸，其中N_0的糖是在对应于天然RNA糖的2’-OH的位置处不包含取代基的糖。

1325.如实施例1-1322中任一项所述的寡核苷酸，其中N_0的糖是不包含2’-取代基的糖。

1326.如实施例1-1322中任一项所述的寡核苷酸，其中N_1的糖是天然DNA糖。

1327.如实施例1-1322中任一项所述的寡核苷酸，其中N_1的糖是天然RNA糖。

1328.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_0的糖是经修饰的糖。

1329.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸，其中N_0的糖是2’-修饰的糖。

1330.如实施例1328所述的寡核苷酸，其中该经修饰的糖是2’-OR修饰的糖，其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1331.如实施例1328所述的寡核苷酸，其中该经修饰的糖是2’-OR修饰的糖，其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。

1332.如实施例1328所述的寡核苷酸，其中该经修饰的糖是2’-OM_e修饰的糖。

1333.如实施例1328所述的寡核苷酸，其中该经修饰的糖是2’-MOE修饰的糖。

1334.如实施例1328所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是LNA糖。

1335.如实施例1328所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是无环糖。

1336.如实施例1328所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖包含任选地经取代的6元环。

1337.如实施例1328所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-F修饰的糖。

1338.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置处不包含取代基的糖。

1339.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是不包含2'-取代基的糖。

1340.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为5'-修饰的糖的糖。

1341.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为5'-Me修饰的糖的糖。

1342.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为无环糖的糖。

1343.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为sm01的糖。

1344.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为sm15的糖。

1345.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是作为经取代的天然DNA糖的糖,其一个2'-H被-OH或-F取代且另一个2'-H未被取代。

1346.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是天然DNA糖。

1347.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是实施例710-742中任一项的糖。

1348.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是天然RNA糖。

1349.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是C。

1350.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是次黄嘌呤。

1351.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是T。

1352.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是A。

1353.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是G。

1354.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是U。

1355.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是如实施例169-235中任一项所述的环BA。

1356.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是如实施例351-454中任一项所述的环BA。

1357.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b001U。

1358.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b002U。

1359.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b003U。

1360.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b004U。

1361.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b005U。

1362.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b006U。

1363.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b007U。

1364.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b008U。

1365.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b009U。

1366.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b011U。

1367.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b012U。

1368.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b013U。

1369.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b014U。

1370.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b015U。

1371.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b001A。

1372.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b002A。

1373.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b003A。

1374.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b004A。

1375.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b005A。

1376.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b006A。

1377.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b007A。

1378.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b001G。

1379.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b002G。

1380.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b001C。

1381.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b002C。

1382.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b003C。

1383.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b004C。

1384.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b005C。

1385.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b006C。

1386.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b007C。

1387.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b008C。

1388.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b009C。

1389.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b002I。

1390.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b003I。

1391.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b004I。

1392.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是b014I。

1393.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[3ne5U]。

1394.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[3nT]。

1395.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[3nfl5U]。

1396.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[3npry5U]。

1397.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[3ncn5U]。

1398.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[napth608A]。

1399.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[ipr608A]。

1400.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[c7In]。

1401.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[c39248In]。

1402.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[z2c3In]。

1403.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是[z5C]。

1404.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基选自BA-1。

1405.如实施例1-1348中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的核碱基是zndp。

1406.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dC。

1407.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fU。

1408.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dU。

1409.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fA。

1410.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dA。

1411.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fT。

1412.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dT。

1413.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fC。

1414.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fG。

1415.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dG。

1416.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是dI。

1417.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是fI。

1418.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是aC。

1419.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是m5dC。

1420.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是5MRm5dC。

1421.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是5MSm5dC。

1422.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001G。

1423.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b002G。

1424.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001C。

1425.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b002C。

1426.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b003C。

1427.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b003mC。

1428.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b004C。

1429.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b005C。

1430.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b006C。

1431.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b007C。

1432.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b008C。

1433.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b009C。

1434.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001A。

1435.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b002A。

1436.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b003A。

1437.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b004A。

1438.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b005A。

1439.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b006A。

1440.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b007A。

1441.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001U。

1442.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b002U。

1443.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b003U。

1444.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b004U。

1445.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b005U。

1446.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b006U。

1447.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b007U。

1448.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b008U。

1449.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b009U。

1450.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b010U。

1451.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b011U。

1452.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b012U。

1453.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b013U。

1454.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b014U。

1455.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b015U。

1456.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b002I。

1457.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b003I。

1458.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b004I。

1459.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b014I。

1460.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[3nT]。

1461.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[3ne5U]。

1462.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[3nf15U]。

1463.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[3npry5U]。

1464.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[3ncn5U]。

1465.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[napth608A]。

1466.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[ipr608A]。

1467.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[c7In]。

1468.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[c39z48In]。

1469.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[z2c3In]。

1470.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是[z5C]。

1471.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Asm01。

1472.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Gsm01。

1473.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Tsm01。

1474.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是5MSfC。

1475.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Usm04。

1476.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是5MRdT。

1477.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm04。

1478.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm11。

1479.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Gsm11。

1480.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Tsm11。

1481.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b009Csm11。

1482.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b009Csm12。

1483.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Gsm12。

1484.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Tsm12。

1485.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm12。

1486.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是rCsm13。

1487.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是rCsm14。

1488.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm15。

1489.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001Asm15。

1490.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b008Usm15。

1491.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm16。

1492.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm17。

1493.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b008Usm19。

1494.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm19。

1495.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是无碱基的。

1496.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是L010。

1497.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是L034。

1498.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Csm15。

1499.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是Tsm18。

1500.如实施例1-1327中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0是b001rA。

1501.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39248In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。

1502.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的核碱基是经修饰的核碱基。

1503.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是2'-F修饰的糖。

1504.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置处不包含取代基的糖。

1505.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是不包含2'-取代基的糖。

1506.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是天然DNA糖。

1507.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是经修饰的糖。

1508.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0的糖是2'-修饰的糖。

1509.如实施例1508所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1510.如实施例1508所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。

1511.如实施例1508所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

1512.如实施例1508所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。

1513.如实施例1508所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是LNA糖。

1514.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是实施例710-742中任一项的糖。

1515.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的糖是天然RNA糖。

1516.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是dA、dT、dC、dG、dU、fA、fT、fC、fG或fU。

1517.如实施例1-1515中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c392481n]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp,或选自表BA-1。

1518.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b001A。

1519.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b002A。

1520.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b003A。

1521.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b004A。

1522.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b005A。

1523.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b006A。

1524.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b007A。

1525.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b001C。

1526.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b004C。

1527.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b007C。

1528.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b008C。

1529.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b008U。

1530.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b010U。

1531.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b011U。

1532.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b012U。

1533.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b013U。

1534.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b014U。

1535.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b015U。

1536.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Csm11。

1537.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Csm12。

1538.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Csm17。

1539.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b009Csm11。

1540.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b009Csm12。

1541.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Gsm01。

1542.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Gsm11。

1543.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Gsm12。

1544.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Tsm01。

1545.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Tsm11。

1546.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Tsm12。

1547.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b001Asm15。

1548.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b008Usm15。

1549.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Tsm18。

1550.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是Csm19。

1551.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是b008Usm19。

1552.如实施例1-1501中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1是L010。

1553.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是经修饰的糖。

1554.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是2'-F修饰的糖。

1555.如实施例1-1551中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置处不包含取代基的糖。

1556.如实施例1-1551中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是不包含2'-取代基的糖。

1557.如实施例1-1551中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖。

1558.如实施例1-1551中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然RNA糖。

1559.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_1和N_{-1}均与其相应的核苷互补。

1560.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_1和N_{-1}中的至少一个独立地产生错配或摆动碱基配对。

1561.如实施例1560所述的寡核苷酸,其中与参考寡核苷酸相比,该寡核苷酸提供相当的或更高的靶腺苷编辑水平,其中当该参考寡核苷酸与该靶核酸比对时,该参考寡核苷酸在其他方面是相同的,但具有与其相应核苷互补的N_1和N_{-1},其中当该寡核苷酸与该靶核酸比对时,该靶腺苷与N_0相反。

1562.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b014U、b015U、b001A、b002A、b003A、b004A、b005A、b006A、b007A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I、[3nT]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[napth608A]、[ipr608A]、[c7In]、[c39248In]、[z2c3In]、[z5C]或zdnp。

1563.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是经修饰的核碱基。

1564.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤。

1565.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是C。

1566.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是T。

1567.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是A。

1568.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是G。

1569.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是U。

1570.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b001U。

1571.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b002U。

1572.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b003U。

1573.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b004U。

1574.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b005U。

1575.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b006U。

1576.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b007U。

1577.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b008U。

1578.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b009U。

1579.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b011U。

1580.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b012U。

1581.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b013U。

1582.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b014U。

1583.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b015U。

1584.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b001A。

1585.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b002A。

1586.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b003A。

1587.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b004A。

1588.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b005A。

1589.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b006A。

1590.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b007A。

1591.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b001G。

1592.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b002G。

1593.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b001C。

1594.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b002C。

1595.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b003C。

1596.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b004C。

1597.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b005C。

1598.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b006C。

1599.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b007C。

1600.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b008C。

1601.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b009C。

1602.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b0021。

1603.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b0031。

1604.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b0041。

1605.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是b014I。

1606.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[3nT]。

1607.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[3ne5U]。

1608.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[3nf15U]。

1609.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[3npry5U]。

1610.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[3ncn5U]。

1611.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[napth608A]。

1612.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[ipr608A]。

1613.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[c71n]。

1614.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[c392481n]。

1615.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[z2c31n]。

1616.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是[z5C]。

1617.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基选自BA-1。

1618.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是zndp。

1619.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是2'-F修饰的糖。

1620.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置处不包含取代基的糖。

1621.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是不包含2'-取代基的糖。

1622.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖。

1623.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是经修饰的糖。

1624.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是2'-修饰的糖。

1625.如实施例1624所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1626.如实施例1624所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}烷基。

1627.如实施例1624所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

1628.如实施例1624所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。

1629.如实施例1624所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是LNA糖。

1630.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是实施例710-742中任一项的糖。

1631.如实施例1-1618中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{1}的糖是天然RNA糖。

1632.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是次黄嘌呤、G、b006C、b007C、b004A、b007A、b002I、b003I或b004I,其中N_{-1}与C相反。

1633.如实施例1632所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖、sm11或sm12。

1634.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是C、b008U、b005U、b009U、b012U、b005C、b008C、b001A、b004A、b007A、b002I、b004I、b001G或无碱基,其中N_{-1}与G相反。

1635.如实施例1634所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖、sm11、sm12或

sm15。

1636.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的核碱基是A、b004U、b009U、b010U、b011U、b012U、b006C、b008C、b009C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b003I、b004I、b001G、无碱基,其中N_{-1}与U或T相反。

1637.如实施例1636所述的寡核苷酸,其中N_{-1}的糖是天然DNA糖、sm11、sm12或sm15。

1638.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dC。

1639.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fU。

1640.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dU。

1641.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fA。

1642.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dA。

1643.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fT。

1644.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dT。

1645.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fC。

1646.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fG。

1647.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dG。

1648.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是dI。

1649.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是fI。

1650.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是aC。

1651.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是m5dC。

1652.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是5MRm5dC。

1653.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是5MSm5dC。

1654.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001G。

1655.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b002G。

1656.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001C。

1657.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b002C。

1658.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b003C。

1659.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b003mC。

1660.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b004C。

1661.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b005C。

1662.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b006C。

1663.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b007C。

1664.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b008C。

1665.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b009C。

1666.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001A。

1667.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b002A。

1668.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b003A。

1669.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b004A。

1670.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b005A。

1671.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b006A。
1672.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b007A。
1673.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001U。
1674.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b002U。
1675.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b003U。
1676.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b004U。
1677.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b005U。
1678.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b006U。
1679.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b007U。
1680.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b008U。
1681.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b009U。
1682.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b010U。
1683.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b011U。
1684.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b012U。
1685.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b013U。
1686.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b014U。
1687.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b015U。
1688.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b002I。
1689.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b003I。
1690.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b004I。
1691.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b014I。
1692.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[3nT]。
1693.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[3ne5U]。
1694.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[3nf15U]。
1695.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[3npry5U]。
1696.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[3ncn5U]。
1697.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[napth608A]。
1698.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[ipr608A]。
1699.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[c7In]。
1700.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[c39z48In]。
1701.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[z2c3In]。
1702.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是[z5C]。
1703.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Asm01。
1704.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Gsm01。
1705.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是5MSfC。
1706.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Usm04。
1707.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是5MRdT。
1708.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm04。
1709.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm11。

1710.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Gsm11。

1711.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Tsm11。

1712.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b009Csm11。

1713.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b009Csm12。

1714.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Gsm12。

1715.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Tsm12。

1716.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm12。

1717.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是rCsm13。

1718.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是rCsm14。

1719.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm15。

1720.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001Asm15。

1721.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b008Usm15。

1722.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm16。

1723.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm17。

1724.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是无碱基的。

1725.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是L010。

1726.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是L034。

1727.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm15。

1728.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Tsm18。

1729.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是Csm19。

1730.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b008Usm19。

1731.如实施例1-1561中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}是b001rA。

1732.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0与N_1之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1733.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0与N_1之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1734.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0与N_{-1}之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1735.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_0与N_{-1}之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1736.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2的糖是经修饰的糖。

1737.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2的糖是2'-F修饰的糖。

1738.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1与N_2之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1739.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_1与N_2之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1740.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3的糖是经修饰的糖。

1741.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1742.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1743.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3的糖是2'-OMe修饰的糖。

1744.如实施例1741所述的寡核苷酸,其中N_3的糖是2'-MOE修饰的糖。

1745.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2与N_3之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1746.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是经修饰的糖。

1747.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1748.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1749.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是2'-OMe修饰的糖。

1750.如实施例1747所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是2'-MOE修饰的糖。

1751.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3与N_4之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1752.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_5的糖是经修饰的糖。

1753.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_5的糖是2'-F修饰的糖。

1754.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4与N_5之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1755.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4与N_5之间的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1756.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4与N_5之间的核苷酸间键联是n001。

1757.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4与N_5之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1758.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_6的糖是经修饰的糖。

1759.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_6的糖是2'-F修饰的糖。

1760.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_5与N_6之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1761.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_5与N_6之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1762.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}的糖是经修饰的糖。

1763.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1764.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1765.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}的糖是2'-OMe修饰的糖。

1766.如实施例1763所述的寡核苷酸,其中N_{-2}的糖是2'-MOE修饰的糖。

1767.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联

是不带负电荷的核苷酸间键联。

1768.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1769.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1770.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是Rp n004、n008、n025、n026。

1771.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是Sp n004、n008、n025、n026。

1772.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是n001。

1773.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1774.如实施例1772所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是Sp n001。

1775.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}的糖是经修饰的糖。

1776.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}的糖是2'-F修饰的糖。

1777.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1778.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}的糖是经修饰的糖。

1779.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1780.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1781.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}的糖是2'-OM_e修饰的糖。

1782.如实施例1779所述的寡核苷酸,其中N_{-4}的糖是2'-MOE修饰的糖。

1783.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}与N_{-4}之间的键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1784.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}与N_{-4}之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1785.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}的糖是经修饰的糖。

1786.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1787.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1788.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}的糖是2'-OMe修饰的糖。

1789.如实施例1786所述的寡核苷酸,其中N_{-5}的糖是2'-MOE修饰的糖。

1790.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}与N_{-5}之间的键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1791.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-4}与N_{-5}之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1792.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-6}的糖是经修饰的糖。

1793.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-6}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1794.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-6}的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1795.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-6}的糖是2'-OMe修饰的糖。

1796.如实施例1786所述的寡核苷酸,其中N_{-6}的糖是2'-MOE修饰的糖。

1797.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}与N_{-6}之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1798.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}与N_{-6}之间的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1799.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}与N_{-6}之间的核苷酸间键联是n001。

1800.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-5}与N_{-6}之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1801.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中其糖中的约20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-F修饰的糖。

1802.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中其糖中的约30%-60%各自独立地是2'-F修饰的糖。

1803.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中其糖中的约20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1804.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中其糖中的约30%-60%各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1805.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中其糖中的约30%-60%各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1806.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中其糖中的约20%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1807.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中其糖中的约30%-60%各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1808.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中其糖中的约30%-60%各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1809.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域的3'-末端核苷是N_2。

1810.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域的5'-末端核苷是

该寡核苷酸的5'-末端核苷。

1811.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸或其部分,例如第一结构域、第二结构域等中的约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%2'-OR修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1812.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1813.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1814.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OMe修饰的糖。

1815.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}、N_{-3}、N_{-4}、N_{-5}和N_{-6}的一个或多个糖中的每个独立地是2'-MOE修饰的糖。

1816.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2、N_3、N_4、N_5、N_6、N_7和N_8的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基,或双环糖。

1817.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2、N_3、N_4、N_5、N_6、N_7和N_8的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1818.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2、N_3、N_4、N_5、N_6、N_7和N_8的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OMe修饰的糖。

1819.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_2、N_3、N_4、N_5、N_6、N_7和N_8的一个或多个糖中的每个独立地是2'-MOE修饰的糖。

1820.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸或其部分,例如第一结构域、第二结构域等中的约或至少约或50%2'-OR修饰的糖独立地与天然磷酸酯键联键合,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1821.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中至少60%、70%、80%或90%或全部天然磷酸酯键联各自独立地与至少一种经修饰的糖键合,该经修饰的糖是2'-OR修饰的糖或双环糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1822.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是天然磷酸酯键联。

1823.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是天然磷酸酯键联。

1824.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位置+3($N_{-4}N_{+3}$之间)、+4、+6、+8、+9、+12、+14、+15、+17和+18中的一个或多个处的一个或多个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

1825.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1826.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1827.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位置+1($N_{-1}N_0$之间)、+2、+5、+6、+7、+8、+11、+14、+15、+16、+17、+19、+20、+21和+22中的一个或多个处的一个或多个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1828.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1829.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1830.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。

1831.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。

1832.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是n001。

1833.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中所有核苷酸间

键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或者约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、或50%独立地是n001。

1834.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位置+5($N_{+5}N_{+4}$之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或全部独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1835.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位置+5($N_{+5}N_{+4}$之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或者全部独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。

1836.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中位置+5($N_{+5}N_{+4}$之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或全部独立地是n001。

1837.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_4的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1838.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_3与N_4之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1839.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在5个或更多个核苷。

1840.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在6个或更多个核苷。

1841.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在7个或更多个核苷。

1842.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在8个或更多个核苷。

1843.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在3个核苷。

1844.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在4个核苷。

1845.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在5个核苷。

1846.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在6个核苷。

1847.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在7个核苷。

1848.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在8个核苷。

1849.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在9个核苷。

1850.如实施例1-1838中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的3'侧处存在10个核苷。

1851.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在5个或更多

个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个)核苷。

1852.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在8个或更多个核苷。

1853.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在10个或更多个核苷。

1854.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在15个或更多个核苷。

1855.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在16个或更多个核苷。

1856.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在17个或更多个核苷。

1857.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在18个或更多个核苷。

1858.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在19个或更多个核苷。

1859.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在20个或更多个核苷。

1860.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在21个或更多个核苷。

1861.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在22个或更多个核苷。

1862.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在23个或更多个核苷。

1863.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在24个或更多个核苷。

1864.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在25个或更多个核苷。

1865.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在26个或更多个核苷。

1866.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在20个核苷。

1867.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在21个核苷。

1868.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在22个核苷。

1869.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在23个核苷。

1870.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5’侧处存在24个核

苷。

1871.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在25个核苷。

1872.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在26个核苷。

1873.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在27个核苷。

1874.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在28个核苷。

1875.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在29个核苷。

1876.如实施例1-1851中任一项所述的寡核苷酸,其中在N_0的5'侧处存在30个核苷。

1877.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前1、2、3、4或5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1878.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前3个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1879.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前4个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1880.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1881.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前1、2、3、4或5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1882.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前3个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1883.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前4个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1884.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1885.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前3个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1886.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前4个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1887.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前5个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1888.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1889.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前

1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1890.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前3个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1891.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前4个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1892.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1893.如实施例1-1888中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1894.如实施例1-1888中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前3个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1895.如实施例1-1888中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前4个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1896.如实施例1-1888中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的5'-末端处的前5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1897.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1898.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后3个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1899.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后4个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1900.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1901.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1902.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后3个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1903.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后4个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1904.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1905.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后3个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1906.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后4个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1907.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后5个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1908.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最

后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1909.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1910.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后3个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1911.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后4个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1912.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1913.如实施例1-1908中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1914.如实施例1-1908中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后3个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1915.如实施例1-1908中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后4个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1916.如实施例1-1908中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的3'-末端处的最后5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1917.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的5'-末端起的第一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1918.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的5'-末端起的第一个核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1919.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的5'-末端起的第一个核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1920.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的5'-末端起的第一个核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1921.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的5'-末端起的第一个核苷酸间键联是n001。

1922.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从5'-末端起的第一个核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

1923.如实施例1-1921中任一项所述的寡核苷酸,其中从5'-末端起的第一个核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

1924.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与从5'-末端起的第3个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1925.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与从5'-末端起的第4个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1926.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与从5'-末端起的第5个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1927.如实施例1924-1926中任一项所述的寡核苷酸,其中每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的。

1928.如实施例1927所述的寡核苷酸,其中每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

1929.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的3'-末端起的第一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1930.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的3'-末端起的第一个核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1931.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的3'-末端起的第一个核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1932.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的3'-末端起的第一个核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1933.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从该寡核苷酸的3'-末端起的第一个核苷酸间键联是n001。

1934.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中从3'-末端起的第一个核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

1935.如实施例1-1934中任一项所述的寡核苷酸,其中从3'-末端起的第一个核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

1936.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与靶腺苷相反的核苷(位置0,这样的核苷:N_0)的糖是天然DNA糖。

1937.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置+1处的核苷(与N_0的5'-侧紧邻的核苷;即,5'…$N_{-1}N_0$…-3'的N_{+1})的糖是天然DNA糖。

1938.如实施例1-1936中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置+1处的核苷(与N_0的5'-侧紧邻的核苷;即,5'…$N_{+1}N_0$...-3'的N_{+1})的糖是2'-F修饰的糖。

1939.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置+2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{+1}N_0$…-3'的N_{+2})的糖是2'-F修饰的糖。

1940.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-1处的核苷(5'…$N_{+2}N_{-1}N_0N_{-1}$...-3'的N_{-1})的糖是天然DNA糖。

1941.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{-1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是可以增加稳定性的糖。

1942.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{-1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1943.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{-1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是双环糖。

1944.如实施例1-1942中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1945.如实施例1-1942中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是2'-OMe修饰的糖。

1946.如实施例1-1942中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…$N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$…-3'的$N_{-2}$)的糖是2'-MOE修饰的糖。

1947.如实施例1-1942中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-2处的核苷(5'…N_{+}

$_2N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$····3'的N_{-2})的糖是2'-MOE修饰的糖。

1948.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置-3处的核苷(5'…$N_{+2}N_{-1}N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}$····3'的$N_{-3}$)的糖是2'-F修饰的糖。

1949.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的每个糖独立地是可以增加稳定性的糖。

1950.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的每个糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1951.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的糖是双环糖。

1952.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1953.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的糖是2'-OMe修饰的糖。

1954.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的糖是2'-MOE修饰的糖。

1955.如实施例1-1950中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1956.如实施例1-1950中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

1957.如实施例1-1950中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

1958.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与N_{+1}或N_0键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1959.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与N_{+1}或N_0键合的每个核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1960.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1961.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1962.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1963.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1964.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是n001。

1965.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是手性控制的并且是Rp。

1966.如实施例1-1964中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

1967.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1968.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中除了从3'-末端起的第一个核苷酸间键联之外,与N_{-3}之后的核苷(例如,N_{-4}、N_{-5}、N_{-6}等)键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1969.如实施例1968所述的寡核苷酸,其中该硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性控制的并且是Sp。

1970.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中双环糖是LNA糖或cEt糖。

1971.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)天然磷酸酯键联。

1972.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含不超过5个(例如,1、2、3、4或5个)天然磷酸酯键联。

1973.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含不超过10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)n001。

1974.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含不超过10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)磷酰基胍核苷酸间键联。

1975.一种包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸,其中靶向区是或包含前述实施例中任一项的第二区域。

1976.一种包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸,其中靶向区是或包含前述实施例中任一项的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'。

1977.如实施例1975-1976中任一项所述的寡核苷酸,其中双链体化区能够与核酸(双链体化核酸)形成双链体。

1978.如实施例1975-1977中任一项所述的寡核苷酸,其中靶向区能够与包含靶腺苷的靶核酸形成双链体。

1979.如实施例1975-1978中任一项所述的寡核苷酸,其中双链体化核酸不是靶核酸。

1980.如实施例1975-1978所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是如实施例1-1974中任一项所述的寡核苷酸。

1981.如实施例1975-1980中任一项所述的寡核苷酸,其中靶向区的长度为约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1982.如实施例1975-1981中任一项所述的寡核苷酸,其中双链体化区的长度为约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1983.如实施例1975-1982中任一项所述的寡核苷酸,其中双链体化寡核苷酸的长度为约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1984.如实施例1975-1983中任一项所述的寡核苷酸,其中双链体化寡核苷酸包含茎环。

1985.如实施例1975-1984中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或

多个经修饰的糖、一个或多个经修饰的核苷酸间键联、和一个或多个天然磷酸酯键联。

1986.如实施例1975-1985中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸不是手性控制的。

1987.如实施例1975-1986中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个经修饰的核苷酸间键联。

1988.如实施例1975-1987中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有糖是经修饰的糖。

1989.如实施例1975-1987中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有糖是2'-F修饰的糖。

1990.如实施例1975-1987中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1991.如实施例1975-1987中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有糖是2'-OMe修饰的糖

1992.如实施例1975-1991中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有核苷酸间键联是经修饰的。

1993.如实施例1975-1992中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1994.如实施例1975-1993中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸是手性控制的。

1995.如实施例1975-1994中任一项所述的寡核苷酸,其中该双链体化寡核苷酸中的大部分或所有核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1996.如实施例1975-1995中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸及其双链体化寡核苷酸作为双链体施用。

1997.如实施例1975-1995中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸及其双链体化寡核苷酸单独施用。

1998.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖、2'-F修饰的糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

1999.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖、2'-F修饰的糖和2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

2000.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自PO键联、PN键联和PS键联。

2001.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个PO键联。

2002.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中PO键联是天然磷酸酯键联。

2003.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个PS键联。

2004.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中PS键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2005.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个

PN键联。

2006.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸在位置1、14、16、26和29处包含一个或多个PN键联。

2007.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置1处的该核苷酸间键联是PN键联。

2008.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置14处的该核苷酸间键联是PN键联。

2009.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置16处的该核苷酸间键联是PN键联。

2010.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置26处的该核苷酸间键联是PN键联。

2011.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在位置29处的该核苷酸间键联是PN键联。

2012.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中PN键联是磷酰基胍键联。

2013.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个PN键联独立地是磷酰基胍键联。

2014.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个PN键联独立地是n001。

2015.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中PN键联是n001。

2016.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、不带负电荷的核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2017.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、中性核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2018.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、磷酰基胍核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2019.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2020.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈盐形式。

2021.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

2022.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为约或至少约$(DS)^{nc}$,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2023.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为约或至少约$(DS)^{nc}$,其中DS为约DS为约90%-100%(例如,约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2024.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为约或至少约$(DS)^{nc}$,其中DS为约或至少约95%并且nc是手性键联磷的数目。

2025.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为

约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约或至少约97%并且nc是手性键联磷的数目。

2026.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约或至少约98%并且nc是手性键联磷的数目。

2027.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的非对映纯度为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约或至少约99%并且nc是手性键联磷的数目。

2028.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一个或多个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)手性键联磷中心的非对映体过量独立地为约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2029.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一个或多个(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)手性键联磷中心的非对映体过量独立地为约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2030.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个硫代磷酸酯键联磷的非对映体过量独立地为约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2031.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个硫代磷酸酯键联磷的非对映体过量独立地为约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2032.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性键联磷中心的非对映体过量独立地为约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2033.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性键联磷中心的非对映体过量独立地为约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

2034.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约10%-100%(例如,约10%-95%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,或者约或至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的纯度。

2035.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,或者至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的纯度。

2036.一种药物组合物,该药物组合物包含或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂。

2037.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2038.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如实施例2155-2180中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2039.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

2040.如实施例2039所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

2041.如实施例2039所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

2042.如实施例2039所述的组合物,其中除了与靶腺苷相反的核苷之外,该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2043.如实施例2039所述的组合物,其中该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2044.如实施例2037-2043中任一项所述的组合物,其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时,该组合物可以编辑靶标A至I。

2045.如实施例2037-2044中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

2046.如实施例2037-2045中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸共享相同的碱基修饰和糖修饰。

2047.如实施例2037-2046中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸共享相同

的骨架手性中心模式。

2048.如实施例2037-2047中任一项所述的组合物,其中与没有核苷酸间键联是手性控制的寡核苷酸的立体随机制备物相比,该组合物富集该多个寡核苷酸。

2049.如实施例2037-2047中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同碱基序列以及相同碱基和糖修饰的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2050.如实施例2037-2047中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2051.如实施例2037-2050中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸是相同的寡核苷酸或其一种或多种药学上可接受的盐。

2052.如实施例2037-2050中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸是相同酸形式寡核苷酸的一种或多种药学上可接受的盐。

2053.如实施例2037-2050中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸具有相同构成。

2054.如实施例2053所述的组合物,其中该组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2055.如实施例2053所述的组合物,其中该组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2056.如实施例2037-2050中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸具有相同结构。

2057.如实施例2037-2056中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸是钠盐。

2058.如实施例2037-2057中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2059.如实施例2037-2058中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2060.如实施例2037-2059中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸在一个或多个或任何不带负电荷的核苷酸间键联处不共享相同的键联磷立体化学。

2061.一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2062.一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、

5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述实施例和实施例2155-2180中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2063.一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如实施例2155-2180中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2064.一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中多个寡核苷酸各自的共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

2065.如实施例所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

2066.如实施例2065所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

2067.如实施例2065所述的组合物,其中除了与靶腺苷相反的核苷之外,每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2068.如实施例2065所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2069.如实施例2061-2068中任一项所述的组合物,其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时,每种多个寡核苷酸可以独立地编辑靶标A至I。

2070.如实施例2061-2069中任一项所述的组合物,其中靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

2071.如实施例2061-2070中任一项所述的组合物,其中该组合物包含两种或更多

种(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10种或更多种)多个寡核苷酸。

2072.如实施例2061-2071中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸的共同碱基序列是不同的。

2073.如实施例2061-2072中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸共享相同的共同碱基序列。

2074.如实施例2061-2073中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸靶向不同的腺苷。

2075.如实施例2061-2074中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸靶向相同的腺苷。

2076.如实施例2061-2075中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸靶向不同的转录物。

2077.如实施例2061-2076中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸靶向相同的转录物。

2078.如实施例2061-2077中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸靶向来自不同多核苷酸的转录物中的腺苷残基。

2079.如实施例2061-2080中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸靶向来自相同多核苷酸的转录物。

2080.如实施例2061-2079中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸靶向来自不同基因的转录物中的腺苷残基。

2081.如实施例2061-2080中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸靶向来自相同基因的转录物。

2082.如实施例2061-2081中任一项所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享该多个寡核苷酸内的相同碱基和糖修饰。

2083.如实施例2061-2082中任一项所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸独立地共享该多个寡核苷酸内的相同骨架手性中心模式。

2084.如实施例2061-2083中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,与没有核苷酸间键联是手性控制的多个寡核苷酸的立体随机制备物相比,该组合物富集该多个寡核苷酸。

2085.如实施例2061-2084中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享该共同碱基序列以及相同碱基和糖修饰的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2086.如实施例2061-2084中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2087.如实施例2061-2086中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸是相同的寡核苷酸或其一种或多种药学上可接受的盐。

2088.如实施例2061-2087中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸是相同酸形式寡核苷酸的一种或多种药学上可接受的盐。

2089.如实施例2061-2086中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核

苷酸,该多个寡核苷酸具有相同构成。

2090.如实施例2089所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2091.如实施例2089所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2092.如实施例2061-2091中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸具有相同结构。

2093.如实施例2061-2092中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸各自独立地是药学上可接受的盐形式。

2094.如实施例2061-2092中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸是钠盐。

2095.如实施例2061-2094中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2096.如实施例2061-2095中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2097.如实施例2061-2096中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2098.如实施例2061-2097中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2099.如实施例2061-2098中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸不在一个或多个或任何不带负电荷的核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2100.如实施例2061-2099中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸不在一个或多个或任何不带负电荷的核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

2101.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷酸的特征在于:

a)共同碱基序列;

b)共同骨架键联模式;

c)共同骨架手性中心模式;

d)共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性控制的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸;并且

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸

或其酸、碱或盐形式。

2102.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷酸的特征在于:

a)共同碱基序列;

b)共同骨架键联模式;

c)共同骨架手性中心模式;

d)共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性控制的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸;并且

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如实施例2155-2180中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2103.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷酸的特征在于:

a)共同碱基序列;

b)共同骨架键联模式;

c)共同骨架手性中心模式;

d)共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性控制的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸;并且

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

2104.如实施例2103所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

2105.如实施例2103所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

2106.如实施例2103所述的组合物,其中除了与靶腺苷相反的核苷之外,该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2107.如实施例2103所述的组合物,其中该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

2108.如实施例2101-2107中任一项所述的组合物,其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时,该组合物可以编辑靶标A至I。

2109.如实施例2101-2108中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

2110.如实施例2101-2109中任一项所述的组合物,其中相对于具有相同的共同碱

基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物，该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

2111.一种组合物，该组合物包含多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是如实施例1-2021中任一项所述的寡核苷酸。

2112.一种组合物，该组合物包含多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是如实施例1-2021中任一项所述的寡核苷酸，其中该组合物中共享该特定寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸中的至少约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20%-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20%-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20%-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20%-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20%-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20%-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20%-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸。

2113.一种组合物，其包含多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是如实施例1-2021中任一项所述的寡核苷酸，其中该组合物中共享该特定寡核苷酸或其盐的构成的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20%-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20%-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20%-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20%-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20%-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20%-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20%-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸。

2114.一种包含多个寡核苷酸的组合物，其中该多个寡核苷酸各自独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是表1的寡核苷酸。

2115.如实施例2101-2114中任一项所述的组合物，其中该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸。

2116.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物，其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸的水平为约或至少约$(DS)^{nc}$，其中DS为约85%-100%(例如，约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2117.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物，其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸的水平为约或至少约$(DS)^{nc}$，其中DS为约85%-100%(例如，约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性控制的核苷酸间键联的数目。

2118.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸的水平独立地为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2119.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸的水平独立地为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性控制的核苷酸间键联的数目。

2120.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸的水平为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2121.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸的水平为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性控制的核苷酸间键联的数目。

2122.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸的水平独立地为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性键联磷的数目。

2123.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸的水平独立地为约或至少约(DS)^{nc},其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性控制的核苷酸间键联的数目。

2124.如实施例2037-2123中任一项所述的组合物,其中DS为约90%-100%(例如,约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)。

2125.如实施例2117-2124中任一项所述的组合物,其中nc为约5-40(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40)或更大。

2126.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中该水平为至少约10%-100%,或至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

2127.如实施例2037-2115中任一项所述的组合物,其中该水平为至少约50%-100%,或至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

2128.一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基

序列的所有寡核苷酸的约10％-100％(例如,约10％-100％、20-100％、30％-100％、40％-100％、50％-80％、50％-85％、50％-90％、50％-95％、60％-80％、60％-85％、60％-90％、60％-95％、60％-100％、65％-80％、65％-85％、65％-90％、65％-95％、65％-100％、70％-80％、70％-85％、70％-90％、70％-95％、70％-100％、75％-80％、75％-85％、75％-90％、75％-95％、75％-100％、80％-85％、80％-90％、80％-95％、80％-100％、85％-90％、85％-95％、85％-100％、90％-95％、90％-100％,10％、20％、30％、40％、50％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％等)独立地是该特定寡核苷酸或其盐。

2129.一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的约30％-90％独立地是该特定寡核苷酸或其盐。

2130.一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的约40％-90％独立地是该特定寡核苷酸或其盐。

2131.如实施例2128-2130中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸是如实施例1-2035中任一项所述的寡核苷酸。

2132.如实施例2128-2131中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸是选自袁1的寡核苷酸。

2133.如实施例2128-2132中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸包含约或至少约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30个或更多个手性核苷酸间键联。

2134.如实施例2128-2133中任一项所述的组合物,其中每个盐独立地是药学上可接受的盐。

2135.如实施例2037-2134中任一项所述的组合物,其中当该组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时,该靶腺苷残基被修饰。

2136.如实施例2135所述的组合物,其中该修饰是或包括由ADAR1进行的修饰。

2137.如实施例2135或2136所述的组合物,其中该修饰是或包括由ADAR2进行的修饰。

2138.如实施例2135-2137中任一项所述的组合物,其中该修饰在体外进行。

2139.如实施例2135-2137中任一项所述的组合物,其中该样品是细胞。

2140.如实施例2135-2139中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷被转化成肌苷。

2141.如实施例2135-2140中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷被修饰至比用可比较的参考寡核苷酸组合物所观察到的更大的程度。

2142.如实施例2141所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物不含该多个寡核苷酸或包含更低水平的该多个寡核苷酸。

2143.如实施例2141-2142中任一项所述的组合物,其中该参考组合物不含具有与该多个寡核苷酸相同的构成的寡核苷酸。

2144.如实施例2141-2143中任一项所述的组合物,其中该参考组合物不含具有与该多个寡核苷酸相同的结构的寡核苷酸。

2145.如实施例2141所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比含有更低水平的2'-F修饰。

2146.如实施例2141-2145中任一项所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比含有更低水平的2'-OMe修饰。

2147.如实施例2141-2146中任一项所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比具有不同的糖修饰模式。

2148.如实施例2141-2147中任一项所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比含有更低水平的经修饰的核苷酸间键联。

2149.如实施例2141-2148中任一项所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸相比含有更低水平的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2150.如实施例2141-2149中任一项所述的组合物,其中该参考组合物是立体随机寡核苷酸组合物。

2151.如实施例2141所述的组合物,其中该参考组合物是与该多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。

2152.如前述实施例中任一项所述的组合物,其中该组合物不引起核酸的显著降解(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

2153.如前述实施例中任一项所述的组合物,其中该组合物不引起该靶核酸中显著的外显子跳跃或改变的外显子包含(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

2154.如实施例2037-2153中任一项所述的组合物,其中该组合物是药物组合物,并且进一步包含药学上可接受的载剂。

2155.一种寡核苷酸,其中除了在经修饰的核苷酸间键联的位置处是具有-O^5-P^L(R^{CA})-O^3-的结构的键联之外,该寡核苷酸在其他方面与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸相同,其中:

P^L是P或P(=W);

W是O、S或W^N;

R^{CA}是或包含任选地经取代的或封端的手性助剂部分，

O^5是键合到糖的5'-碳的氧，并且

O^3是键合到糖的3'-碳的氧。

2156.如实施例2155所述的寡核苷酸，其中该手性助剂被去除，该键联被转化成该经修饰的核苷酸间键联。

2157.如实施例2155所述的寡核苷酸，其中经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

2158.如实施例2157所述的寡核苷酸，其中当W被-SH代替并且R^{CA}被O代替时，P^L具有与该硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷相同的构型。

2159.如实施例2155-2158中任一项所述的寡核苷酸，其中经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

2160.如实施例2155-2158中任一项所述的寡核苷酸，其中经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

2161.如实施例2155-2158中任一项所述的寡核苷酸，其中经修饰的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

2162.如实施例2155-2158中任一项所述的寡核苷酸，其中经修饰的核苷酸间键联是n001。

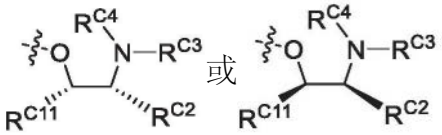
2163.如实施例2155-2162中任一项所述的寡核苷酸，其中在硫代磷酸酯核苷酸间键联的每个位置处独立地是具有$-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$的结构的键联。

2164.如实施例2155-2162中任一项所述的寡核苷酸，其中在经修饰的核苷酸间键联的每个位置处独立地是具有$-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$的结构的键联。

2165.如实施例2155-2164中任一项所述的寡核苷酸，其中一个或每个W是S。

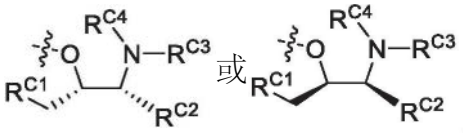
2166.如实施例2155-2165中任一项所述的寡核苷酸，其中一个且仅一个P^L是P。

2167.如实施例2155-2166中任一项所述的寡核苷酸，其中每个R^{CA}独立地是



。

2168.如实施例2155-2166中任一项所述的寡核苷酸，其中每个R^{CA}独立地是



，其中R^{C1}是R、$-Si(R)_3$或$-SO_2R$，R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和或部分不饱和环，该环除了氮原子之外还具有0-2个杂原子，R^{C4}是-H或-C(O)R'。

2169.如实施例2167或2168所述的寡核苷酸，其中在键联中，R^{C4}是-C(O)R并且P^L是P。

2170.如实施例2168-2169中任一项所述的寡核苷酸，其中在键联中，R^{C4}是-C(O)R并且W是S。

2171.如实施例2168-2170中任一项所述的寡核苷酸，其中在W是S的每个键联中，

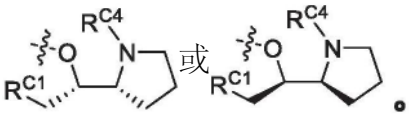
R^{C4}是-C(O)R’。

2172.如实施例2168-2171中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C4}是-C(O)CH_3。

2173.如实施例2168所述的寡核苷酸,其中在键联中,R^{C4}是-H并且P^L是P。

2174.如实施例2168-2173中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元环。

2175.如实施例2168-2174中任一项所述的寡核苷酸,其中每个R^{CA}独立地是



。

2176.如实施例2168-2175中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C1}是-$SiPh_2Me$。

2177.如实施例2168-2175中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C1}是-SO_2R。

2178.如实施例2168-2175中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是任选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。

2179.如实施例2168-2175中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是任选地经取代的苯基。

2180.如实施例2168-2175中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是苯基。

2181.一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是如实施例1-2035中任一项所述的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

2182.一种亚磷酰胺,其中核碱基是或包含环BA或环BA的互变异构体,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

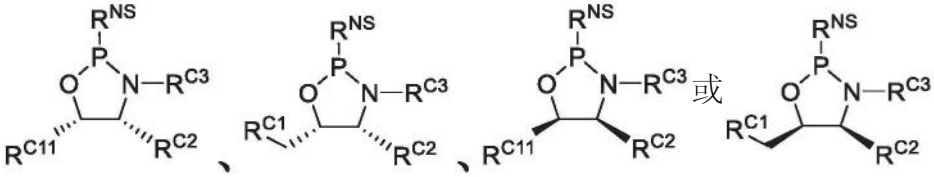
2183.如实施例2181-2182中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的糖是实施例1-2035中任一项的糖,其中该糖是任选地被保护的。

2184.如实施例2181-2183中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OR)N(R)$_2$的结构,其中R^{NS}是任选地被保护的核苷部分,并且每个R如本文所述。

2185.如实施例2181-2183中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)$_2$的结构。

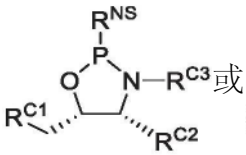
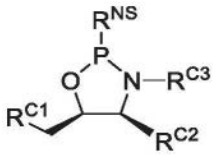
2186.如实施例2181-2183中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中磷键合到该手性助剂部分的氧和氮原子。

2187.如实施例2181-2183或2186中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有

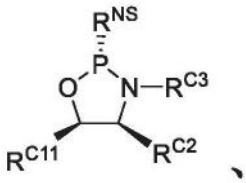
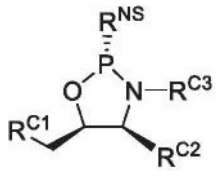
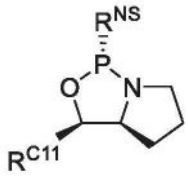
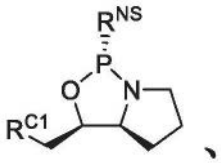
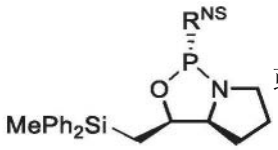
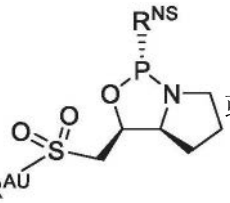


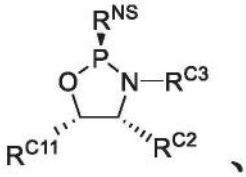
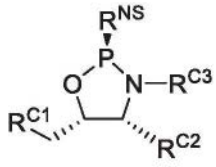
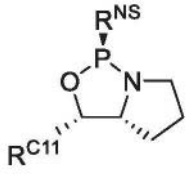
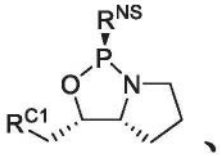
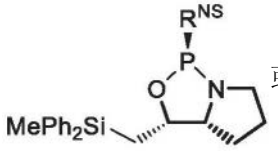
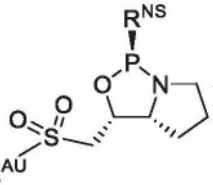
或其盐的结构。

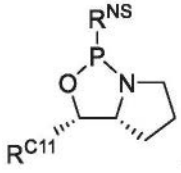
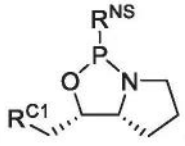
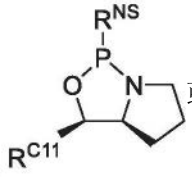
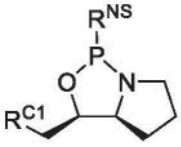
2188.如实施例2181-2183或2186中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有

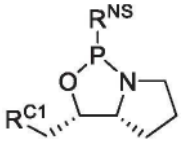
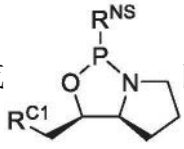
或的结构,其中R^{NS}是任选地被保护的核苷部分,R^{C1}是R、-Si(R)$_3$或-SO_2R,R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和或部分不饱和环,该环除了氮原子之外还具有0-2个杂原子。

2189.如实施例2187-2188中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{C2}和R^{C3}与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元饱和环。

2190.如实施例2187-2189中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有、、、、或或其盐的结构。

2191.如实施例2187-2189中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有、、、、或或其盐的结构。

2192.如实施例2187-2189中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有、、或或其盐的结构。

2193.如实施例2187-2189中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有或的结构。

2194.如实施例2187-2193中任一项所述的亚磷酰胺,其中R^{C1}是-$SiPh_2$Me。

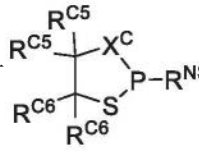
2195.如实施例2187-2193中任一项所述的亚磷酰胺,其中R^{C1}是-SO_2R。

2196.如实施例2187-2193中任一项所述的亚磷酰胺,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是任

选地经取代的C_{1-10}脂肪族基。

2197.如实施例2187-2193中任一项所述的亚磷酰胺,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是任选地经取代的苯基。

2198.如实施例2187-2193中任一项所述的亚磷酰胺,其中R^{C1}是-SO_2R,其中R是苯基。

2199.一种具有或其盐的结构的化合物,其中RNS是任选地经取代/被保护的核苷,X^C是O或S,并且R^{C5}和R^{C6}各自独立地是R。

2200.如实施例2199所述的化合物,其中X^C是O。

2201.如实施例2199所述的化合物,其中X^C是S。

2202.如实施例2199-2201中任一项所述的化合物,其中一个R^{C5}不是氢。

2203.如实施例2199-2202中任一项所述的化合物,其中一个R^{C5}是氢。

2204.如实施例2199-2203中任一项所述的化合物,其中一个R^{C6}不是氢。

2205.如实施例2199-2204中任一项所述的化合物,其中一个R^{C6}是氢。

2206.如实施例2199-2205中任一项所述的化合物,其中一个R^{C5}和一个R^{C6}与居于它们之间的原子合在一起形成具有0-5个杂原子的任选地经取代的3-20(例如,3-15、3-10、5-10、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20)元单环、双环或多环。

2207.如实施例2199-2205中任一项所述的化合物,其中一个R^{C5}和一个R^{C6}与居于它们之间的原子合在一起形成任选地经取代的环己基环。

2208.如实施例2199所述的化合物,其中-X^C-$C(R^{C5})_2$-$C(R^{C6})_2$-S-是-$OCH(CH_3)CH(CH_3)S$-。

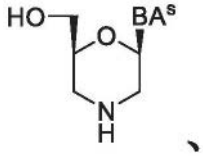
2209.如实施例2199所述的化合物,其中-X^C-$C(R^{C5})_2$-$C(R^{C6})_2$-S-是-$SCH(CH_3)CH(CH_3)S$-。

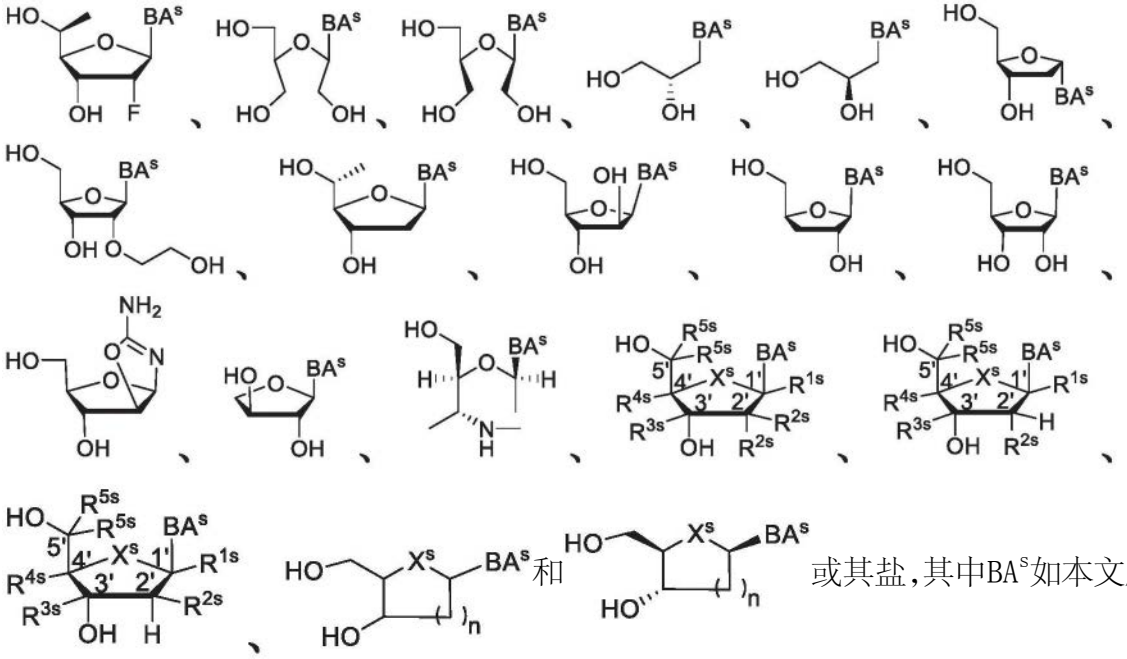
2210.如实施例2184-2209中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}的羟基基团被保护。

2211.如实施例2184-2209中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}的羟基基团作为-ODMTr被保护。

2212.如实施例2184-2209中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}的5'-OH被保护。

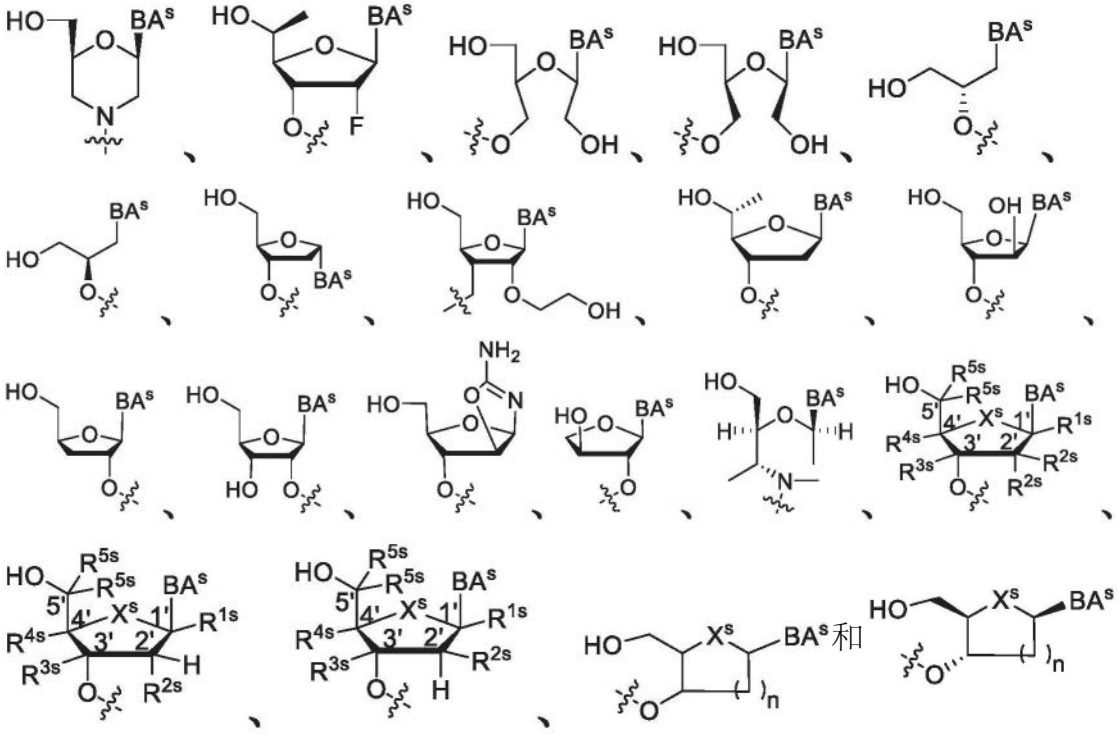
2213.如实施例2212所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}的5'-OH作为-ODMTr被保护。

2214.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中RNS是选自以下的任选地经取代的或被保护的核苷:、



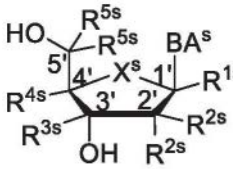
或其盐,其中BA^s如本文所述。

2215.如实施例2184-2214中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}选自



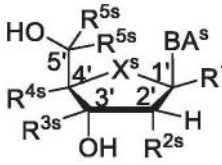
或其盐,其中BA^s如本文所述。

2216.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自

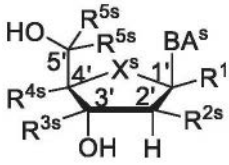


或其盐的任选地经取代的或被保护的核苷。

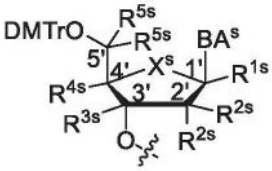
2217.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自

或其盐的任选地经取代的或被保护的核苷。

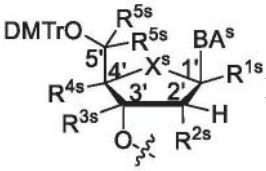
2218.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自

或其盐的任选地经取代的或被保护的核苷。

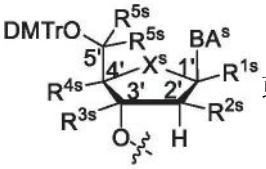
2219.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是

或其盐,其中BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。

2220.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是

或其盐,其中BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。

2221.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是

或其盐,其中BA^s是任选地经取代的或被保护的核碱基。

2222.如实施例2214-2221中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{1s}是-H。

2223.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是-H。

2224.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是-F。

2225.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是-OH。

2226.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是$-OR^{ak}$,其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

2227.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是-OMe。

2228.如实施例2214-2222中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{2s}是$-OCH_2CH_2OCH_3$。

2229.如实施例2214-2228中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{3s}是-H。

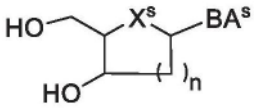
2230.如实施例2214-2229中任一项所述的寡核苷酸,其中R^{4s}是-H。

2231.如实施例2214-2230中任一项所述的寡核苷酸,其中一个出现的R^{5s}是-H。

2232.如实施例2214-2231中任一项所述的寡核苷酸,其中另一个出现的R^{5s}是-H。

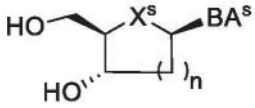
2233.如实施例2214-2231中任一项所述的寡核苷酸,其中另一个出现的R^{5s}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

2234.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自



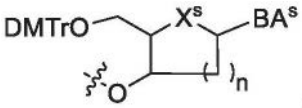
或其盐的任选地经取代的或被保护的核苷。

2235.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自



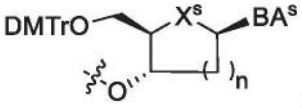
或其盐的任选地经取代的或被保护的核苷。

2236.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是任选地经取代的或被保护的



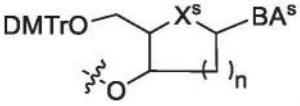
其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

2237.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是任选地经取代的或被保护的



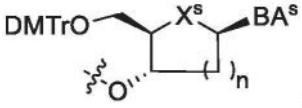
其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

2238.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是



其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

2239.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是



其中X^s是-O-、-S-或-Se-,并且n是0、1、2或3。

2240.如实施例2234-2239中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中n是0。

2241.如实施例2234-2239中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中n是1。

2242.如实施例2234-2239中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中n是2。

2243.如实施例2234-2239中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中n是3。

2244.如实施例2214-2243中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中X^s是-O-。

2245.如实施例2214-2243中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中X^s是-S-。

2246.如实施例2214-2243中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中X^s是任选地经取代的-CH_2-。

2247.如实施例2214-2243中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中X^s是-CH_2-。

2248.如实施例2184-2247中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含表BA-1的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

2249.如实施例2184-2247中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含b014U、b015U、b004A、b005A、b006A和b007A或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

2250.如实施例2184-2247中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含实施例1-2035中任一项的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

2251.如实施例2184-2250中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含核碱基,其中该核碱基是或包含环BA或环BA的互变异构体,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

2252.如实施例2184-2251中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含核碱基,其中该核碱基是或包含环BA或环BA的互变异构体,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

2253.如实施例2184-2252中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中BA^s具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI或环BA的互变异构体,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

2254.如实施例2184-2250中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含次黄嘌呤。

2255.如实施例2184-2250中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O^6-保护的次黄嘌呤。

2256.如实施例2184-2250中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O^6-保护的次黄嘌呤,其中该O^6保护基团是$-CH_2CH_2Si(R)_3$,其中该$-CH_2CH_2-$是任选地经取代的并且每个R不是-H。

2257.如实施例2184-2250中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O^6-保护的次黄嘌呤,其中该O^6保护基团是$-CH_2CH_2Si(Me)_3$。

2258.如实施例2184-2257中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含糖,该糖是实施例1-2035中任一项的糖。

2259.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自A、T、C、G和U的任选地经取代的或被保护的核苷。

2260.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自以下的任选地经取代的或被保护的核苷:b001Asm15、b004A、b005A、b006A、b014U、b015U、b008Usm15、Csm19、b008Usm19。

2261.如实施例2184-2213中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{NS}是选自以下的任选地经取代的或被保护的核苷:b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17、Csm19和Tsm18。

2262.如实施例2184-2261中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R^{Ns}通过3'-O-键合到磷。

2263.如实施例2187-2262中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺的纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

2264.一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的-OH基团与如实施例2181-2263中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

2265.一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的5'-OH与如实施例2181-2263中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

2266.一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括从如实施例2037-2180中任一项所述的寡核苷酸去除手性助剂部分。

2267.如实施例2264-2266中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸或该组合物中的寡核苷酸包含含有2'-OH的糖。

2268.如实施例2264-2267中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸或该组合物中的寡核苷酸包含含有2'-OH的糖,其中该糖键合到手性控制的核苷酸间键联。

2269.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸、组合物或方法,其中每个杂原子独立地选自氮、氧、硅、磷和硫。

2270.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸、组合物或方法,其中每个核碱基独立地包含具有至少一个氮的任选地经取代的环。

2271.一种方法,其包括:

评估细胞、组织或动物中的药剂或其组合物,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官,和/或包含与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列;和

向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的用于预防或治疗该病症、障碍或疾病的药剂或组合物。

2272.一种方法,其包括:

向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的用于预防或治疗该病症、障碍或疾病的药剂或组合物,其中在细胞、组织或动物中评估该药剂或组合物,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官,和/或包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列。

2273.如实施例2271-2272所述的方法,其中该受试者是人。

2274.如实施例2271-2273中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病与G至A突变相关联。

2275.如实施例2271-2274中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病与人SERPINA1基因中的1024G>A(E342K)突变相关联。

2276.如实施例2271-2275中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。

2277.如实施例2271-2273中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病是癌症。

2278.一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括:

将该寡核苷酸或组合物施用于包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的细胞或其群体。

2279.如实施例2271-2278中任一项所述的方法,其中细胞是啮齿类动物细胞。

2280.如实施例2271-2278中任一项所述的方法,其中细胞是大鼠细胞。

2281.如实施例2271-2278中任一项所述的方法,其中细胞是小鼠细胞。

2282.如实施例2271-2281中任一项所述的方法,其中该细胞的基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

2283.一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括:

将该寡核苷酸或组合物施用于包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的非人动物或其群体。

2284.如实施例2283所述的方法,其中该动物是小鼠。

2285.如实施例2283-2284中任一项所述的方法,其中该动物的基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

2286.如实施例2283-2284中任一项所述的方法,其中该动物的种系基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

2287.如实施例2271-2286中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 Z-DNA结合结构域中的一者或两者。

2288.如实施例2271-2287中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 dsRNA结合结构域中的一者或多者或全部。

2289.如实施例2271-2288中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人脱氨酶结构域。

2290.如实施例2271-2289中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1。

2291.如实施例2271-2290中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p110。

2292.如实施例2271-2290中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150。

2293.如实施例2271-2292中任一项所述的方法,其中与在工程化之前的细胞或工程化之前的动物的细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平相比,从细胞或动物的细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平与在可比较的人细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平更相似。

2294.如实施例2293所述的方法,其中可比较的人细胞与细胞或动物的细胞具有相同的类型。

2295.如实施例2271-2294中任一项所述的方法,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官,或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官。

2296.如实施例2295所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官是或包含肿瘤。

2297.如实施例2271-2296中任一项所述的方法,其中该细胞、组织或动物包含与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列。

2298.如实施例2297所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是纯合的。

2299.如实施例2297所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是杂合的。

2300.如实施例2297所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是半合的。

2301.如实施例2297-2300中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列在基因组中。

2302.如实施例2297-2301中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列在一些但不是所有细胞的基因组中。

2303.如实施例2297-2302中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列在种系基因组中。

2304.如实施例2297-2303中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是突变。

2305.如实施例2297-2304中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是G至A突变。

2306.如实施例2297-2305中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是SERPINA1中的G至A突变。

2307.如实施例2297-2306中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列是人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。

2308.如实施例2271-2306中任一项所述的方法,其中该细胞、组织或动物包含人SERPINA1基因中的1024G>A(E342K)突变。

2309.如实施例2308所述的方法,其中该细胞、组织或动物包含NOD.Cg-Prkdcscid I12rgtm1Wjl Tg(SERPINA1*E342K)#SlcW/SzJ。

2310.如实施例2271-2309中任一项所述的方法,其中该受试者包含SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。

2311.如实施例2310所述的方法,其中该受试者相对于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是纯合的。

2312.如实施例2310所述的方法,其中该受试者相对于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合的。

2313.如实施例2310所述的方法,其中该受试者相对于SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合的,并且一个等位基因是野生型。

2314.一种用于修饰靶核酸中的靶腺苷的方法,该方法包括使该靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

2315.一种用于使靶核酸中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括使该靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

2316.一种用于产生特定核酸的产物、或者恢复或增加特定核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该靶核酸包含靶腺苷,并且该特定核酸与该靶核酸的不同之处在于该特定核酸具有I或G而不是该靶腺苷。

2317.一种用于降低靶核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该靶核酸包含靶腺苷。

2318.如实施例2316或2317所述的方法,其中该产物是蛋白质。

2319.如实施例2316或2317所述的方法,其中该产物是mRNA。

2320.如实施例2314-2319中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与该靶核酸的碱基序列基本上互补。

2321.如实施例2314-2320中任一项所述的方法,其中该靶核酸在样品中。

2322.一种方法,其包括:

使如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触,其中:

该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与该靶核酸的碱基序列基本上互补;并且

该靶核酸包含靶腺苷;

其中该靶腺苷被修饰。

2323.一种方法,其包括

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

2324.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联。

2325.一种方法,其包括

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含

该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性控制的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

2326.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含比该多个参考寡核苷酸更多的具有2′-F修饰的糖,更多的具有2′-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性控制的手性核苷酸间键联。

2327.一种方法,其包括

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;和

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸包含一个或多个手性控制的手性核苷酸间键联;并且

该多个参考寡核苷酸不含手性控制的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”);并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

2328.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的多个参考寡核苷酸;

其中：

该第一多个寡核苷酸包含一个或多个手性控制的手性核苷酸间键联;并且

该多个参考寡核苷酸不含手性控制的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”)。

2329.如实施例2323-2328中任一项所述的方法,其中第一寡核苷酸组合物是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸组合物。

2330.如实施例2323-2329中任一项所述的方法,其中该参考寡核苷酸组合物是如实施例2142-2151中任一项所述的参考寡核苷酸组合物。

2331.如实施例2314-2330中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR酶。

2332.如实施例2314-2330中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR1。

2333.如实施例2314-2330中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR2。

2334.如实施例2314-2333中任一项所述的方法,其中该靶核酸是或包含RNA。

2335.如实施例2314-2334中任一项所述的方法,其中样品是细胞。

2336.如实施例2314-2335中任一项所述的方法,其中与不同于该靶核酸的核酸相比,该靶核酸与病症、障碍或疾病,或所需的特性或功能的减弱,或不期望的特性或功能的增强更相关,该不同在于其在该靶腺苷的位置具有I或G而不是该靶腺苷。

2337.如实施例2314-2335中任一项所述的方法,其中该靶腺苷是G至A突变。

2338.一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2339.一种用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2340.一种用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2341.一种用于减少受试者肝脏中的Z-AAT的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2342.一种用于减少受试者的肝脏炎症的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2343.一种用于抑制受试者的弹性蛋白酶的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2344.一种用于增加受试者血清或血液中α-1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2345.如实施例2344所述的方法,其中与参考A1AT多肽相比,该A1AT多肽提供一种或多种更高的活性。

2346.如实施例2344或2345所述的方法,其中该A1AT多肽野生型A1AT多肽。

2347.如实施例2344-2346中任一项所述的方法,其中该方法增加血清中该A1AT多

肽的量。

2348.如实施例2344-2346中任一项所述的方法,其中该方法降低血清中参考A1AT多肽的量。

2349.如实施例2344-2348中任一项所述的方法,其中该方法增加血清或血液中该A1AT多肽相对于参考A1AT多肽的比率。

2350.如实施例2344-2349中任一项所述的方法,其中该参考A1AT多肽发生突变。

2351.如实施例2344-2350中任一项所述的方法,其中该参考A1AT多肽是E342K A1AT多肽。

2352.一种用于降低受试者血清或血液中突变型α-1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2353.如实施例2352所述的方法,其中该突变型A1AT多肽是E342K A1AT多肽。

2354.如实施例2344-2353中任一项所述的方法,其中该受试者易患或患有病症、障碍或疾病。

2355.一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2356.一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2357.如实施例2338-2356中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与包含作为该突变的靶腺苷的靶核酸的碱基序列基本上互补。

2358.如实施例2356-2357中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病适合A至G或A至I修饰。

2359.如实施例2338-2358中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR蛋白。

2360.如实施例2338-2358中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR1。

2361.如实施例2338-2358中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR2。

2362.如实施例2338-2361中任一项所述的方法,其中该受试者是人受试者。

2363.如实施例2338-2362中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症或与之相关联。

2364.如实施例2314-2363中任一项所述的方法,该方法包括将靶腺苷转化成I。

2365.如实施例2314-2364中任一项所述的方法,其中靶向并编辑两种或更多种不同的腺苷。

2366.如实施例2314-2364中任一项所述的方法,其中靶向并编辑两种或更多种不同的转录物。

2367.如实施例2314-2364中任一项所述的方法,其中靶向并编辑来自两种或更多

种不同多核苷酸的转录物。

2368.如实施例2314-2364中任一项所述的方法,其中靶向并编辑来自两种或更多种基因的转录物。

2369.如实施例2365-2368中任一项所述的方法,该方法包括施用两种或更多种寡核苷酸,每种寡核苷酸独立地靶向不同的靶标,并且每种寡核苷酸独立地是如实施例1-2035中任一项所述的寡核苷酸或其盐。

2370.如实施例2365-2368中任一项所述的方法,该方法包括施用两种或更多种寡核苷酸组合物,每种寡核苷酸组合物独立地靶向至少一种不同的靶标,并且每种寡核苷酸组合物独立地是如实施例2036-2154中任一项所述的组合物。

2371.如实施例2365-2370中任一项所述的方法,该方法包括施用如实施例2061-2154中任一项所述的组合物。

2372.如实施例2365-2371中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物同时施用。

2373.如实施例2365-2372中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物在单一组合物中同时施用。

2374.如实施例2365-2372中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物作为分开的组合物施用。

2375.如实施例2365-2371中任一项所述的方法,其中一种或多种寡核苷酸或组合物在一种或多种其他寡核苷酸或组合物之前或之后施用。

2376.如实施例2338-2375中任一项所述的方法,其中该受试者包含人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。

2377.如实施例2376所述的方法,其中该受试者相对于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是纯合的。

2378.如实施例2376所述的方法,其中该受试者相对于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合的。

2379.如实施例2376所述的方法,其中该受试者相对于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合的,并且一个等位基因是野生型。

2380.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病与SERPINA1中的G至A突变相关联。

2381.如实施例2338-2380中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病与人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变相关联。

2382.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肝脏病症、障碍或疾病。

2383.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是代谢性肝脏病症、障碍或疾病。

2384.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肝炎。

2385.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是纤维化。

2386.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肝硬

化。

2387.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是hcc。

2388.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肝衰竭。

2389.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肺病症、障碍或疾病。

2390.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肺气肿。

2391.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是哮喘。

2392.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是支气管炎。

2393.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是肺炎。

2394.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是支气管扩张。

2395.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是皮肤病学病症、障碍或疾病。

2396.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是脂膜炎(皮肤)。

2397.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是ANCA管炎。

2398.如实施例2338-2381中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。

2399.如实施例2338-2398中任一项所述的方法,其中该受试者具有杂合ZZ基因型。

2400.如实施例2338-2398中任一项所述的方法,其中该受试者具有纯合ZZ基因型。

2401.如实施例2338-2400中任一项所述的方法,其中该方法增加或恢复肝脏中野生型的水平或活性。

2402.如实施例2338-2401中任一项所述的方法,其中该方法减少Z-AAT聚集。

2403.如实施例2338-2402中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肝损伤。

2404.如实施例2338-2403中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肝硬化。

2405.如实施例2338-2404中任一项所述的方法,其中该方法增加血液中野生型AAT的水平。

2406.如实施例2338-2405中任一项所述的方法,其中该方法增加血液中循环的肺结合野生型AAT的水平。

2407.如实施例2338-2406中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肺损伤。

2408.如实施例2338-2407中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防蛋白酶引起的肺损伤。

2409.如实施例2338-2408中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肺部炎

症。

2410.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是隐性或显性遗传定义的病症、障碍或疾病。

2411.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是神经元病症、障碍或疾病。

2412.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是神经发育病症、障碍或疾病。

2413.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是与离子通道渗透性相关联的病症、障碍或疾病。

2414.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是家族性癫痫。

2415.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是神经性疼痛。

2416.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是单倍体不足病症、障碍或疾病。

2417.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是神经肌肉病症、障碍或疾病。

2418.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是心血管病症、障碍或疾病。

2419.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是心血管代谢病症、障碍或疾病。

2420.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是免疫性病症、障碍或疾病。

2421.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是癌症。

2422.如实施例2338-2379中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是痴呆。

2423.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向部分。

2424.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向肝脏的靶向部分。

2425.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向在肝脏中表达的一种或多种受体的一种或多种配体。

2426.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向脱唾液酸糖蛋白受体的一种或多种配体。

2427.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸是GalNAc缀合的寡核苷酸。

2428.如实施例2338-2422中任一项所述的方法,其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向在肝脏中表达的一种或多种受体的一种或多种配体。

2429.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于改变mRNA剪接的用途,其中mRNA的靶腺苷被编辑。

2430.如实施例2431所述的用途,其中外显子被跳过,或包括外显子,或恢复框。

2431.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于改变mRNA剪接的用途,其中mRNA的靶腺苷被编辑。

2432.如实施例2431所述的用途,其中RNA和/或由其编码的多肽的水平降低。

2433.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于使蛋白质表达沉默的用途,其中编码该蛋白质的mRNA的靶腺苷被编辑。

2434.如实施例2433所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

2435.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于修复无义突变的用途,其中RNA的靶腺苷被编辑,使得该无义突变被修复。

2436.如实施例2435所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

2437.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于修复错义突变的用途,其中RNA的靶腺苷被编辑,使得该错义突变被修复。

2438.如实施例2437所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

2439.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑密码子中的靶腺苷的用途。

2440.如实施例2439所述的用途,其中蛋白质的序列、表达、水平和/或活性被改变。

2441.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑上游ORF中的靶腺苷的用途。

2442.如实施例2441所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加。

2443.一种用于调节系统中的蛋白质-蛋白质相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括使该编码RNA与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该编辑的mRNA(“编辑的蛋白质”)翻译,其中该编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质在涉及该蛋白质-蛋白质相互作用的氨基酸残基处不同。

2444.一种用于调节系统中蛋白质与药剂的相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括使该编码RNA与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该编辑的mRNA(“编辑的蛋白质”)翻译,其中该编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质在涉及该蛋白质-药剂相互作用的氨基酸残基处不同。

2445.一种用于调节系统中蛋白质与药剂的相互作用的方法,其中蛋白质由其编码RNA翻译,该方法包括向该系统施用如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质由该编辑的mRNA(“编辑的蛋白质”)翻译,其中该编辑的蛋白质与未编辑的蛋白质在涉及该蛋白质-药剂相互作用的氨基酸残基处不同。

2446.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含小分子。

2447.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含核酸。

2448.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含DNA。

2449.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含RNA。

2450.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含脂质。

2451.如前述实施例中任一项所述的方法,其中药剂是或包含碳水化合物。

2452.一种用于调节系统中蛋白质与其伙伴蛋白之间的相互作用的方法,该方法包括向该系统施用如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该寡核苷酸或组合物能够编辑编码该蛋白质或其伙伴蛋白的核酸中的腺苷,并且经编辑的核酸编码与由未编辑的核酸编码的蛋白质不同的蛋白质,该不同之处在于涉及该蛋白质与其伙伴蛋白之间的相互作用的至少一个氨基酸残基。

2453.如实施例2443-2452中任一项所述的方法,其中该编辑的腺苷在编码氨基酸残基的密码子中,该氨基酸残基涉及该蛋白质与其伙伴之间的相互作用。

2454.如实施例2453中任一项所述的方法,其中该编辑的腺苷在编码氨基酸残基的密码子中,该氨基酸残基涉及该蛋白质与其伙伴之间的相互作用,并且该编辑将该氨基酸改变为不同的氨基酸。

2455.如实施例2443-2454中任一项所述的方法,其中该蛋白质-蛋白质相互作用减少或被破坏。

2456.如实施例2443-2455中任一项所述的方法,其中该蛋白质是转录因子。

2457.如实施例2443-2456中任一项所述的方法,其中该蛋白质的水平增加。

2458.如实施例2443-2457中任一项所述的方法,其中由该蛋白质调节的一种或多种核酸的表达被调节。

2459.如实施例2443-2458中任一项所述的方法,其中由该蛋白质调节的一种或多种核酸的表达增加。

2460.如实施例2443-2459中任一项所述的方法,其中该蛋白质是NRF2。

2461.如实施例2443-2460中任一项所述的方法,其中NRF2的编辑是或包括编辑编码Glu82(例如,至Gly)、Glu79(例如,至Gly)、Glu78(例如,至Gly)、Asp76(例如,至Gly)、Ile28(至Val)、Asp27(例如,至Gly)或Gln26(例如,至Arg)的密码子。

2462.如实施例2443-2461中任一项所述的方法,其中该伙伴蛋白是Keap1。

2463.如实施例2443-2462中任一项所述的方法,其中Keap1的编辑是或包括编辑编码Ser603(例如,至Gly)、Tyr572(例如,至Cys)、Tyr525(例如,至Cys)、Ser508(例如,至Gly)、His436(例如,至Arg)、Asn382(例如,至Asp)、Arg380(例如,至Gly)或Tyr334的密码子。

2464.一种用于调节系统中核酸的水平的方法,该方法包括使该核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该核酸中的腺苷被编辑。

2465.一种用于调节系统中核酸的水平的方法,该方法包括向该系统施用如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该核酸中的腺苷被编辑。

2466.一种用于调节系统中核酸和/或由其编码的产物的水平、结构和/或活性的方法,该方法包括使该核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该核酸中的腺苷被编辑。

2467.一种用于调节系统中核酸和/或由其编码的产物的水平、结构和/或活性的方法,该方法包括向该系统施用如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物,其中该核酸中的腺苷被编辑。

2468.如实施例2464-2467中任一项所述的方法,其中该核酸是或包含RNA。

2469.如实施例2464-2467中任一项所述的方法,其中该核酸是转录物。

2470.如实施例2464-2469中任一项所述的方法,其中该编辑的腺苷在与药剂相互作用的RNA基序中。

2471.如实施例2470所述的方法,其中该药剂是或包含核酸、小分子、脂质、碳水化合物或多肽。

2472.如实施例2470所述的方法,其中该药剂是或包含多肽。

2473.如实施例2470所述的方法,其中该基序是ARE基序。

2474.如实施例2464-2473中任一项所述的方法,其中该核酸的水平增加。

2475.如实施例2464-2473中任一项所述的方法,其中该核酸的水平降低。

2476.如实施例2443-2475中任一项所述的方法,其中该系统是或包含细胞。

2477.如实施例2443-2475中任一项所述的方法,其中该系统是或包含组织。

2478.如实施例2443-2475中任一项所述的方法,其中该系统是或包含器官。

2479.如实施例2443-2475中任一项所述的方法,其中该系统是或包含生物体。

2480.一种用于编辑免疫细胞中的转录物的方法,该方法包括向免疫细胞施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

2481.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是PBMC。

2482.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是CD4+细胞。

2483.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是CD8+细胞。

2484.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是CD14+细胞。

2485.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是CD19+细胞。

2486.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是NK细胞。

2487.如实施例2480所述的方法,其中免疫细胞是Treg细胞。

2488.如实施例2480-2487中任一项所述的方法,其中该细胞是激活的。

2489.如实施例2480-2487中任一项所述的方法,其中该细胞是未激活的。

2490.如实施例2480-2489中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸或组合物靶向并编辑FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC或TRBC。

2491.如前述实施例中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸或组合物皮下施用。

2492.如前述实施例实中任一项所述的方法,其中通过向该受试者施用有效量的该寡核苷酸与另外的化学部分或其盐的缀合物来递送该寡核苷酸。

2493.一种用于向系统递送寡核苷酸的方法,该方法包括向该系统施用该寡核苷酸与另外的化学部分或其盐的缀合物。

2494.如实施例2493所述的方法,其中该系统是或包含细胞。

2495.如实施例2493所述的方法,其中该系统是或包含组织。

2496.如实施例2493所述的方法,其中该系统是或包含器官。

2497.如实施例2493所述的方法,其中该系统是受试者。

2498.如实施例2493所述的方法,其中该系统是人。

2499.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含靶向部分。

2500.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含

碳水化合物部分。

2501.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含脂质部分。

2502.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含一个或多个蛋白配体部分。

2503.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含两个或更多个蛋白配体部分。

2504.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体。

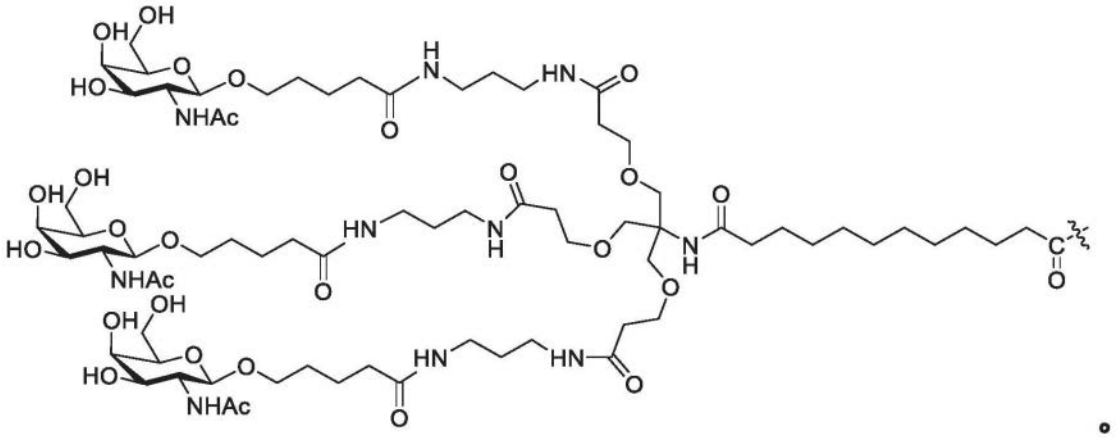
2505.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分包含多个部分,该多个部分中的每个部分独立地是脱唾液酸糖蛋白受体的配体。

2506.如实施例2492-2498中任一项所述的寡核苷酸,其中该另外的化学部分是或包含GalNAc或其衍生物。

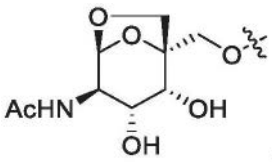
2507.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含GalNAc。

2508.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分包含三个GalNAc。

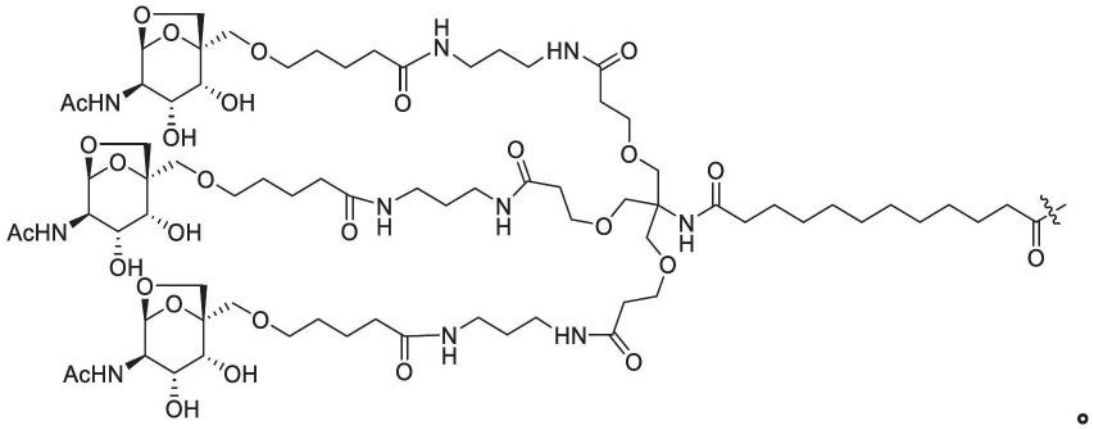
2509.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含任选地经取代的



2510.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含任选地经取代的



2511.如实施例2492-2498中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含



2512.如实施例2492-2511中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分直接缀合到该寡核苷酸。

2513.如实施例2492-2511中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分经由接头缀合到寡核苷酸。

2514.如实施例2513所述的方法,其中接头是或包含L001。

2515.如实施例2514所述的方法,其中L001通过磷酸酯基团连接到该寡核苷酸链的5'-末端5'-碳。

2516.如实施例2492-2515中任一项所述的方法,其中该另外的化学部分是或包含核酸部分。

2517.如实施例2516所述的寡核苷酸,其中该核酸是或包含适体。

2518.一种用于提高寡核苷酸的编辑水平的方法,该方法包括掺入如前述实施例中任一项所述的结构元件。

2519.一种本披露中所述的化合物、寡核苷酸、组合物、核碱基、糖、核苷、核苷酸间键联或方法。

2520.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本文所述的核碱基。

2521.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本文所述的糖。

2522.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本文所述的核苷酸间键联。

2523.一种寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本文所述的核苷酸间键联和与如本文所述的核苷酸间键联键合的糖(例如,sm01n001)。

2524.一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含:

(i)一种或多种核碱基BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环;和

(ii)一种或多种经修饰的糖。

2525.如实施例2524所述的寡核苷酸,其中核碱基BA是b008U。

2526.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一种或多种经修饰的糖是2'OR,其中R是任选地经取代的C_{1-6}。

2527.如实施例2526所述的寡核苷酸,其中R是$-CH_3$。

2528.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一种或多种经修饰的糖是2'-F。

2529.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一种或多种经修饰的糖是2'-

MOE。

2530.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰。

2531.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷与α-1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症相关联。

2532.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷在人SERPINA1基因中。

2533.如实施例2530-2532中任一项所述的寡核苷酸,其中该修饰由ADAR蛋白促进。

2534.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约10-200个(例如,约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200、10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。

2535.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约26-35个核碱基的长度。

2536.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与包含该靶腺苷的该靶核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

2537.如实施例43所述的寡核苷酸,其中互补性为约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。

2538.如实施例43-2537中任一项所述的寡核苷酸,其中除了在与靶核苷(例如,腺苷)相反的核苷处,该互补性为100%。

2539.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。

2540.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

2541.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40

或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

2542.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的糖。

2543.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-F修饰。

2544.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-OMe修饰的糖。

2545.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-OMe修饰。

2546.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10—约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-MOE修饰的糖。

2547.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-

100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖包含2'-MOE修饰。

2548.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分离嵌段,其中每个2'-F嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,并且其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是糖而不是2'-F修饰的糖。

2549.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在2个或更多个2'-F嵌段。

2550.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在5个或更多个2'-F嵌段。

2551.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在2个或更多个分离嵌段。

2552.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中存在5个或更多个分离嵌段。

2553.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的糖独立地是2'-OR糖,其中R不是-H。

2554.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

2555.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的糖独立地是2'-OR糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

2556.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基。

2557.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

2558.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

2559.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖是2'-OME修饰的糖。

2560.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

2561.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分离嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

2562.如实施例1270-2561中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

2563.如实施例1270-2561中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分离嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

2564.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在

约1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。

2565.如实施例1270-1293中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2或3个2'-F修饰的糖。

2566.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本披露中所述的5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_0与靶腺苷相反。

2567.如实施例2566所述的寡核苷酸,其中位置N_0处的核苷包含经修饰的碱基。

2568.如实施例2566或2567所述的寡核苷酸,其中位置N_0处的核苷包含经修饰的糖。

2569.如实施例2566-2568中任一项所述的寡核苷酸,其中该经经修饰的碱基是b008U。

2570.如实施例2568-2569中任一项所述的寡核苷酸,其中该经修饰的糖是2'-OMe。

2571.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,该寡核苷酸包含如本披露中所述的5'-$N_2N_1N_0N_{-1}N_{-2}$-3',其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,N_0与靶腺苷相反。

2572.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个核苷酸间键联独立地选自PO键联、PN键联和PS键联。

2573.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个PN键联。

2574.如实施例2573所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含一个或多个n001键联。

2575.如实施例2572-2574中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在N_1与N_2之间的PN键联。

2576.如实施例2575所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在N_1与N_2之间的n001键联。

2577.如实施例2575-2576中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在N_1与N_2之间的Rp n001键联。

2578.如实施例2575-2576中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在N_1与N_2之间的Sp n001键联。

2579.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在位置N_{-1}处的G。

2580.如实施例2524-2578中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含在位置N_{-1}处的I。

2581.一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是前述实施例中任一项的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

2582.其中该核碱基是或包含环BA或环BA的互变异构体,其中环BA具有以下结构:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-I-c、BA-I-d、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-II-c、BA-II-d、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-III-c、BA-III-d、BA-III-e、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

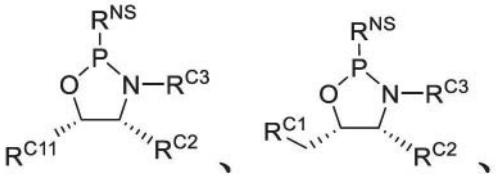
2583.如实施例2181-2582中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的糖是如实施例2524-2580中任一项所述的糖,其中该糖是任选地被保护的。

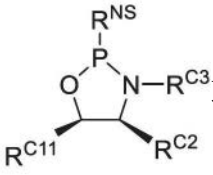
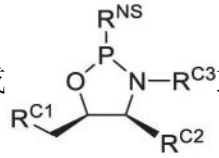
2584.如实施例2181-2582中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OR)N(R)$_2$的结构,其中R^{NS}是任选地被保护的核苷部分,并且每个R如本文所述。

2585.如实施例2181-2582中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R^{NS}-P(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)$_2$的结构。

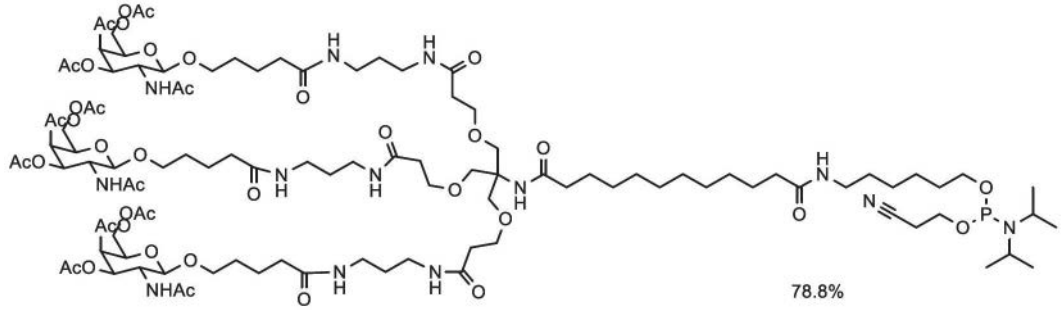
2586.如实施例2181-2582中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中磷键合到该手性助剂部分的氧和氮原子。

2587.如实施例2181-2582中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有




或

或其盐的结构。

2588.一种亚磷酰胺,该亚磷酰胺具有



的结构。

2589.一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的-OH基团与如实施例2181-2588中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

2590.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸共享:

1)共同碱基序列,和

2)独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联(“手性控制的核苷酸间键联”)处相同的键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个独立地是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

2591.一种方法,其包括:

评估细胞、组织或动物中的药剂或其组合物,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官,和/或包含与病症、障碍或疾病相关联的核苷酸序列;和

向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的用于预防或治疗该病症、障碍或疾病的药剂或组合物。

2592.如实施例2271所述的方法,其中该受试者是人。

2593.如实施例2271-2273中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病与G至A突变相关联。

2594.如实施例2271-2274中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病与人

SERPINA1基因中的1024G＞A(E342K)突变相关联。

2595.如实施例2271-2275中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病是α-1抗胰蛋白酶缺乏症。

2596.如实施例2271-2274中任一项所述的方法,其中病症、障碍或疾病是癌症。

2597.一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括:

将该寡核苷酸或组合物施用于包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的细胞或其群体。

实例

[1116] 本文呈现了所提供的技术(化合物(寡核苷酸、试剂等)、组合物、方法(制备方法、使用方法、评估方法等)等)的某些实例。本领域技术人员理解,许多技术例如,描述于US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858、WO 2022/099159等中的技术,可以用于制备和/或评估根据本披露所提供的技术的特性和/或活性。

[1117] 实例1.用于评估腺苷编辑的有用技术。

[1118] 可以使用多种系统来评估寡核苷酸设计。在一些实施例中,在HEK293T细胞中制备和评估cLuc寡核苷酸。在一些实施例中,在用针对人ADAR1或人ADAR2的质粒和cLuc荧光素酶报告质粒转染的293T细胞中评估靶向cLuc(海萤(Cypridina))的寡核苷酸。cLuc报告质粒由与荧光素酶相关的(高斯(Gaussia))gLuc-p2A-cLuc(W85X)组成。cLuc报告子由ADAR介导的A＞I编辑激活。使用以下等式计算寡核苷酸的编辑活性:

倍数变化＝经处理的寡核苷酸(cLuc/gLuc)/模拟(cLuc/gLuc)

[1119] 在一些实施例中,使用Lipofectamine 2000转染方案(Thermo 11668030)将报告质粒和ADAR1或ADAR2质粒一起转染到HEK293T细胞中。在合适的时间段(例如,24小时)之后,将表达报告子和ADAR质粒的HEK293T细胞用适量的寡核苷酸针对每个实验反向转染。在48、72和/或96小时之后分别使用Pierce™高斯荧光素酶辉光测定试剂盒(Pierce™ 16161)或Pierce™海萤荧光素酶辉光测定试剂盒(Pierce™ 16170)测量cLuc和gLuc活性。

[1120] 在一些实施例中,寡核苷酸和组合物被评估并证实在各种细胞(例如,小鼠或人原代肝细胞、原代人视网膜色素上皮细胞、细胞系等)中提供编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物被评估并证实在受试者中提供编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物被评估并证实在动物(例如,小鼠、非人灵长类(例如,食蟹猴)等)中提供编辑。在一些实施例中,动物是转基因动物,例如表达人ADAR1的小鼠。在一些实施例中,动物是包含与病症、障碍或疾病相关联的靶腺苷(例如,在许多情况下,G至A突变)的模型动物。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或没有外源性ADAR多肽的情况下提供有效编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以在没有外源性ADAR1或ADAR2的情况下提供有效编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物通过转染(例如,使用转染组合物,诸如Lipofectamine RNAimax)来递送。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物通过裸自由摄取来递送。尤其是,本披露提供了用于评估药剂(例如寡核苷酸)及其组合物的编辑(例如A至I(G)编辑)的技术。在一些实施例中,本披

露提供了可用于评估药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物的技术,这些药剂及其组合物与如本文所述的ADAR多肽(例如,ADAR1多肽)相互作用和/或调节或利用该多肽的一种或多种功能。在一些实施例中,本披露提供了经工程化以包含和/或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的非人动物细胞和/或非人动物。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含灵长类动物ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,灵长类动物是非人灵长类动物。在一些实施例中,灵长类动物是人。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p110 ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p110 ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是人p110 ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p150 ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p150ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是人p150ADAR1。在一些实施例中,非人动物是啮齿类动物。在一些实施例中,其为大鼠。在一些实施例中,其为小鼠。在一些实施例中,本披露提供经工程化以表达人ADAR1的小鼠。在一些实施例中,本披露提供经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞。

[1121] 尤其是,本实例展示了所提供的技术特别可用于评估可用于编辑(例如,实例中所述的腺苷编辑)的药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物。尤其是,本披露指出并且本实例证实,可以在各种人细胞中提供编辑的各种药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物可能在不含或不表达人ADAR(例如,人ADAR1)的某些细胞(例如,小鼠细胞)和某些动物诸如啮齿类动物(例如,小鼠)中不会显示出编辑或显示出低得多的编辑水平;特别地,小鼠(一种常用的动物模型)可以具有用于评估各种药剂(例如,寡核苷酸)在人类中的编辑的有限用途,因为在人类中有活性的药剂不会显示出活性或显示出非常低的活性水平。在一些实施例中,本披露提供了经工程化以表达人ADAR1(例如,人ADAR1p110、p150等)的细胞和非人动物(例如,啮齿类动物诸如小鼠),以及它们用于评估编辑剂(诸如寡核苷酸)及其组合物的用途。尤其是,这样的工程化的细胞和/或动物与未如此工程化的细胞和/或动物相比可以展示出与人细胞中的活性更相关和/或更可预测人细胞中的活性的活性。

[1122] 表达人ADAR1的非人小鼠的生成:可以根据本披露使用各种技术来提供经工程化以表达人ADAR1多肽或其特征性部分的小鼠。某些有用的技术描述于本披露和优先申请WO 2021/071858、WO 2022/046667或WO 2022/099159中,其各自的全部内容通过援引独立地并入。

[1123] 在一些实施例中,在经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞和动物中,与未经工程化以表达人ADAR1的参考小鼠细胞和动物相比,各种寡核苷酸显示出与其在人细胞中的活性谱非常相似的活性谱,例如,与表达人ADAR1的人细胞和/或经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞和动物相比,许多寡核苷酸在未经工程化以表达人ADAR1的参考小鼠细胞和动物中未显示出活性或显示出低得多的活性水平。

[1124] 用于生成转基因系统(包括动物)的各种有用技术是本领域技术人员可获得的,并且可以根据本披露使用,包括在优先申请WO 2021/071858和WO 2022/099159中描述的那些,其各自的全部内容通过援引并入本文。

[1125] 如本文所述,经工程化以包含ADAR1多肽或其特征性部分,或以包含和/或表达其

序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物可以与各种动物(例如,各种病症、障碍或疾病的模型动物)杂交,以尤其提供既包含与各种病症、障碍或疾病相关联的特征性元件又包含ADAR1多肽或其特征性部分或其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物模型。在一些实施例中,动物是包含SERPINA1-Pi＊Z的模型动物。在一些实施例中,动物包含人SERPINA1的1024G＞A(E342K)突变和其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。尤其是,这样的动物可用于评估用于编辑人SERPINA1的1024G＞A(E342K)突变的各种药剂,例如寡核苷酸。尤其是,所提供的技术,例如经工程化以包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分的非人动物,对于评估药剂的腺苷编辑特别有用。

[1126] 在一些实施例中,如本文所述的huADAR小鼠与另一只包含目的核苷酸序列(例如,与病症、障碍或疾病相关联的突变)的小鼠杂交。在某些实施例中,根据本披露,使用如本领域已知的体外受精进行这样的杂交。在某些实施例中,这样的小鼠包含人丝氨酸蛋白酶抑制剂家族A成员1(SERPINA1)多核苷酸序列或其特征性部分。在某些实施例中,这样的小鼠是SERPINA1-Pi＊Z小鼠,包含含有对应于1024G＞A(E342K)突变的G至A突变的人SERPINA1基因。在一些实施例中,所得后代包含人SERPINA1-Pi＊Z多核苷酸序列或其特征性部分(例如,包含突变(例如与病症、障碍或疾病相关联的1024G＞A)的部分)和huADAR1多核苷酸序列或其片段。在一些实施例中,双转基因动物(例如,包含人ADAR1序列或其特征性部分和与病症、障碍或疾病相关联的序列)也可以包含杂合、半合和/或纯合形式的另外背景突变或等位基因(这赋予它们人源化(即具有免疫缺陷表型)),这类基因型包括但不限于NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rgtm1^{Wjl}/SzJ或NOD/ShiLtJ,替代性合适人源化小鼠品系是本领域已知的。在一些实施例中,包含其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的小鼠与包含SERPINA1突变(例如,与病症、障碍或疾病(例如,α1-抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症)相关联的1024G＞A)的小鼠杂交。在一些实施例中,杂交的第二小鼠是杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ(另见Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1 Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植物和基因组编辑的肝细胞治疗α-1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优点]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015.Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors.[用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝]Mol Ther[分子疗法]23(12):1867-76PubMed:26403887MGI:J:230567)。如本文所述,在一些实施例中,huADAR小鼠被工程化以包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p110多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,huADAR小鼠被工程化以包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽或其特征性部分的多核苷酸。

[1127] 在一些实施例中,如本文所述的huADAR小鼠与另一只包含目的核苷酸序列的小鼠杂交。在一些实施例中,包含其序列编码ADAR1多肽的多核苷酸的小鼠与包含SERPINA1突变(例如,与病症、障碍或疾病(例如,α1-抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症)相关联的1024G＞A)的小鼠杂交。在一些实施例中,根据本披露,使用本领域已知的体外受精进行这样的杂交。在一

些实施例中,这样的小鼠包含人丝氨酸蛋白酶抑制剂家族A成员1(SERPINA1)多核苷酸序列或其特征性部分。在一些实施例中,这样的小鼠是SERPINA1-Pi＊Z小鼠,包含含有对应于例如1024G＞A(E342K)突变的G至A突变或与其相应的遗传特征的人SERPINA1基因。在一些实施例中,所得后代包含人SERPINA1-Pi＊Z多核苷酸序列和huADAR1多核苷酸序列。在一些实施例中,双转基因动物还包含杂合、半合和/或纯合(野生型或突变体)形式的另外背景突变或等位基因,这赋予它们人源化(例如,具有免疫缺陷表型)。在一些实施例中,这样的基因型包括NOD.Cg-Prkdc^{scid} Il2rgtm1^{Wjl}/SzJ。

[1128] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露可以使用各种技术进行杂交繁育。在一些实施例中,技术是或包括IVF(例如,使用杂合或纯合huADAR小鼠的精子和来自另一小鼠的卵母细胞,或反之亦然)。在一些实施例中,技术是或包括自然繁育(例如,使用杂合或纯合huADAR小鼠的精子和来自另一小鼠的卵母细胞,或反之亦然)。

[1129] 例如,在一些实施例中,利用来自huADAR雄性小鼠的杂合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ(NSG-PiZ,货号028842)雌性小鼠的卵母细胞经由例如IVF生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。在一些实施例中,利用来自huADAR雄性小鼠的纯合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ(NSG-PiZ,货号028842)雌性小鼠的卵母细胞经由例如IVF生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。在一些实施例中,利用来自品系“hADAR”雄性小鼠的纯合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ(NSG-PiZ,货号028842)雌性小鼠的卵母细胞,并且使所得的小鼠与例如NOD/ShiLtJ(杰克逊实验室货号001976)小鼠杂交以建立一系列克隆。在一些实施例中,生成的小鼠是(假设Prkdcscid/Il2rgtm1wjl/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/hADAR基因顺序)HET HET HET HET、HET WILD HET HET、WILD HET HET HET、WILD WILD HET HET、HET HEMI HET HET、HET HEMI HET WILD、HET HET HET WILD和/或WILD HEMI HET HET。本领域技术人员理解,雄性或雌性配子可以从任一品系中提供,例如在一些实施例中卵母细胞可以从huADAR品系提供,而精子可以从其他基因型提供,例如NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ(NSG-PiZ,货号028842)。在一些实施例中,huADAR(或hADAR)小鼠被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,动物在其基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,动物在其种系基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽是人ADAR1。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p110。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p150。例如,使用本文所述的一种或多种方案(例如,使用杂合的hADAR1精子和IVF)生成了许多包含人ADAR1 p110和人SERPINA1中的1024 G＞A(E342K)突变的动物。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,可以进一步繁育生成的动物以产生具有所需基因型的动物,例如,杂合、半合或纯合小鼠。在一些实施例中,使用IVF,将来自huADAR雄性小鼠的杂合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/SzJ(NSG-PiZ,货号028842)雌性小

鼠的卵母细胞进行杂交以生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。此外,产生的幼仔具有基因型(假设Prkdcscid/Il2rgtm1Wjl/Tg(SERPINA1＊E342K)#Slcw/hADAR基因顺序)HET HET HET HET、HET WILD HET HET、WILD HET HET HET、WILD WILD HET HET、HET HEMI HET HET、HET HEMI HET WILD、HET HET HET WILD和/或WILD HEMI HET HET。使用本文所述的一种或多种方案(例如,使用杂合的hADAR1精子和IVF)生成了许多包含人ADAR1 p110和人SERPINA1中的1024G＞A(E342K)突变的动物。

[1130] 在一些实施例中,在这样的动物模型中评估所提供的技术,例如,寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,以观察量(例如,血清中的ng/mL)和/或相对量(例如,占总蛋白或总A1AT蛋白的百分比)增加所需产物(例如,血清中正确折叠的野生型A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性和/或降低不期望的产物(例如,血清中突变型(例如,E342K)A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性。

[1131] 所提供的技术可以在各种类型的细胞、组织、器官、生物体等(例如,肝脏、肾、CNS、神经元细胞、星形胶质细胞、肝细胞等)中提供活性,例如腺苷编辑。在一些实施例中,在免疫细胞(例如,CD8+T细胞)中证实了编辑(在一些情况下,用细胞因子预刺激例如24或96h)。在一些实施例中,在成纤维细胞系中证实了编辑。在一些实施例中,在离体NHP眼(视网膜)中证实了编辑。观察到各种靶转录物中靶腺苷的编辑,从而证实了所提供的技术通常是适用的。某些靶转录物在本文和例如优先申请WO 2021/071858和WO 2022/099159中描述。

[1132] 可以利用根据本披露的许多技术来递送寡核苷酸和组合物。例如,在一些实施例中,它们通过转染来递送。在一些实施例中,它们通过裸摄取来递送。在一些实施例中,寡核苷酸包含可以有利于递送的部分。例如,在一些实施例中,部分是多肽的配体,例如在许多情况下是细胞表面上的受体的配体。在一些实施例中,多肽由细胞类型或群体、组织等以较高水平表达,使得其可以用于递送。在一些实施例中,配体是ASGPR配体。在一些实施例中,配体是或包含GalNAc或其衍生物。在一些实施例中,寡核苷酸可以包含两个或更多个配体部分,每个配体部分独立地是多肽的配体。在一些实施例中,寡核苷酸包含配体部分的两个或更多个拷贝。在一些实施例中,部分靶向位置或环境的一种或多种特征(例如,pH、氧化还原等)。

[1133] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供增加的稳定性、高水平的编辑等。在一些实施例中,所提供的技术可以在最后一剂之后长时间(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45天或更多天)提供所需的编辑活性。在一些实施例中,所需的编辑活性/编辑水平可以在最后一剂之后长时间维持,例如约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45天或更多天。

[1134] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的选择性。在一些实施例中,约或至少约80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％或99.9％观察到的腺苷编辑位于靶腺苷。在一些实施例中,编码区中约或至少约80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％观察到的腺苷编辑位于靶腺苷。在一些实施例中,靶核酸(例如,靶基因的转录物)中约或至少约80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％观察到的腺苷编辑位于靶腺苷。在一些实施例中,靶核酸(例如,靶基因的转录物)的编

码区中约或至少约80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％观察到的腺苷编辑位于靶腺苷。本领域技术人员可利用各种技术(例如,RNA-Seq)来评估选择性;某些这样的技术描述于本文和优先申请WO 2021/071858、WO 2022/046667或WO 2022/099159中,其各自的全部内容通过援引独立地并入本文。在一些实施例中,本文所述的选择性的百分比为至少约80％。在一些实施例中,其为至少约85％。在一些实施例中,其为至少约90％。在一些实施例中,其为至少约95％。在一些实施例中,其为至少约96％。在一些实施例中,其为至少约97％。在一些实施例中,其为至少约98％。在一些实施例中,其为至少约99％。在一些实施例中,其为至少约99.5％。在一些实施例中,其为至少约99.9％。在一些实施例中,其为约100％。在一些实施例中,没有观察到脱靶编辑。在一些实施例中,所提供的技术提供了体内高选择性。

[1135] 在一些实施例中,本披露提供了多重编辑。在一些实施例中,一起编辑多个靶腺苷,其中靶腺苷中的一个或多个或每个以与单独编辑时相比相当的水平独立编辑。

[1136] 各种结果呈现在例如本文的图和表中,作为说明所提供的技术可以提供的各种益处和优点的实例。

[1137] 如本文所展示的,尤其是,本披露提供了包含可以提供有效编辑的各种修饰(例如,核碱基修饰、糖修饰、键联修饰等,及其组合和模式)的寡核苷酸。

[1138] 在一些实施例中,在编辑位点处和/或附近利用某些糖,例如天然DNA糖、2'-F修饰的糖等提供编辑活性。在一些实施例中,寡核苷酸包含5′-$N_1N_0N_{-1}$-3′,其中N_1、N_0和N_{-1}各自独立地是核苷,N_1和N_0与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N_{-1}和N_0与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N_0与靶腺苷相反。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N_1的糖是2'-修饰的糖(例如,2'-F修饰的糖),并且N_0和N_{-1}中的每个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,在第二子结构域或编辑区之外,例如在第一结构域、第一子结构域和/或第三子结构域中,利用2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)。这样的经修饰的糖可以在这些结构域/子结构域中的不同位置处利用,并且是良好耐受的,并且在各种情况下可以改善寡核苷酸的特性和/或活性。

[1139] 如本文所展示的,与各种先前报道的技术相比,所提供的技术可以使用显著更短的寡核苷酸提供有效编辑。在一些实施例中,不同长度(例如,27、28、29、20、31、32个或更多个核苷)的寡核苷酸可以提供编辑。

[1140] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列具有足够的互补性,使得寡核苷酸可以在合适的条件(例如,体内或体外编辑条件)下形成双链体。在一些实施例中,相对于非靶核酸,寡核苷酸选择性地与靶核酸形成双链体。虽然与靶核酸的某些水平的互补性对于包括靶腺苷编辑在内的各种用途是优选的或必需的,但是通常不需要完全互补性。在一些实施例中,存在如本文所述的一个或错配、凸起等。在一些实施例中,与靶腺苷相反的核苷N_0的核碱基不与靶腺苷互补。在一些实施例中,利用次黄嘌呤代替G,特别是如果接近或临近N_0。在一些实施例中,第一结构域、第一子结构域和/或第三子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4个或更多个)错配。

[1141] 在一些实施例中,在手性控制的寡核苷酸组合物中提供寡核苷酸。在一些实施例中,如本文所示的,手性控制的寡核苷酸组合物提供各种所需的特性和/或活性。在一些实

施例中,与相应的立体随机寡核苷酸组合物(例如,具有相同构成但不在手性键联磷处手性控制的寡核苷酸的组合物)相比,手性控制的寡核苷酸组合物提供改善的特性和/或活性。

[1142] 尤其是,申请人已经证实了包含各种修饰的寡核苷酸的组合物可以提供靶编辑,并且与靶腺苷相反的核苷可以置于寡核苷酸中的多个位置(例如,在一些情况下,从3'-末端起的位置5、6、7、8、9或更远处)。还证实了不同版本的GalNAc(例如,在Mod001或L025中)可以用于提供递送和/或活性。如本领域技术人员所理解的以及本文描述和证实的,在编辑之后,所编辑的核碱基可以执行G的各种功能(并且在一些情况下,编辑可以称为A至G)。在各种实施例中,天然RNA糖可以用于所提供的寡核苷酸中,并且在一些情况下,用于与靶腺苷相反的核苷中。在一些实施例中,RNA或DNA核苷在3'紧邻位置(N_{-1})处使用,并且以次黄嘌呤作为其核碱基。在一些实施例中,3'紧邻I或dI核苷通过Sp不带负电荷的核苷酸间键联诸如磷酰基胍核苷酸间键联(像n001)与其3'紧邻核苷键合。尤其是,证实了根据本披露可以在不同部分利用不同数目的不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,除了编辑区或第二子结构域之外,还利用非互补碱基配对(例如,摆动和/或错配)。在一些实施例中,证实了移除非互补碱基配对(例如,摆动和/或错配)可以改善编辑效率。在一些实施例中,观察到某些核碱基提供改善的特性和/或活性。尤其是,证实了在一些实施例中,在N_0处包含各种经修饰的核碱基(或无碱基核苷)的寡核苷酸可以提供编辑。在一些实施例中,观察到包含某些碱基修饰(诸如b001A、b002A、b008U等)的寡核苷酸与参考组合物相比增加了编辑活性。在一些实施例中,观察到在N_0处包含某些碱基修饰(诸如b001A、b002A、b008U等)的寡核苷酸与参考组合物相比增加了编辑活性。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在包含核碱基的核苷之间包含无碱基部分。评估并证实包含一个或多个无碱基单元代替包含核碱基的核苷的各种寡核苷酸能够提供编辑活性。在一些实施例中,观察到在某些位置的无碱基单元提供比其他位置更高的活性。在一些实施例中,观察到在某些情况下寡核苷酸可以通过ADAR1-p110、ADAR1-p150和ADAR2提供不同的绝对编辑水平和/或相对编辑水平。

[1143] 在一些实施例中,寡核苷酸与靶核酸中相同长度的序列完全互补。

[1144] 所提供的技术可以在ADAR1和/或ADAR2存在下提供稳健的编辑。所提供的技术可以在ADAR1-p110和/或ADAR1-p150存在下提供稳健的编辑。

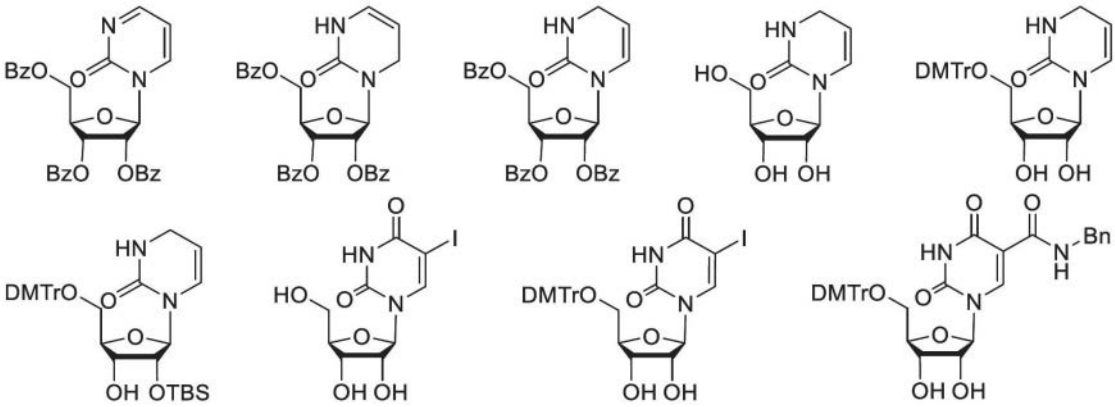
[1145] 证实本披露的技术的各种特性、活性、优点等的数据作为实例在各种实例和附图中提供,包括优先申请WO 2021/071858、WO 2022/046667或WO 2022/099159中的那些,其各自的全部内容通过援引独立地并入本文。可以根据本披露使用的某些有用的技术,例如结构元件、测定、靶标等描述于WO 2021/071858或WO 2022/099159中,其各自的全部内容通过援引并入本文。

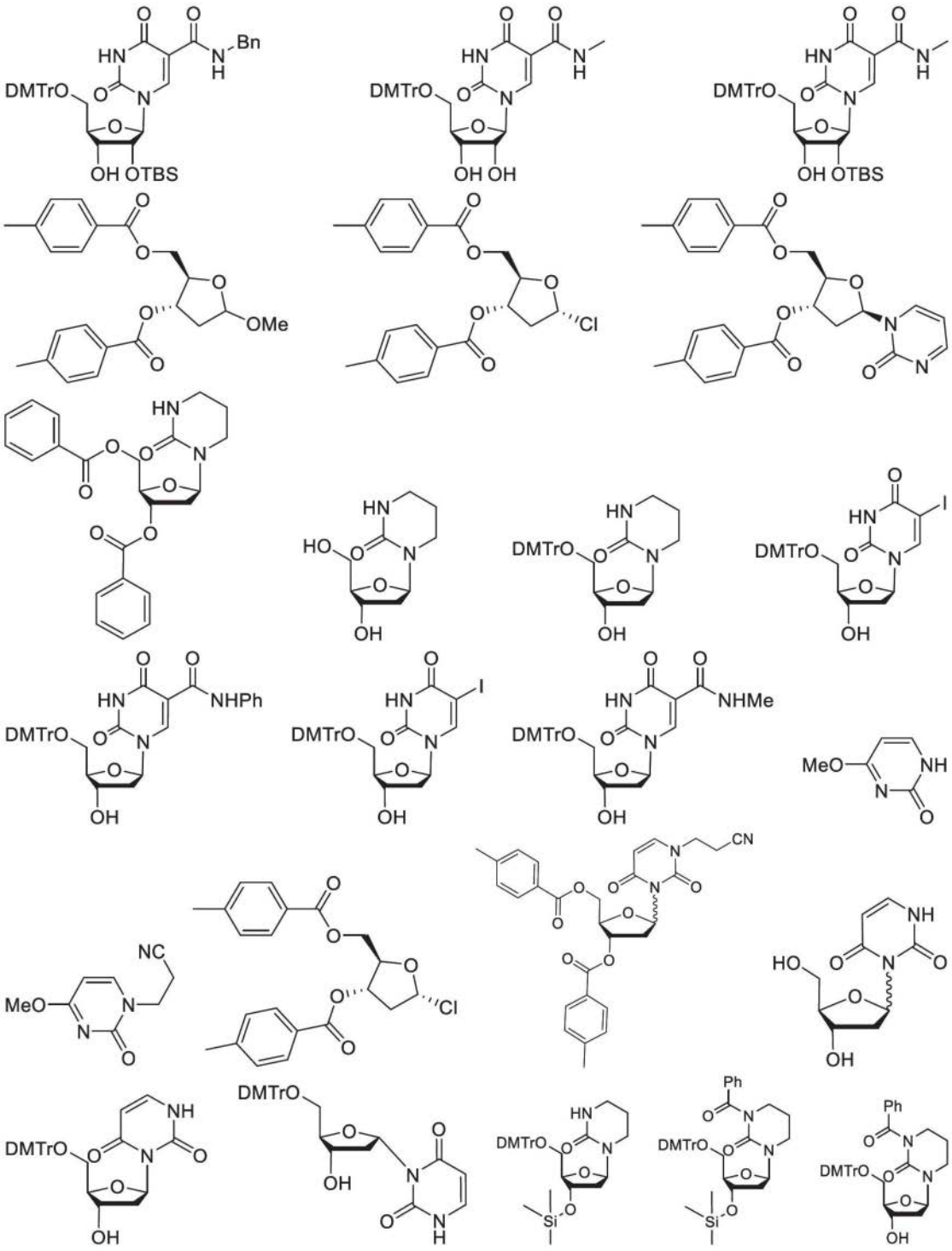
[1146] 实例2.制备寡核苷酸和组合物的技术。

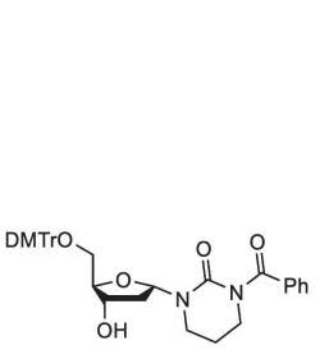
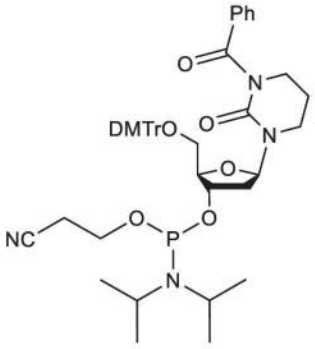
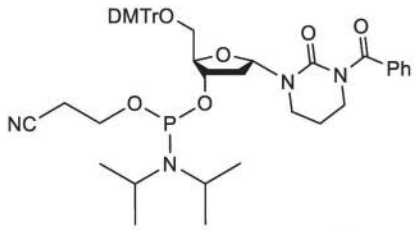
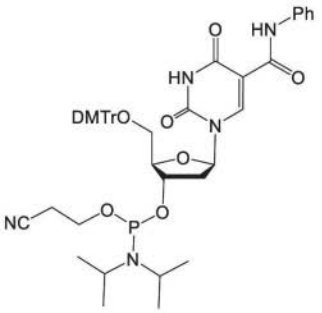
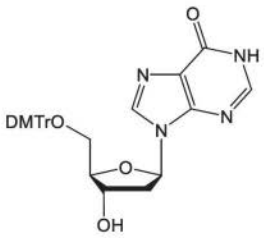
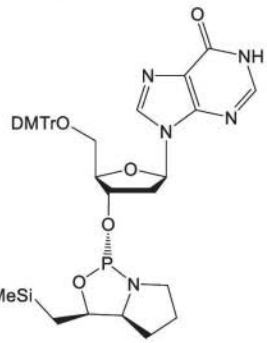
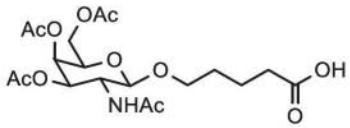
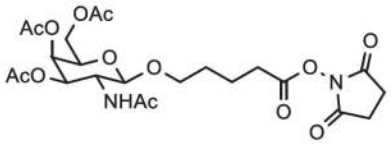
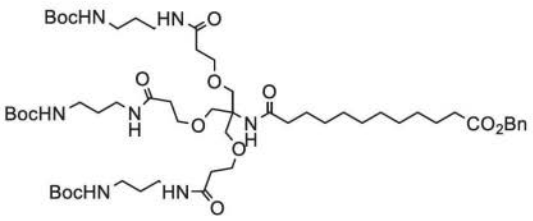
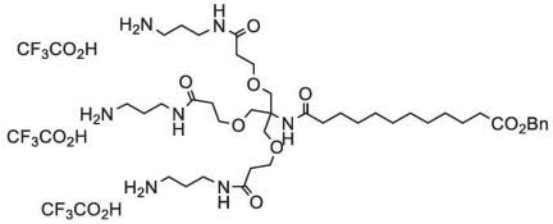
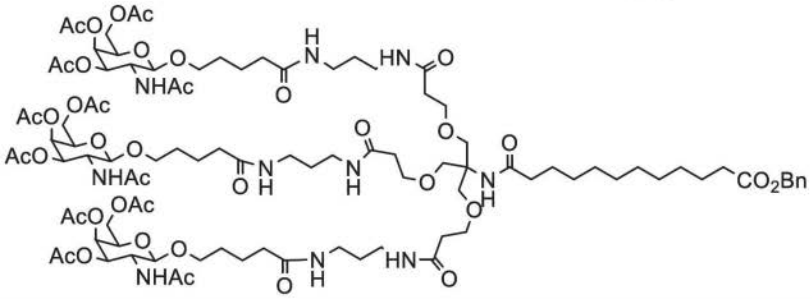
[1147] 用于制备所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物(例如,寡核苷酸组合物、药物组合物等)等)的各种技术(例如,亚磷酰胺、核碱基、核苷等)可以根据本披露使用,包括例如在以下文献中描述的方法和试剂:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,其各自的方法和试剂通

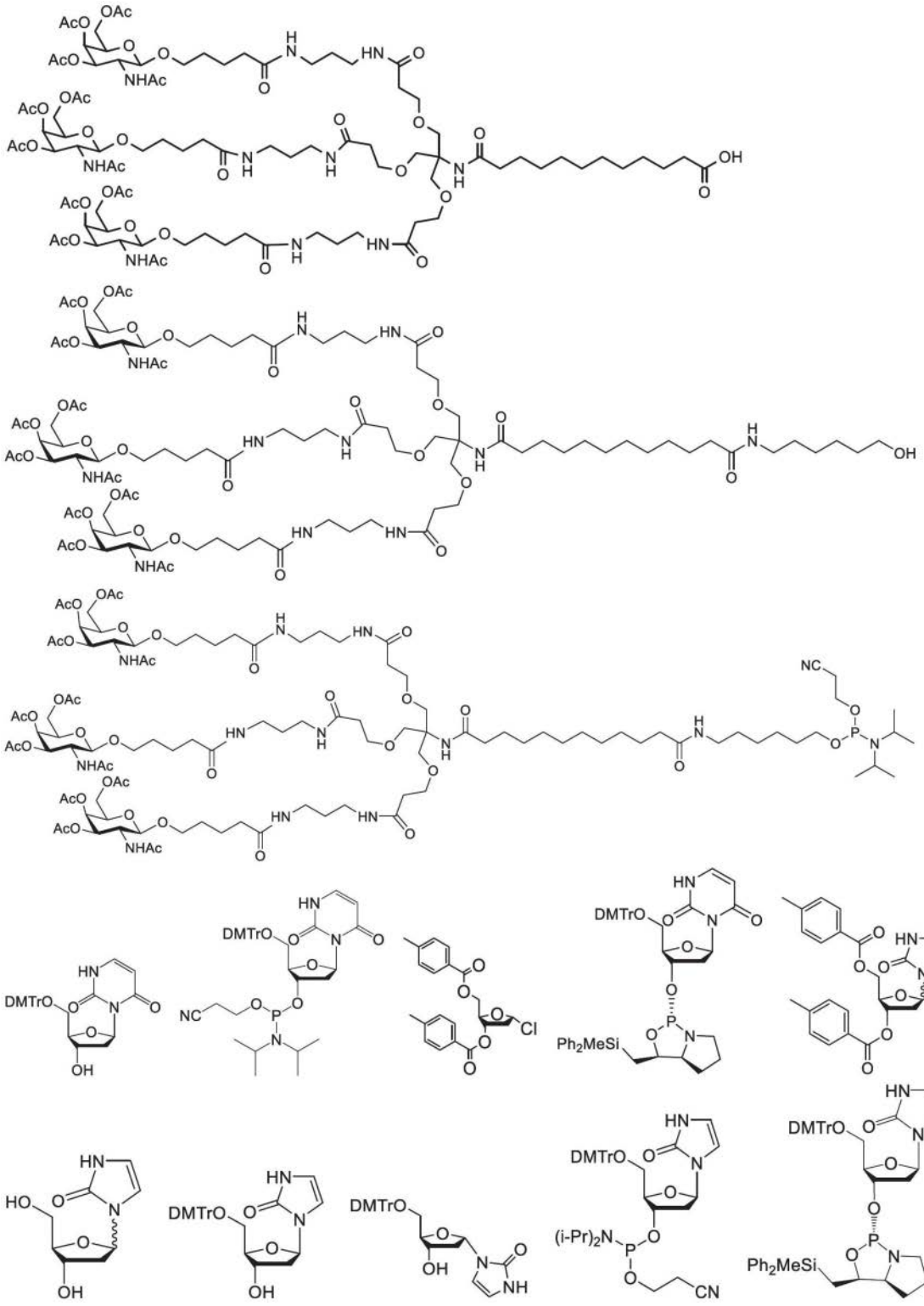
过援引并入本文。在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物的有用的技术。

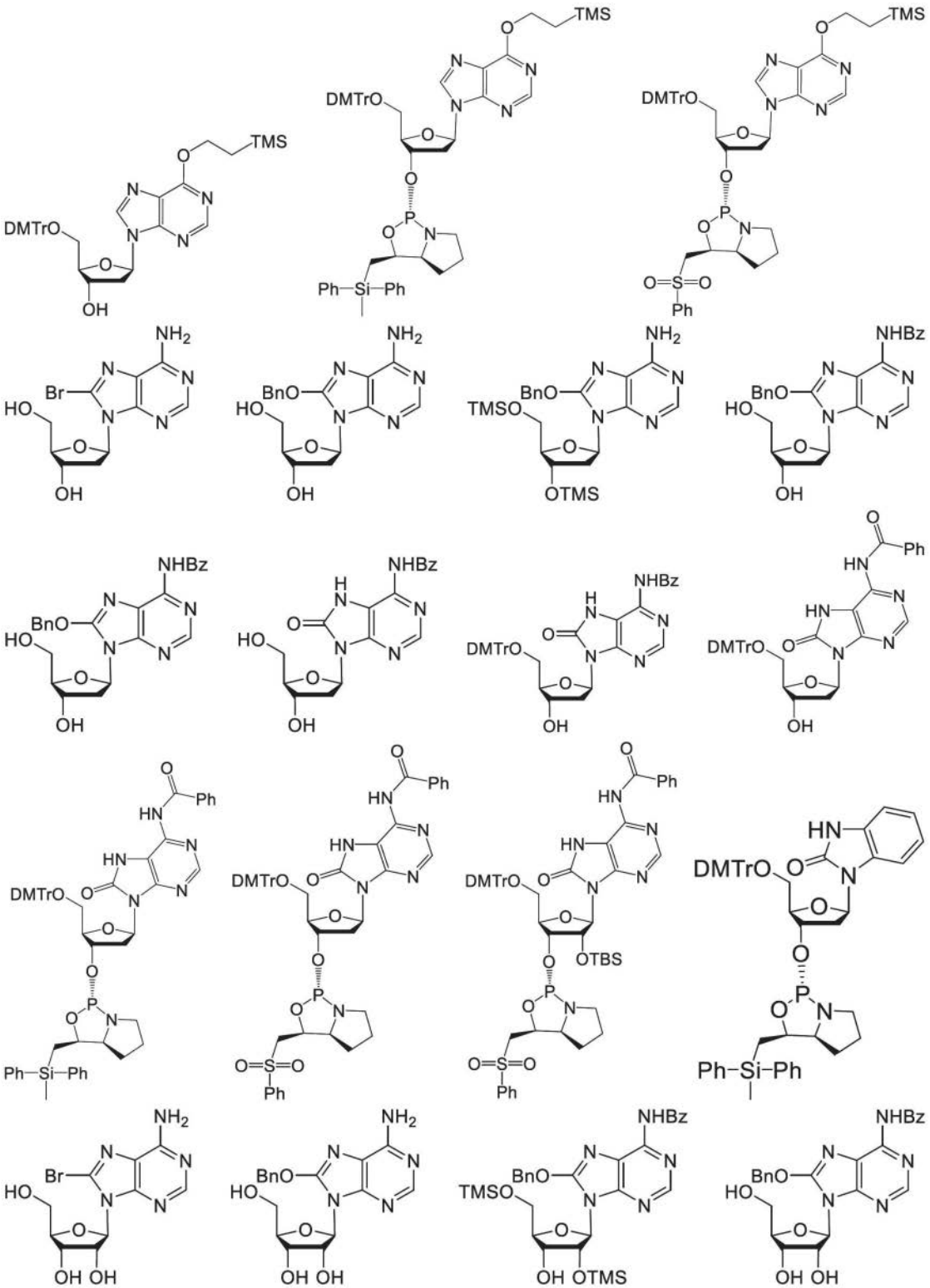
[1148] 在一些实施例中,有用的化合物包括下文描述的那些化合物或其盐。在一些实施例中,利用优先申请WO 2021/071858和WO 2022/099159中描述的技术制备化合物,其各自的全部内容通过援引并入本文。

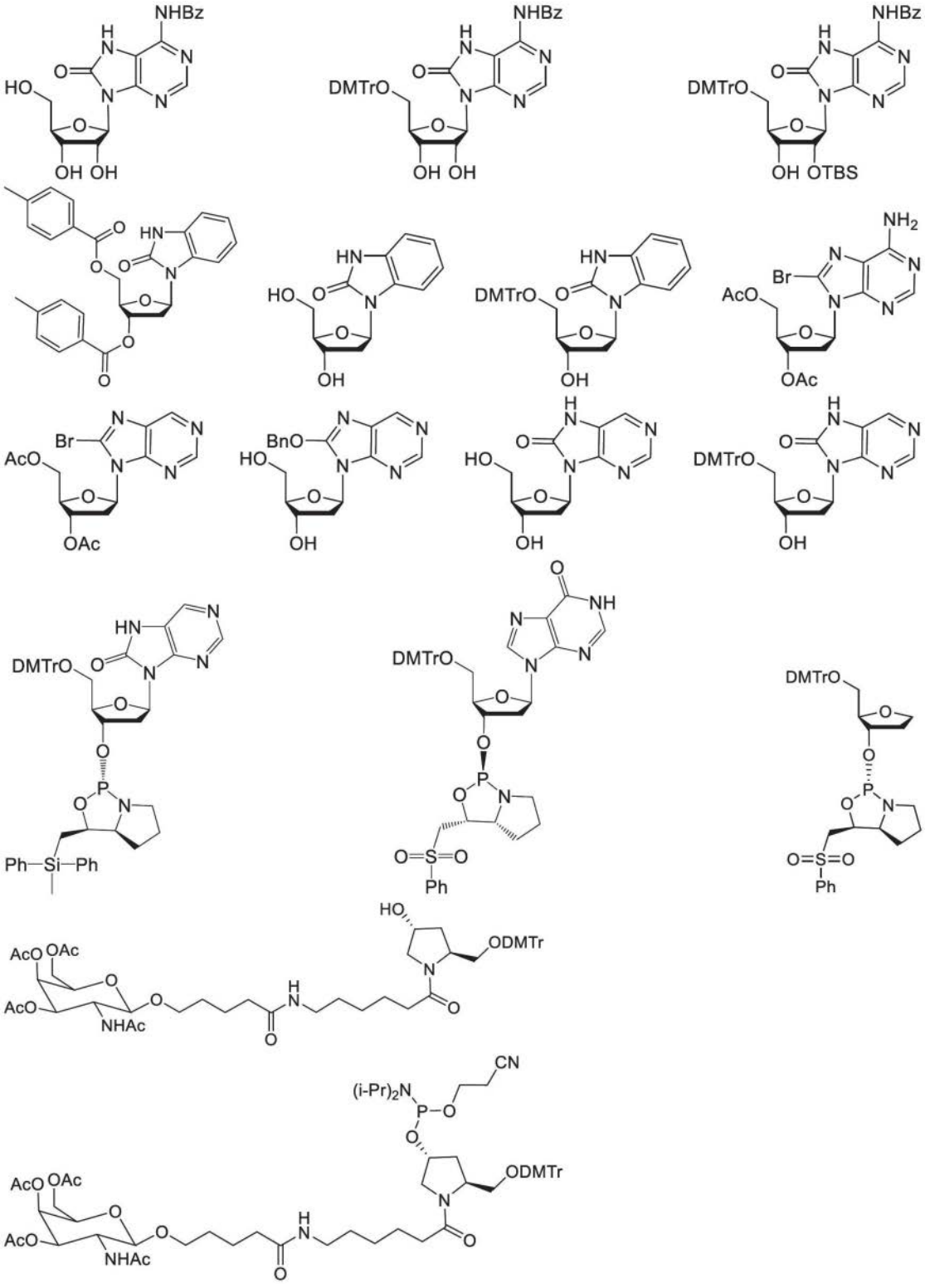


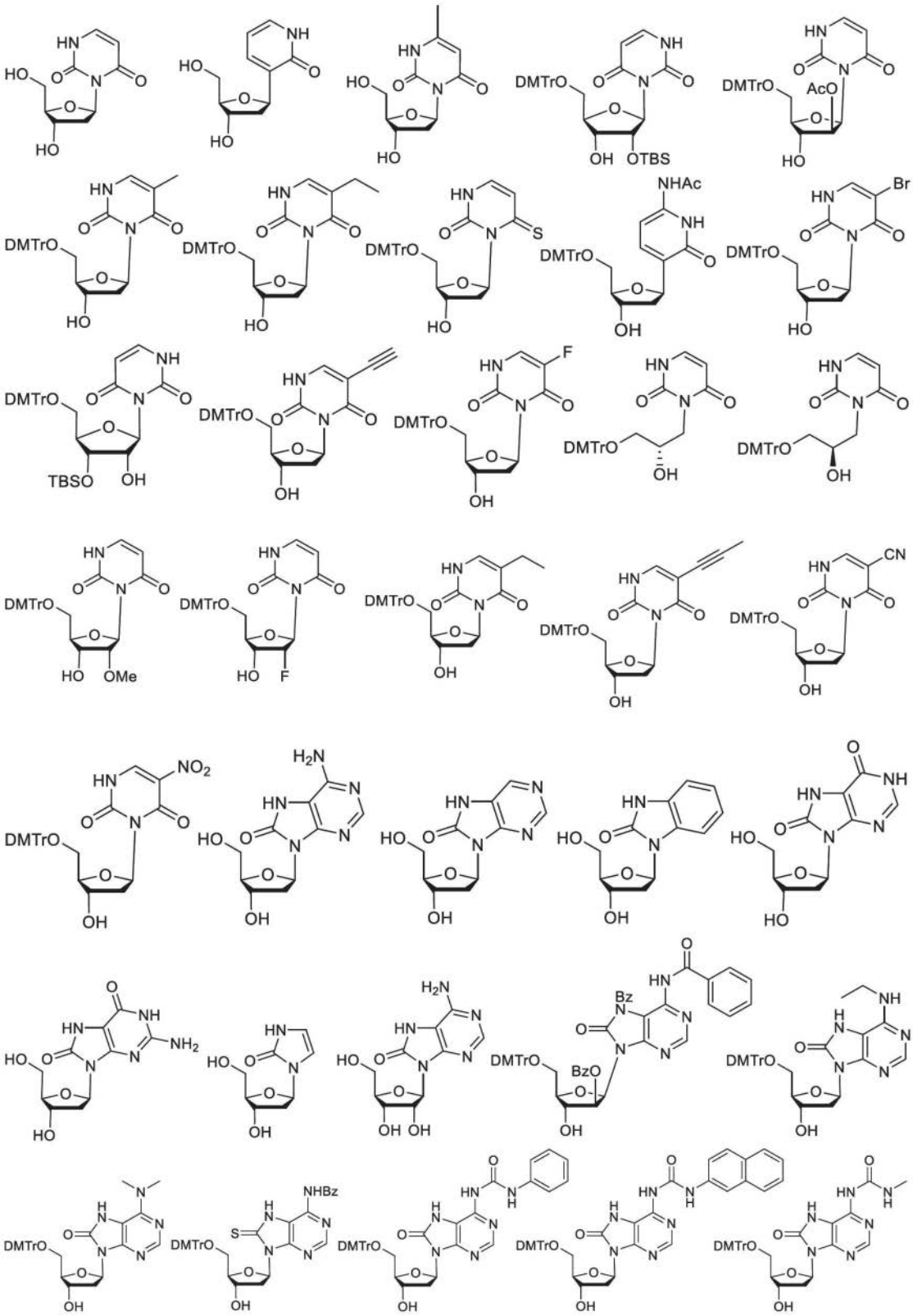

DMTrO
HN
O
N
Bn
H
OH OTBS
OH OH
OMe
Cl
HO
I
NHPh
NHMe
MeO
NC
CN
NH
OH
Ph
Si

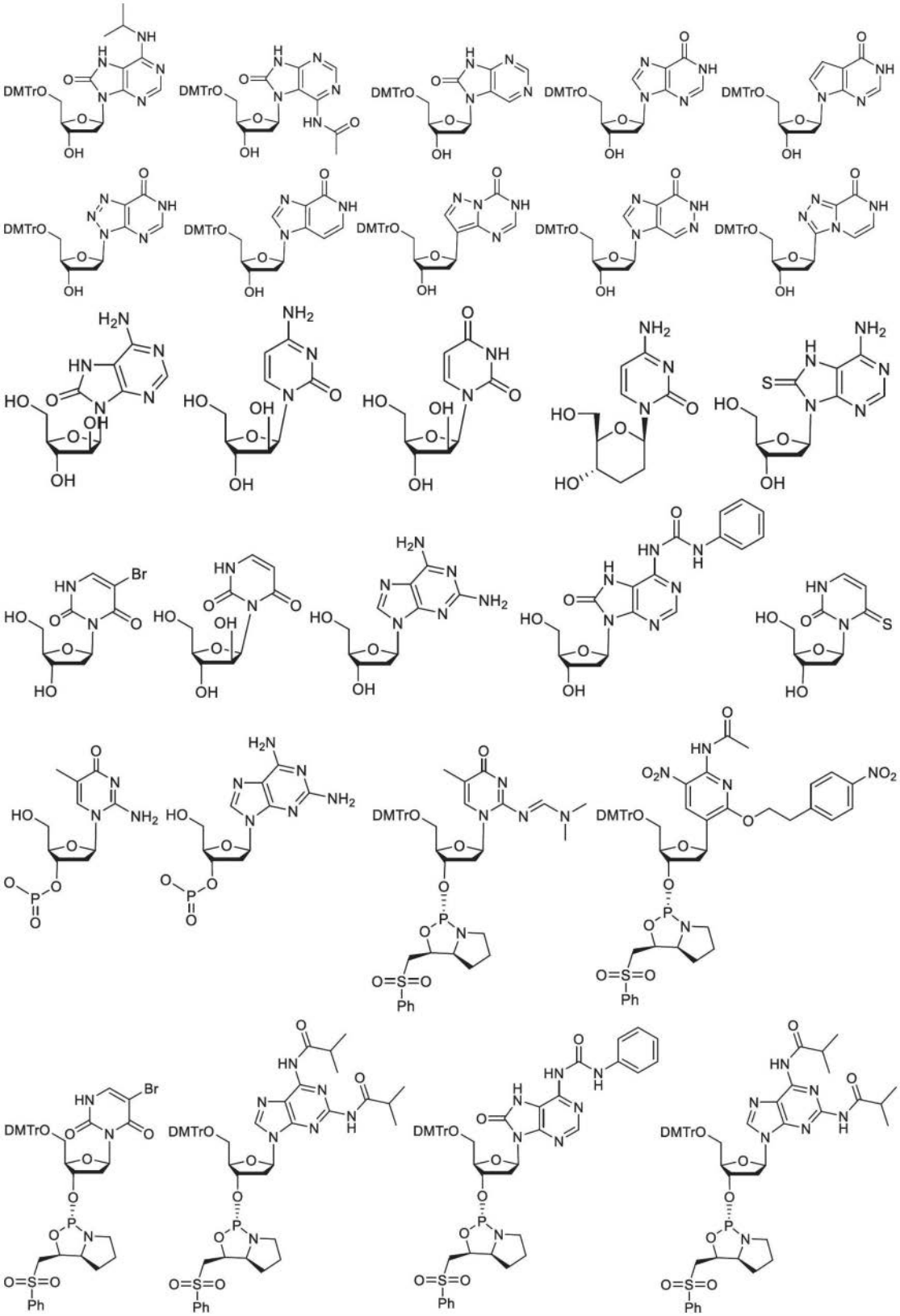












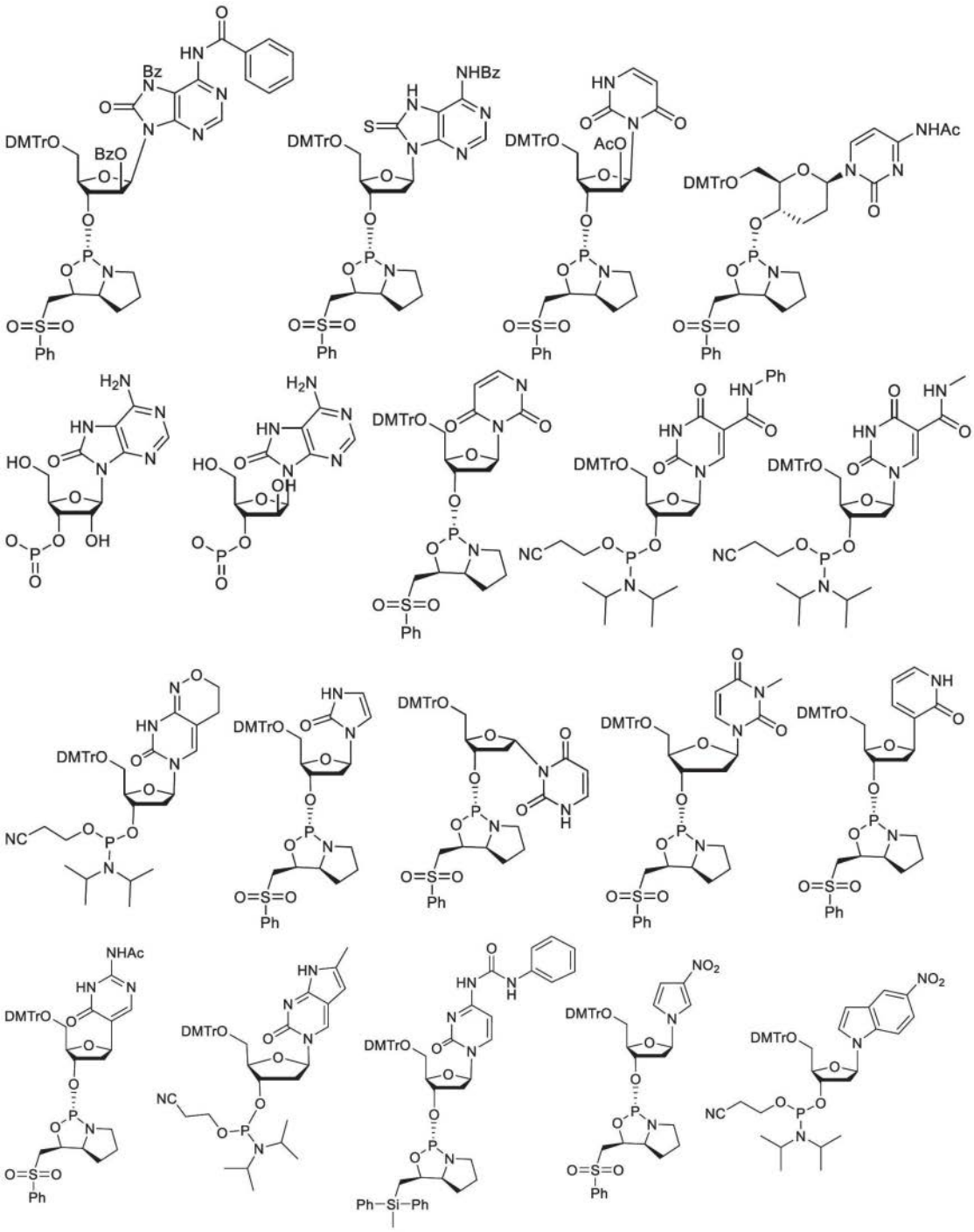


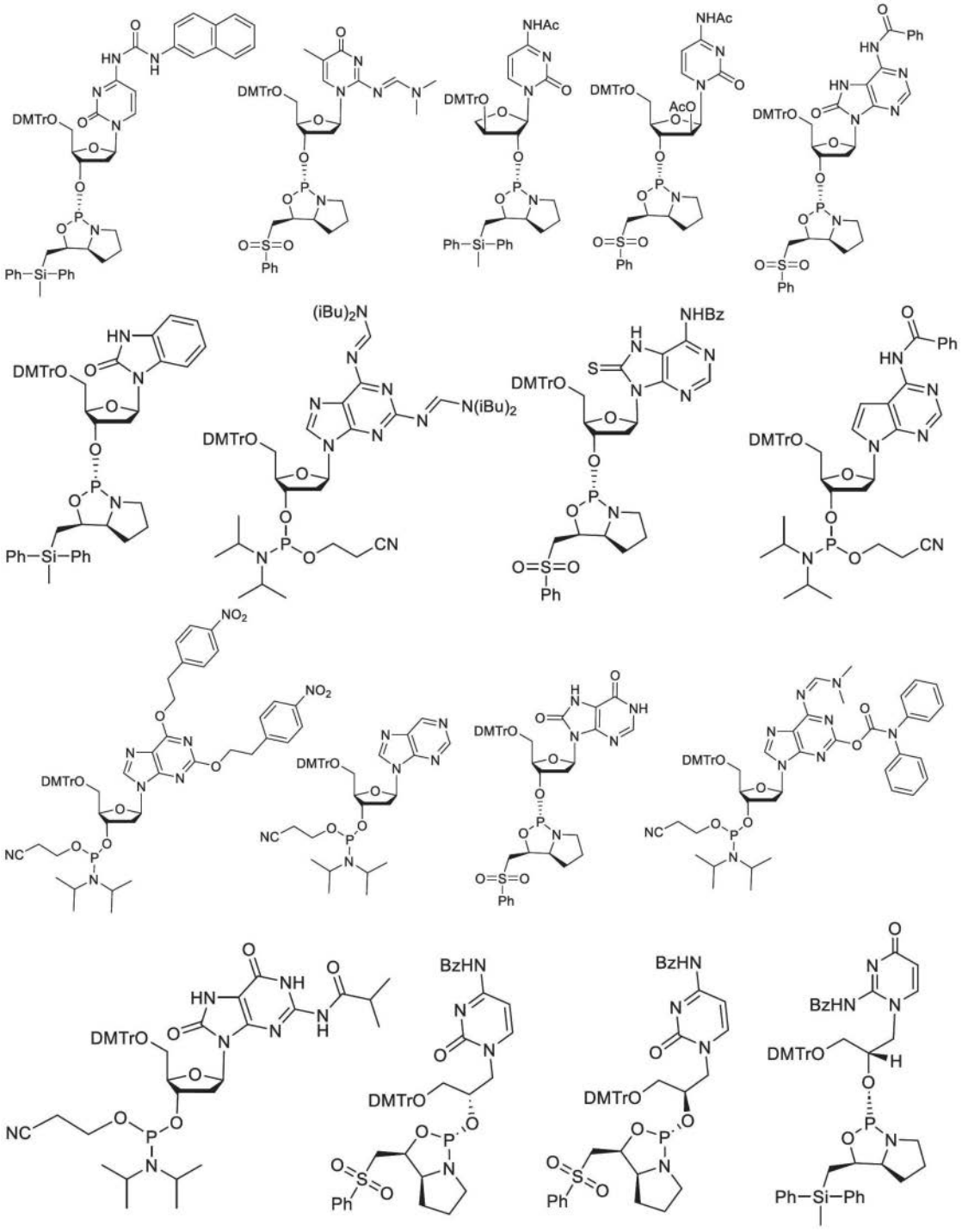


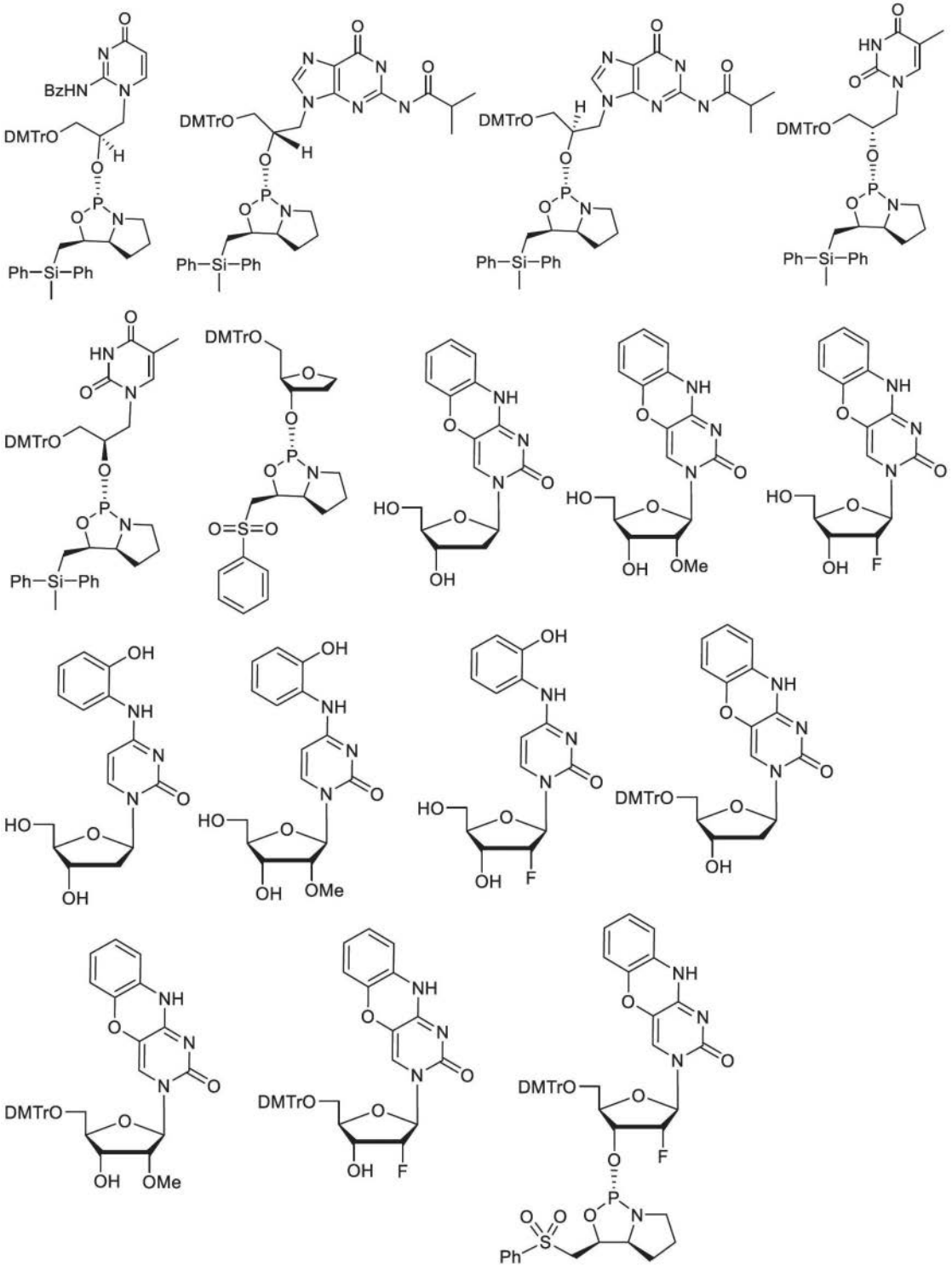






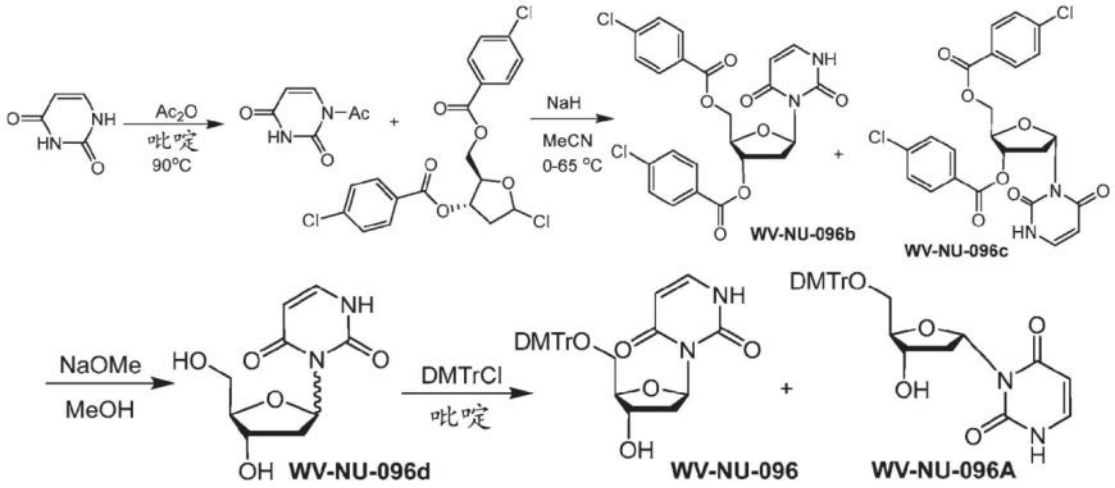


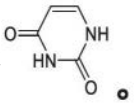
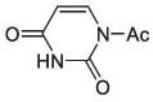
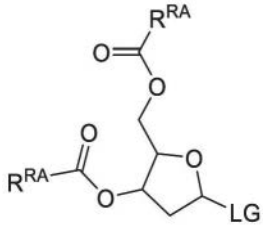
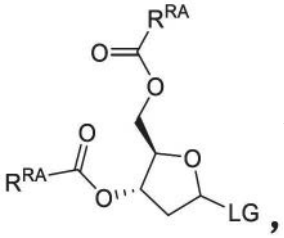


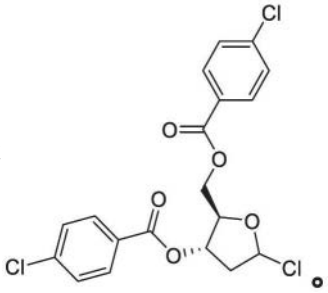
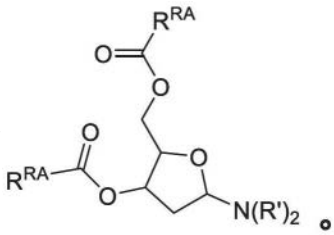
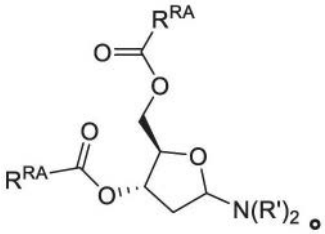
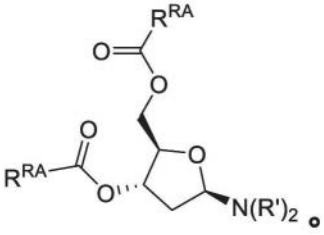
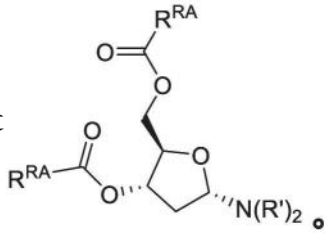
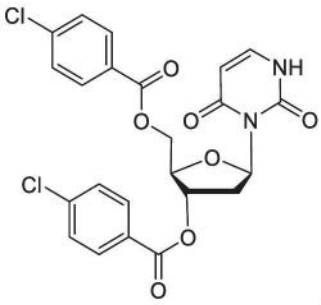
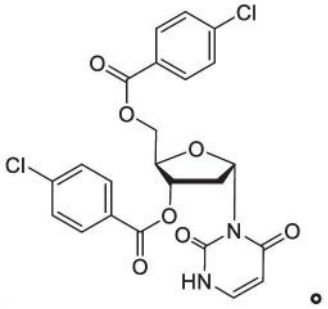
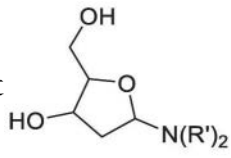
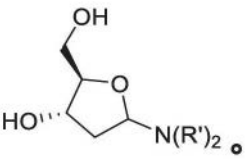
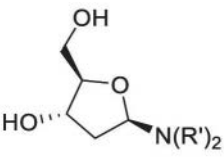
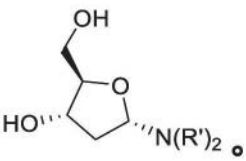
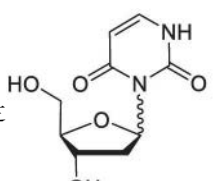
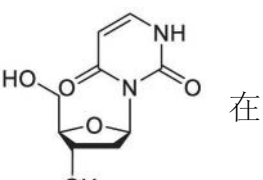
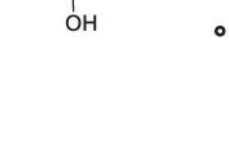
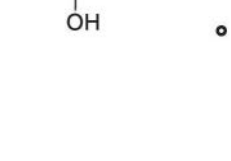


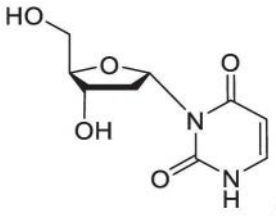
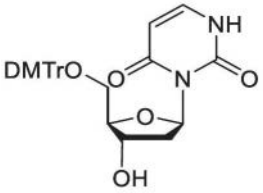
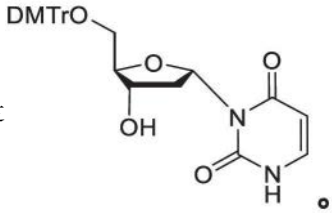
[1149] 下面作为实例描述了用于制备各种另外的有用化合物的某些有用技术。

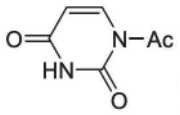
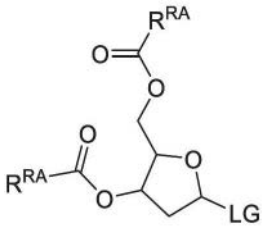
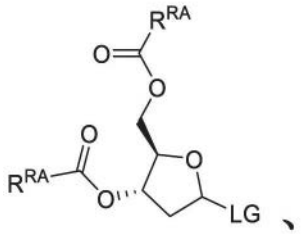
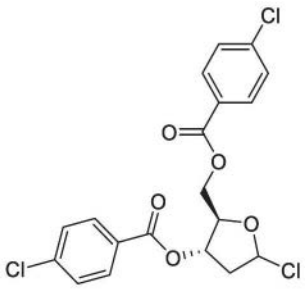
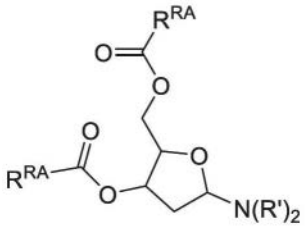
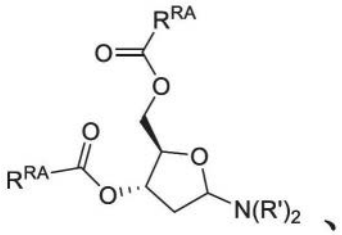
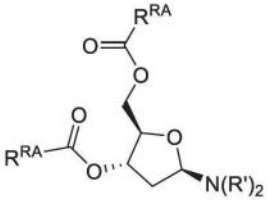
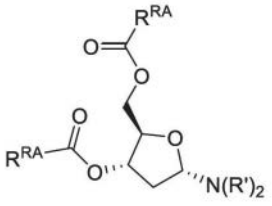
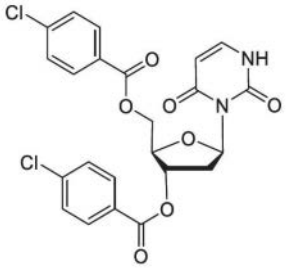
[1150] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096)和3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096A)的合成

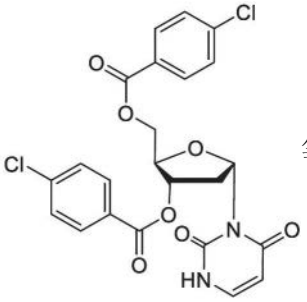


[1151] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备核碱基、糖、核苷等的化合物和方法。在一些实施例中,化合物具有$NH(R')_2$或其盐的结构,其中每个R'如本文所述。在一些实施例中,两个R'与它们所附接的氮一起形成任选地经取代的环。在一些实施例中,所形成的环是任选地经取代的除氮之外还具有0-2个杂原子的单环饱和、部分不饱和或芳族环。在一些实施例中,$NH(R')_2$是核碱基。在一些实施例中,化合物是。在一些实施例中,NH(R')或核碱基被适当保护,使得反应选择性地发生在所需的氨基基团处。在一些实施例中,化合物是。在一些实施例中,化合物具有的结构,其中LG是离去基团,并且R^{RA}各自独立地是经取代的C_{6-10}芳基或具有1-6个杂原子的C_{5-10}杂芳基,其中至少一个取代基独立地为吸电子基团。在一些实施例中,每个取代基独立地是吸电子基团。在一些实施例中,R^{RA}是经取代的芳基,其中取代基是吸电子基团。在一些实施例中,R^{RA}各自独立地是经取代的芳基,其中取代基是吸电子基团。在一些实施例中,吸电子基团是-Cl。在一些实施例中,R^{RA}是p-氯苯基。在一些实施例中,每个R^{RA}是p-氯苯基。在一些实施例中,离去基团是-Cl。本领域技术人员理解,根据本披露可以利用多种吸电子基团和离去基团。在一些实施例中,化合物是其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,

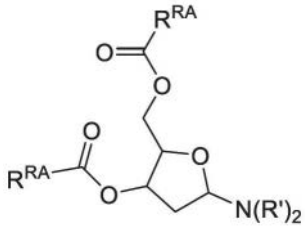
化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在一些实施例中,化合物是  。在

一些实施例中，化合物是  。在一些实施例中，化合物是  。在一些实施例中，化合物是  。

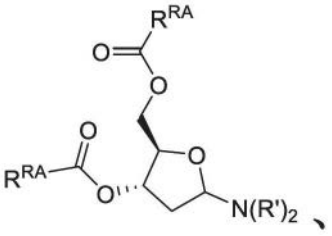
[1152] 在一些实施例中，本披露提供了如下方法，该方法包括使选自以下的化合物：具有 $NH(R')_2$ 的结构的化合物、核碱基和胺，或其盐（例如，），与具有  的结构的化合物（例如， 、 等）或其盐反应以得到具有  的结构的化合物（例如， 、 、 、 、



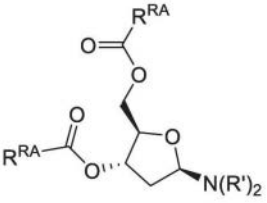
等)或其盐。在一些实施例中,反应在碱性条件下进行,例如在NaH存在下进行。在一些实施例中,合适的溶剂为MeCN。在一些实施例中,合适的温度是0℃至65℃。在一些实施例中,所提供的方法包括将具有



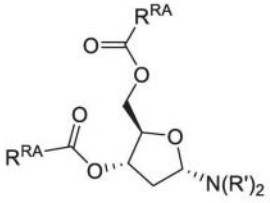
(例如,



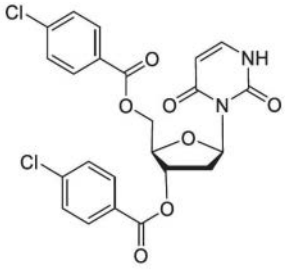
、



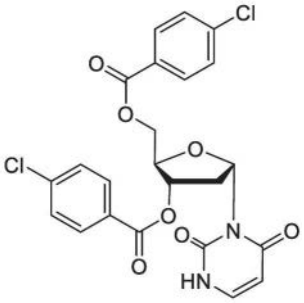
、



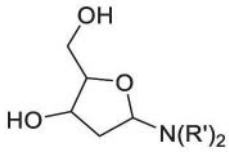
、



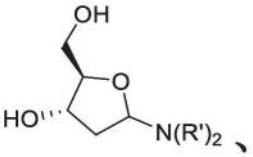
、



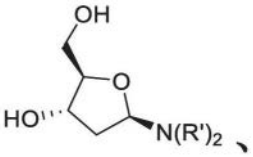
等)的结构的化合物或其盐转化成具有



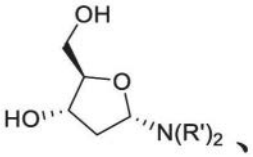
(例如,



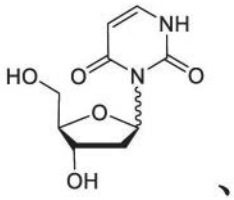
、



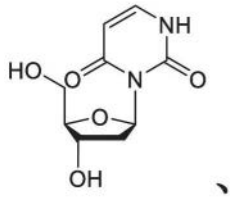
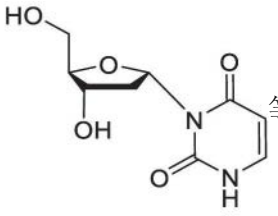
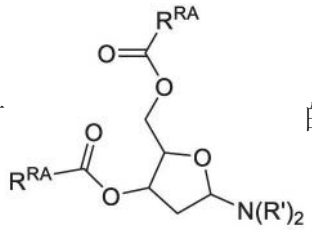
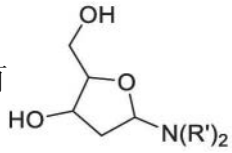
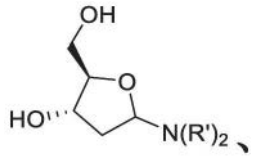
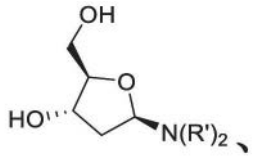
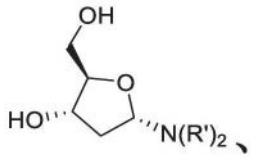
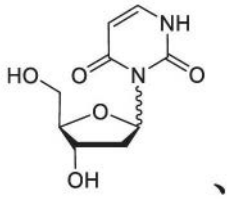
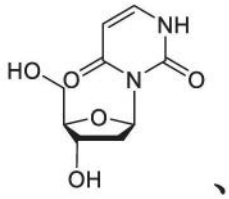
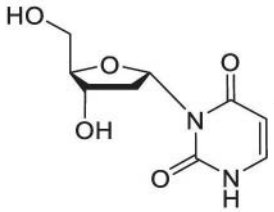
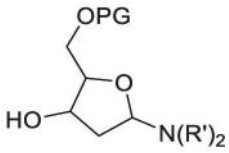
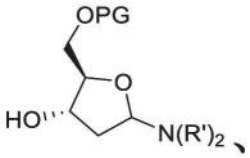
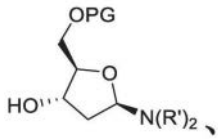
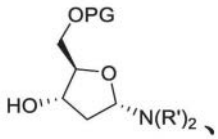
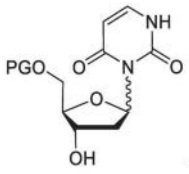
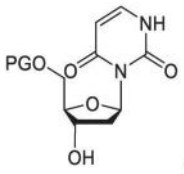
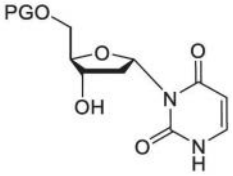
、



、

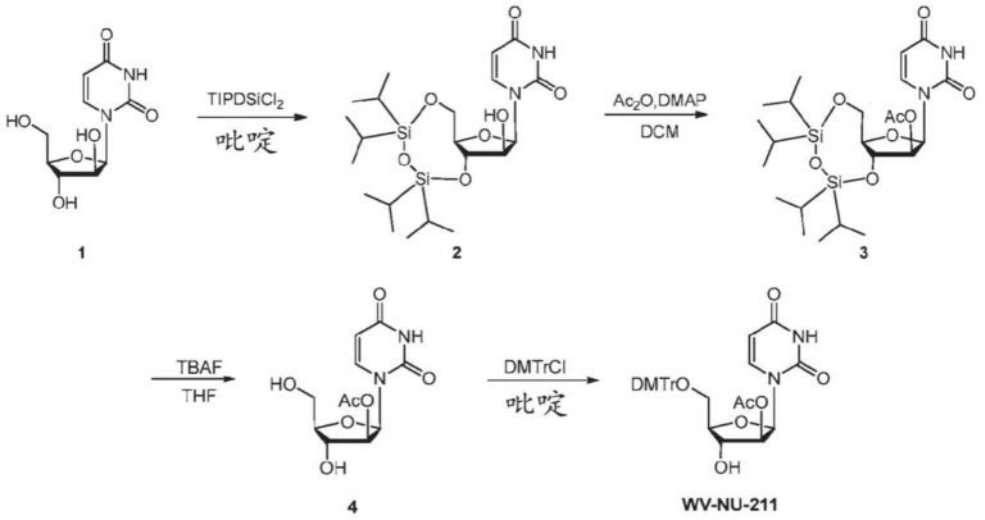


、



等)的结构的化合物或其盐。在一些实施例中,转化在酯水解条件下进行。在一些实施例中,转化包括使具有

的结构的化合物或其盐与碱(例如,NaOMe)在合适的溶剂(例如,醇,如MeOH)中接触。在一些实施例中,方法包括保护具有

的结构的化合物(例如,






等)或其盐的5’-OH以得到具有

的结构的化合物(例如,






等)或其盐,其中PGO是被保护的-OH基团。在一些实施例中,PGO作为DMTrO。

[1153] 制备各种化合物。在一些实施例中,制备技术描述于WO 2022/099159中并且通过援引并入本文

[1154] 乙酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基四氢呋喃-3-基酯(WV-NU-211)的合成



[1155] 步骤1.在0℃下,向化合物1(36g,147.42mmol,1当量)在吡啶(500mL)中的溶液中滴加在N_2中的氯-[氯(二异丙基)甲硅烷基]氧基-二异丙基-硅烷(51.15g,162.16mmol,51.88mL,1.1当量)。并且2h后,将混合物在0-20℃下搅拌10h。LCMS显示化合物1被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应液真空浓缩以得到粗产物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=0:1)。获得呈白色固体的化合物2(68g,139.71mmol,97.14%产率)。^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=10.08(s,1H),7.85(d,J=8.1Hz,1H),6.10(d,J=5.9Hz,1H),5.70(dd,J=1.1,8.0Hz,1H),4.62-4.51(m,2H),4.20-4.08(m,2H),4.05-3.97(m,1H),3.76(br d,J=8.9Hz,1H),1.14-1.01(m,28H);LCMS(M+H$^+$):487.3;纯度:94.77%。

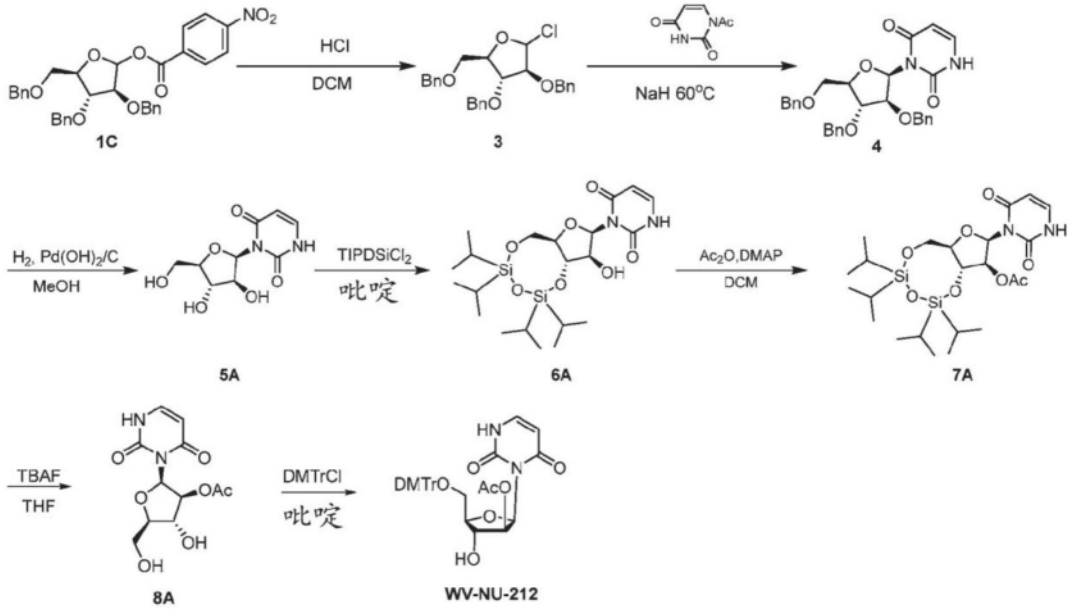
[1156] 步骤2.向化合物2(68g,139.71mmol)在DCM(700mL)和Py(37mL)中的溶液中添加Ac_2O(17.12g,167.66mmol)和DMAP(17.07g,139.71mmol,1当量)。将混合物在25℃下搅拌2h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物用水(400mL)稀释,然后分离并收集有机相。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩得到残余物。获得呈无色油状物的化合物3(73g,粗品)。LCMS(M+H$^+$):551.3。

[1157] 步骤3.向化合物3(73g,138.06mmol)在THF(700mL)中的溶液中添加TBAF(1M,207.10mL)和AcOH(8.29g,138.06mmol)。将混合物在20℃下搅拌2h。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,乙酸乙酯:MeOH=20:1至5:1)。减压浓缩后,将600mL乙酸乙酯搅拌10min,并通过过滤获得白色固体。获得呈白色固体的化合物4(12g,40.00%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.71(d,J=8.1Hz,1H),6.14(d,J=5.3Hz,1H),5.62(d,J=8.0Hz,1H),5.15(t,J=4.8Hz,1H),4.12(t,J=5.0Hz,1H),3.78(q,J=4.8Hz,1H),3.68-3.56(m,2H),3.19-3.12(m,1H),1.93(s,3H),0.93(t,J=7.3Hz,1H);LCMS(M+H$^+$):309.1。

[1158] 步骤4.向化合物3(12g,41.92mmol)在吡啶(120mL)中的溶液中添加DMTCl(14.20g,41.92mmol)。将混合物在25℃下搅拌16h。TLC指示化合物4被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1,5%TEA)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-211(19.8g,33.64mmol,82.50%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.37(s,1H),7.47-7.20(m,11H),6.91(dd,J=1.8,8.8Hz,4H),6.17(d,J=4.9Hz,1H),5.90(d,J=5.0Hz,1H),5.45

(dd,J＝1.6,8.1Hz,1H),5.10(t,J＝4.4Hz,1H),4.13(q,J＝4.7Hz,1H),3.74(s,6H),3.31-3.19(m,2H),1.83(s,3H);LCMS(M-H$^+$):587.2;纯度:96.89%。

[1159] 乙酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基四氢呋喃-3-基酯(WV-NU-212)的合成



[1160] 步骤1.对于两批:在0℃下,将HCl(3.20g,87.78mmol,3.14mL,1当量)鼓泡到1C(50g,87.78mmol,1当量)在DCM(300mL)中的溶液中持续0.3h。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝3:1)指示化合物1C被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。浓缩反应混合物以给出粗产物。获得呈无色油状物的化合物3(77g,粗品)。

[1161] 步骤2.对于两批:向1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(18.93g,122.80mmol,1.4当量)在MeCN(300mL)中的溶液中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0℃,然后分批添加NaH(5.26g,131.57mmol,60%纯度,1.5当量)到反应混合物中并在0℃下搅拌30min。之后,将化合物3(38.5g,87.71mmol,1当量)添加到混合物中。将混合物在60℃下搅拌4h。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝1:1)指示化合物3被完全消耗。将反应混合物在H_2O(500mL)和EtOAc(3000mL)之间分配。分离有机相,用盐水(50mL)洗涤,经NA_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至1/1)纯化以得到呈白色固体的化合物4(20,38.48mmol,21.94%产率,99%纯度)。^{1}HNMR(氯仿-d,400MHz):δ＝8.64(br d,J＝5.3Hz,1H),7.20-7.41(m,17H),6.79-6.97(m,2H),5.62(dd,J＝7.7,1.4Hz,1H),4.40-4.71(m,8H),4.08-4.17(m,1H),3.96(dd,J＝10.2,8.3Hz,1H),3.72ppm(dd,J＝10.4,2.8Hz,1H);LCMS:M+H+＝515。

[1162] 步骤3.将化合物4(20g,38.87mmol,1当量)的溶液溶解在MeOH(600mL)中。添加Pd(OH)$_2$(3.20g,4.56mmol,20%纯度,1.17e-1当量),随后添加HCl(1M,58.30mL,1.5当量)。将反应混合物在H_2气氛(10psi)下在15℃下剧烈搅拌4.5h。TLC(二氯甲烷:甲醇＝5:1)指示化合物4被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。真空浓缩以给出呈无色油状物的化合物5A(9.4g,粗品),无需进一步纯化。

[1163] 步骤4.向5A(9g,36.85mmol,1当量)在吡啶(30mL)中的溶液中添加氯-[氯(二异丙基)甲硅烷基]氧基-二异丙基-硅烷(13.95g,44.23mmol,14.15mL,1.2当量)。将混合物在15

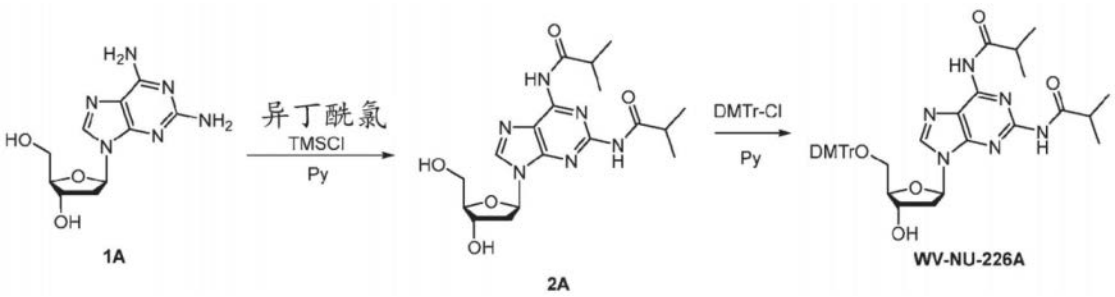
℃下搅拌12h。LC-MS显示化合物5A被完全消耗,并检测到一个具有所期望m/z的主峰。将反应混合物在H_2O(20mL)和EtOAc(60mL)之间分配。分离有机相,用盐水(23mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。获得呈白色固体的化合物6A(10g,20.55mmol,55.75%产率)。^{1}H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=11.00(br d,J=5.0Hz,1H),7.38(dd,J=7.5,5.9Hz,1H),6.39(d,J=8.6Hz,1H),5.47-5.55(m,2H),4.81(t,J=6.9Hz,1H),4.32-4.41(m,1H),4.16(dd,J=10.9,9.3Hz,1H),3.76(dd,J=11.0,3.5Hz,1H),3.56-3.63(m,1H),0.95-1.12ppm(m,28H);LCMS($M+H^+$):487。

[1164] 步骤5.向化合物6A(11.00g,22.60mmol,1当量)在DCM(200mL)中的溶液中添加Ac20(2.08g,20.34mmol,1.91mL,0.9当量)和DMAP(1.38g,11.30mmol,0.5当量)。将混合物在15℃下搅拌4h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)指示化合物6A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在DCM(200mL)和H20(100mL)之间分配。分离有机相,用盐水(5mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物7A(9g,17.02mmol,75.31%产率)。^{1}HNMR(氯仿-d,400MHz):δ=11.11(br d,J=4.1Hz,1H),7.41(dd,J=7.3,5.3Hz,1H),6.62(d,J=8.3Hz,1H),5.52(d,J=7.5Hz,1H),5.32(dd,J=8.2,7.2Hz,1H),5.15(t,J=7.1Hz,1H),4.12(dd,J=11.0,8.8Hz,1H),3.86(dd,J=11.2,3.5Hz,1H),3.68-3.80(m,1H),1.85-1.91(m,3H),0.89-1.12ppm(m,28H)。

[1165] 步骤6.向化合物7A(9g,17.02mmol,1当量)在THF(100mL)中的溶液中添加TBAF(1M,34.04mL,2当量)。将混合物在15℃下搅拌4h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1)指示化合物7A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将过滤物真空浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。获得呈白色固体的化合物8A(3g,10.48mmol,61.57%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz):δ=11.06(br d,J=5.5Hz,1H),7.28-7.62(m,1H),6.62(d,J=8.3Hz,1H),5.53(dd,J=7.5,1.3Hz,1H),5.05-5.22(m,1H),4.38-4.58(m,1H),3.55-3.71(m,3H),1.91ppm(s,3H)。

[1166] 步骤7.向化合物8A(2.9g,10.13mmol,1当量)在吡啶(50mL)中的溶液中添加DMTCl(3.09g,9.12mmol,0.9当量)。将混合物在25℃下搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)指示化合物8A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在EtOAc(200mL)和H_2O(100mL)之间分配。分离有机相,用盐水(50mL)洗涤,经NA_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的乙酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基四氢呋喃-3-基酯(WV-NU-212)(2g,3.40mmol,33.54%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz):δ=11.04(br s,1H),7.46(br d,J=7.7Hz,1H),7.39(br d,J=7.3Hz,2H),7.17-7.30(m,7H),6.85(t,J=9.3Hz,4H),6.70(d,J=8.3Hz,1H),5.39-5.57(m,2H),5.18(t,J=7.7Hz,1H),4.36-4.47(m,1H),3.84-3.95(m,1H),1.89ppm(s,3H);LCMS(M-H+):587;LCMS纯度:96.899。

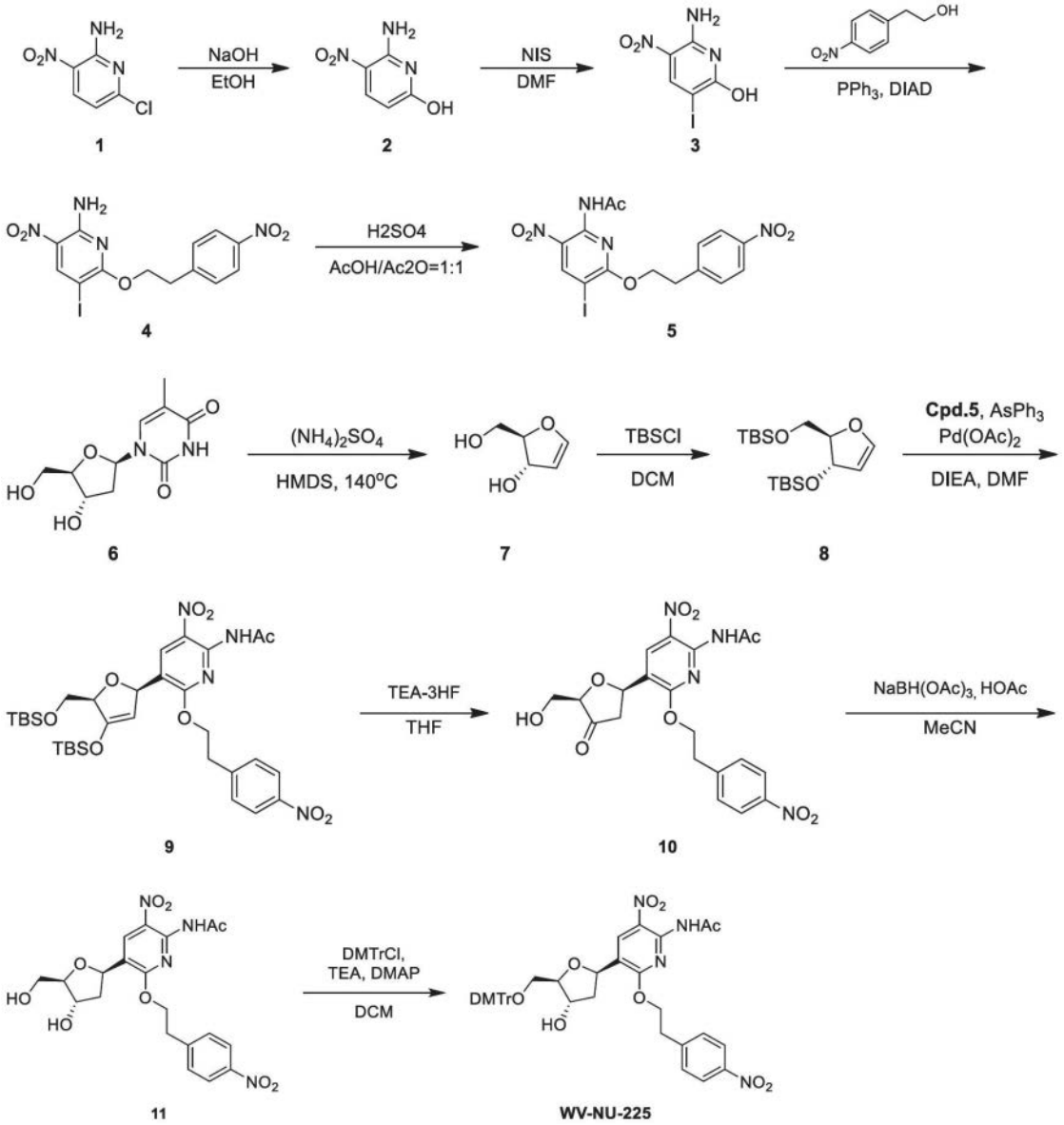
[1167] N,N'-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-2,6-二基)双(2-甲基丙酰胺)(WV-NU-226A)的合成



[1168] 步骤1.向(2R,3S,5R)-5-(2,6-二氨基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(1A)(10.5g,39.44mmol)在Py(500mL)中的溶液中,然后添加TMSCl(39.90g,367.26mmol)并将溶液在25℃下搅拌30min。然后滴加2-甲基丙酰氯(34.02g,319.29mmol),并将反应混合物在25℃下搅拌3h。LCMS显示化合物1A被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应混合物在冰浴中冷却,添加H_2O(100mL),并且随后,5min后,引入28%氨水(100mL)。在25℃下继续搅拌30min。蒸发反应混合物中的溶剂,并且将剩余的油状残余物与甲苯(3×100mL)一起蒸发,得到粗油状产物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯至乙酸乙酯:MeOH=1:1至5:1)。获得呈白色固体的N,N'-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-2,6-二基)双(2-甲基丙酰胺)(2A)(8.2g,51.25%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.50(s,1H),10.34(s,1H),8.51(s,1H),6.35(t,J=6.8Hz,1H),5.32(d,J=4.0Hz,1H),4.90(t,J=5.6Hz,1H),4.43(br d,J=2.3Hz,1H),4.09(q,J=5.3Hz,1H),3.89-3.83(m,1H),3.63-3.49(m,2H),3.03(td,J=6.8,13.6Hz,1H),2.95-2.85(m,1H),2.74(td,J=6.6,13.3Hz,1H),2.30(ddd,J=3.3,6.1,13.2Hz,1H),1.10(dd,J=6.8,12.3Hz,12H);LCMS(M+H$^+$):407.2。

[1169] 步骤2.向N,N'-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-2,6-二基)双(2-甲基丙酰胺)(2A)(8g,19.68mmol)在Py(100mL)中的溶液中添加在N_2中的DMT-Cl(7.34g,21.65mmol)。将混合物在25℃下搅拌4h。LCMS显示化合物2A被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将粗产物通过以下纯化:反相HPLC(柱:Phenomenex C18 250*100mm 10u;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:45%-75%,20min)。获得呈白色固体的N,N'-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-2,6-二基)双(2-甲基丙酰胺)(WV-NU-226A)(3.4g,34.00%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.50(s,1H),10.27(s,1H),8.39(s,1H),7.33-7.27(m,2H),7.23-7.12(m,7H),6.82-6.72(m,4H),6.39(t,J=6.4Hz,1H),5.33(d,J=4.6Hz,1H),4.53(五重峰,J=5.0Hz,1H),4.10(q,J=5.3Hz,1H),3.99-3.93(m,1H),3.70(d,J=3.0Hz,6H),3.32-3.26(m,1H),3.05(td,J=6.8,13.6Hz,1H),2.87(qd,J=6.3,12.9Hz,2H),2.41-2.32(m,1H),1.12(d,J=6.8Hz,6H),1.05(t,J=7.4Hz,6H);LCMS(M-H$^+$):707.4,纯度:100.0%。

[1170] N-(5-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3-硝基-6-(4-硝基苯氧基)吡啶-2-基)乙酰胺(WV-NU-225)的合成



[1171] 步骤1.向化合物1(50g,288.09mmol.)在回流EtOH(800mL)和H_2O(300mL)中的悬浮液中添加NaOH(10M,182.65mL)。将混合物在110℃下搅拌5min。反应混合物变为澄清,并且颜色从黄色变为橘色。将得到的橘色溶液在冰上冷却。用水性6M HCl酸化产生大量黄色沉淀。过滤,所得固体即为所期望的产物。获得呈黄色固体的化合物2(44g,粗品)。

[1172] 步骤2.通过将化合物2(44g,283.67mmol.)与DMF在高真空下共蒸发使其无水,然后悬浮在DMF(450mL)中,添加NIS(95.73g,425.50mmol),并将所得红色、澄清溶液在15℃下在暗处搅拌20h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应溶液缓慢添加至剧烈搅拌的水(4L)中,过滤所得悬浮液,得到所期望的固体。获得呈黄色固体的化合物3(59g,粗品)。LCMS(M-H$^+$):279.9。

[1173] 步骤3.向化合物3(59g,209.96mmol)在THF(1500mL)中的溶液中添加2-(4-硝基苯基)乙醇(44.25g,264.71mmol)、PPh_3(82.60g,314.94mmol,1.5当量)和DEAD(54.85g,314.94mmol.)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物通过快速色谱法(二氧化硅,石油醚:DCM=1/0至0/1)纯化以给出黄色固体,然后将其用石油醚/EtOAc(600mL/200mL)处理并将不溶固体过滤并干燥。获

得呈黄色固体的化合物4(30g,33.22%产率)。LCMS(M-H+):429.1。

[1174] 步骤4.向化合物4(15g,34.87mmol)在AcOH(120mL)和Ac_2O(120mL)中的溶液中添加H_2SO_4(1.71g,17.44mmol)。将混合物在65℃下搅拌1h。LCMS显示化合物4被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物冷却至室温并通过饱和$NaHCO_3$中和,然后将混合物用乙酸乙酯(300mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物5(15g,91.10%产率)。LCMS(M+H+):473.1

[1175] 步骤5.在氩气下,将化合物6(100g,412.83mmol)引入干燥烧瓶中。添加HMDS(1000mL),并搅拌溶液直至溶解。添加$(NH_4)_2SO_4$(87.28g,660.53mmol)之后,将溶液在140℃下回流4h。TLC显示起始材料被消耗,TLC显示有几个斑点,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化以得到呈黄色油状物的化合物7(21g,43.81%产率)。^{1}HNMR(氯仿-d,400MHz):δ=6.48-6.53(m,1H),5.03(t,J=2.6Hz,1H),4.82(dt,J=2.6,1.3Hz,1H),4.32(td,J=6.5,2.7Hz,1H),3.66(dd,J=10.7,6.2Hz,1H),3.45ppm(dd,J=10.7,6.8Hz,1H)。

[1176] 步骤6.向化合物7(21g,180.86mmol)在DCM(1000mL)中的溶液中添加TBSCl(81.78g,542.57mmol)和咪唑(61.56g,904.28mmol.)。将混合物在15℃下搅拌13h。TLC指示化合物7被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至5/1)纯化以得到呈黄色油状物的化合物8(21g,33.69%产率)。^{1}HNMR(氯仿-d,400MHz):δ=6.59-6.67(m,1H),5.05(t,J=2.6Hz,1H),4.79-4.85(m,1H),4.09-4.21(m,1H),3.59-3.68(m,1H),3.45(dd,J=10.9,6.4Hz,1H),0.83-0.88(m,18H),0.83-0.89(m,1H),0.02-0.09ppm(m,12H)。

[1177] 步骤7.在N_2气氛下,将BSA(33.39g,164.13mmol)滴加到化合物8(19.74g,57.28mmol.)在DMF(500mL)中的悬浮液中。搅拌1h后,反应变成澄清溶液。然后添加DIEA(21.21g,164.13mmol)和化合物5(25g,52.94mmol,1当量)。在单独的烧瓶中,将三苯基胂(3.24g,10.59mmol)和二乙酰氧基钯(1.19g,5.29mmol)溶解在DMF(50mL)中,并且将混合物在20℃下搅拌30min。然后将此混合物缓慢添加到第一烧瓶中,并且将混合物在80℃下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望的质量。通过添加H_2O(600mL)淬灭反应并将溶剂在减压下蒸发。将残余物再次溶于EtOAc(500mL),并用H2O(2*500mL)和盐水(500mL)洗涤。将有机层经Na_2SO_4干燥、过滤、并且在减压下进行浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈棕色胶状物的化合物9(11g,30.16%产率)。^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=10.61(s,1H),8.67(s,1H),8.20(d,J=8.6Hz,2H),7.49(d,J=8.6Hz,2H),5.82-5.71(m,1H),4.75(t,J=6.4Hz,2H),4.67(s,1H),4.62-4.56(m,1H),3.91(dd,J=1.8,11.3Hz,1H),3.73(dd,J=3.9,11.3Hz,1H),3.33-3.22(m,2H),2.46(s,3H),0.94(s,9H),0.82(s,9H),0.17(d,J=15.8Hz,6H),0.02(d,J=2.1Hz,6H);LCMS(M-H+):687.4。

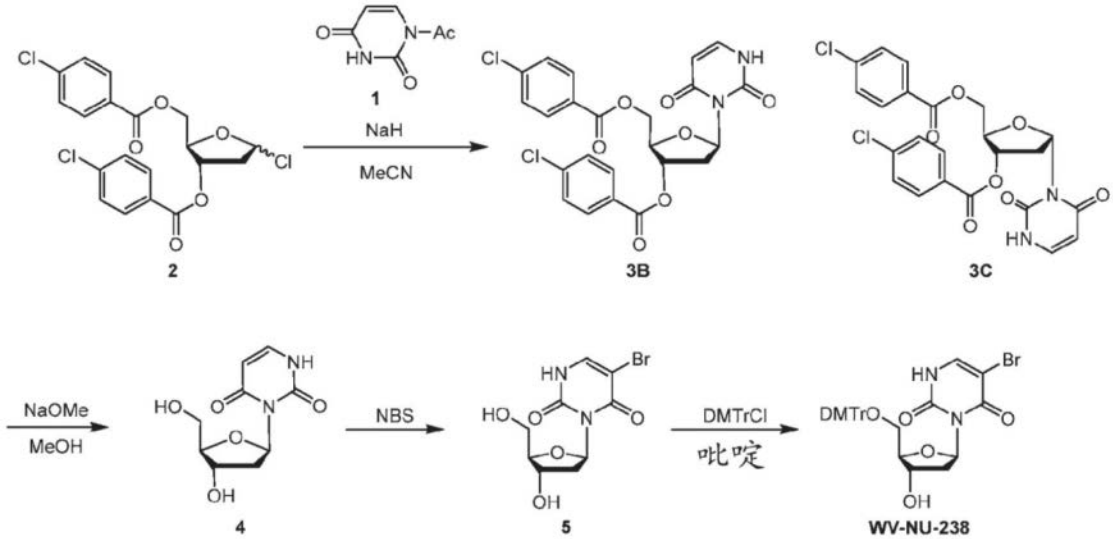
[1178] 步骤8.向化合物9(10.8g,15.68mmol)在THF(100mL)中的溶液中添加三乙胺三氟化氢(25.27g,156.77mmol)。在N_2下,将混合物在60℃下搅拌2h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将粗产物用水(100mL*2)洗涤。获得呈棕色固体的化合物10(7.22g,粗品)。LCMS(M-H+):459.3。

[1179] 步骤9.向化合物10(7.22g,15.68mmol.)在ACN(100mL)中的溶液中添加NaBH

$(OAc)_3$(13.29g,62.73mmol)。将混合物在20℃下搅拌5h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物用水(100mL)稀释并用乙酸乙酯(300mL,100mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物11(6g,82.74%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.75(s,1H),8.29(s,1H),8.18(d,J=8.6Hz,2H),7.61(d,J=8.6Hz,2H),5.09(d,J=4.0Hz,1H),5.00(dd,J=5.7,9.7Hz,1H),4.81(t,J=5.4Hz,1H),4.70-4.54(m,2H),4.12(br d,J=1.9Hz,1H),3.78(dt,J=2.4,4.8Hz,1H),3.48-3.43(m,2H),3.23(br t,J=6.4Hz,2H),2.10(s,3H),2.04(ddd,J=1.9,5.8,12.6Hz,1H),1.58(ddd,J=5.8,9.8,12.7Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):461.3。

[1180] 步骤10.向化合物11(6g,12.98mmol)在DCM(100mL)中的溶液中添加TEA(13.13g,129.76mmol)、DMAP(792.60mg,6.49mmol.)和DMTCl(5.28g,15.57mmol.)。将混合物在30℃下搅拌20h。LCMS显示检测到所期望质量。通过在20℃添加甲醇(20mL)淬灭反应混合物,然后在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的N-(5-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3-硝基-6-(4-硝基苯氧基)吡啶-2-基)乙酰胺(WV-NU-225)(7.6g,75.35%产率)。^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=10.59(s,1H),8.61(s,1H),8.19(d,J=8.8Hz,2H),7.48(d,J=8.8Hz,2H),7.42(d,J=7.4Hz,2H),7.35-7.28(m,5H),7.22(d,J=7.3Hz,1H),6.84(d,J=8.5Hz,4H),5.13(dd,J=5.6,9.9Hz,1H),4.72(t,J=6.6Hz,2H),4.42-4.35(m,1H),4.09-4.02(m,1H),3.80(s,6H),3.40-3.34(m,1H),3.31-3.23(m,3H),2.46(s,3H),2.19(ddd,J=1.7,5.7,13.0Hz,1H),1.75(ddd,J=6.1,10.0,13.0Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):763.3;纯度:98.38%。

[1181] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-溴嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-238)的合成



[1182] 步骤1.对于四批:在氩气气氛下,向干净干燥的三颈3升圆底烧瓶中装入1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(17g,110.30mmol,1当量)并溶解到干燥的ACN(1700mL)中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0℃。然后将NaH(6.62g,165.45mmol,60%纯度,1.5当量)分批添加到反应混合物中并在0℃下搅拌30min。之后,分批添加化合物2(66g,153.60mmol,1.39

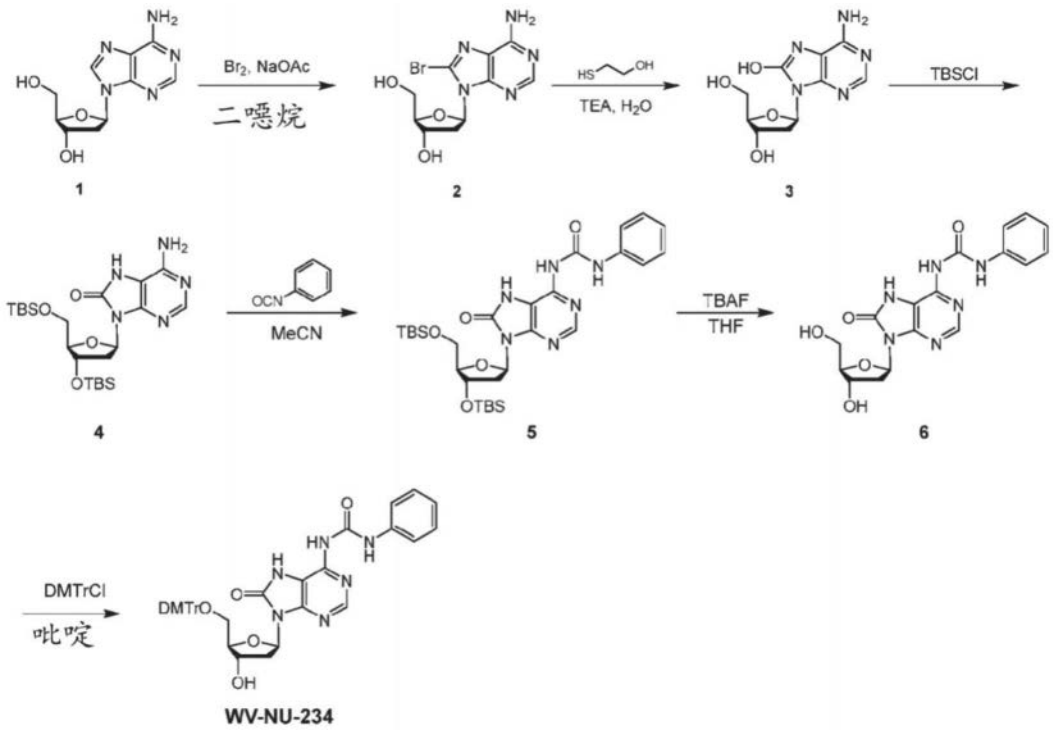
当量),并且将反应混合物在0℃下搅拌30min并在65℃下搅拌3h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.25)显示化合物2被消耗并形成新斑点。将反应混合物冷却至rt,过滤,合并四批滤液,减压浓缩,以给出粗产物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/2)纯化,然后在60℃下用乙酸乙酯(500mL)和MeCN(50mL)研磨15min,过滤并将滤饼再次研磨三次,将滤饼真空干燥以得到产物并将所有母液浓缩以得到粗品。获得呈白色固体的4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3B)(25g,49.48mmol,11.21%产率)并且有40g粗品可供使用。

[1183] 步骤2.向4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3B)(20g,39.58mmol,1当量)在MeOH(200mL)中的溶液中添加NaOMe(5.35g,98.95mmol,2.5当量)。将混合物在15℃下搅拌2h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.05)指示化合物3B被完全消耗,并且形成两个新斑点。通过添加NH_4Cl(5.35g)淬灭反应混合物,然后在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/1至0/1,然后乙酸乙酯/甲醇=1/0至5/1)纯化。获得呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(8g,35.06mmol,88.57%产率)。

[1184] 步骤3.向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(6.4g,28.05mmol,1当量)在THF(100mL)中的溶液中添加NBS(5.99g,33.65mmol,1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌6h。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物用水(200mL)稀释并用DCM(40mL,200mL*2)萃取。将合并的有机层用盐水(300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,乙酸乙酯:甲醇=1/1至5/1)。获得呈黄色固体的5-溴-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(5)(4.7g,15.30mmol,54.57%产率)·LCMS(M-H^+):305.0

[1185] 步骤4.向5-溴-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(5)(4.7g,15.30mmol,1当量)在Py(40mL)中的溶液中添加DMTCl(5.96g,17.60mmol,1.15当量)。将混合物在25℃下搅拌2h。通过添加$NaHCO_3$(20mL)来淬灭反应混合物,然后用水(50mL)稀释并用乙酸乙酯(150mL,50mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL,50mL*2)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,5%TEA)纯化。获得呈黄色固体的3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-溴嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-238)(5.7g,9.06mmol,59.18%产率,96.84%纯度)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.51(br s,1H),7.99(s,1H),7.41-7.35(m,2H),7.29-7.22(m,6H),7.21-7.16(m,1H),6.91-6.77(m,4H),6.58(dd,J=4.1,9.0Hz,1H),5.09(d,J=5.5Hz,1H),4.31-4.21(m,1H),3.86-3.78(m,1H),3.73(d,J=1.8Hz,6H),3.22(dd,J=8.0,9.6Hz,1H),3.07(dd,J=3.1,9.7Hz,1H),2.59(ddd,J=4.1,8.4,13.0Hz,1H),2.08-2.00(m,1H);LCMS(M-H^+):607.2;纯度:96.84%。

[1186] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-苯基脲(WV-NU-234)的合成



[1187] 步骤1.对于两批:向(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(50g,199.01mmol,1当量)在二噁烷(400mL)和AcONa(0.5M,1.87L,4.71当量)缓冲液(pH 4.3)中的溶液中,伴随搅拌滴加Br_2(38.16g,238.81mmol,12.31mL,1.2当量)的溶液。将混合物在15℃下搅拌12h。将两批合并用于后处理。向混合物中添加浓$Na_2S_2O_5$直至红色消失。将混合物用0.5m NaOH中和至pH 7.0。将残余物蒸发,此时白色固体沉淀。滤出固体,用冷的1,4-二噁烷(50mL)洗涤,并在高真空下干燥,以得到呈黄色固体的(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(110g,333.19mmol,83.71%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.22-7.98(m,1H),7.53(br s,2H),6.29(dd,J=6.5,7.9Hz,1H),5.35(br d,J=12.3Hz,2H),4.58-4.38(m,1H),3.95-3.82(m,1H),3.65(dd,J=4.5,11.9Hz,1H),3.48(br dd,J=4.5,11.7Hz,1H),3.36(br s,1H),3.24(ddd,J=6.1,7.8,13.4Hz,1H),2.19(ddd,J=2.6,6.4,13.1Hz,1H);LCMS:(M+H+):330.14。

[1188] 步骤2.对于两批:将(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(55g,166.60mmol,1当量)、2-巯基乙醇(39.22g,501.90mmol,35.01mL,3.01当量)和TEA(168.58g,1.67mol,231.88mL,10当量)在水(1500mL)中的溶液在110℃下搅拌4h。减压去除溶剂,以给出残余物,将其通过MPLC(二氯甲烷:甲醇=5:1,10:1)纯化以给出呈白色固体的6-氨基-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-8-醇(65g,243.23mmol,73.00%产率)。LCMS:(M+H+):267.24

[1189] 步骤3.对于三批:向化合物3(15g,56.13mmol,1当量)在DCM(300mL)中的溶液中添加DMAP(3.43g,28.06mmol,0.5当量)、TBSCl(33.84g,224.52mmol,27.51mL,4当量)和咪唑(19.11g,280.65mmol,5当量)。将混合物在15℃下搅拌12h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1)指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。水(15ml)并用DCM(60mL,20mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物4(30g,60.51mmol,53.91%产

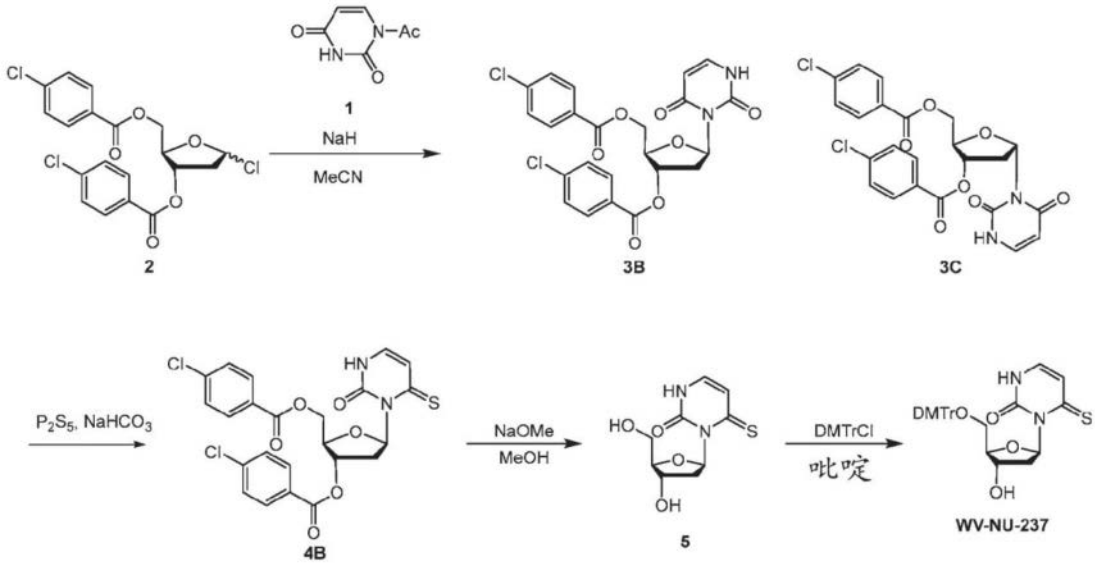
率)。LCMS(M+H$^+$):496.3。

[1190] 步骤4.向化合物4(10.1g,20.37mmol,1当量)在MeCN(200mL)中的溶液中,将异氰酸苯(7.28g,61.12mmol,6.62mL,3当量)添加到该混合物中,将溶液在20℃下搅拌12h。浓缩反应混合物以得到粗品。将混合物通过以下纯化:MPLC(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=30:1,20:1,10:1)。化合物5(10g,粗品)呈黄色油状物。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.51(s,1H),10.20(br s,1H),9.41(br s,1H),8.53(s,1H),8.31(s,1H),7.45(d,J=7.9Hz,2H),7.33(d,J=7.8Hz,2H),7.26-7.12(m,4H),6.96(t,J=7.4Hz,1H),6.85(t,J=7.3Hz,1H),6.06(t,J=6.9Hz,1H),4.64-4.59(m,1H),3.72-3.62(m,2H),3.72-3.62(m,1H),3.49(dd,J=4.3,10.1Hz,1H),3.13-3.05(m,1H),2.12-1.88(m,2H),1.12(s,5H),0.79(s,10H),0.71(s,10H);LCMS(M+H+):615.4。

[1191] 步骤5.向化合物5(10g,16.26mmol,1当量)在THF(100mL)中的溶液中添加TBAF(1M,32.53mL,2当量)并将混合物在20℃下搅拌0.5h。浓缩混合物以得到粗品。将混合物通过以下纯化:MPLC(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=5:1,1:1,0:1)以得到呈白色固体的化合物6(6g,粗品)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.85(br s,1H),8.19(s,1H),7.85(s,1H),7.51(d,J=7.6Hz,2H),7.20(t,J=7.9Hz,2H),6.91(t,J=7.4Hz,1H),6.14(dd,J=6.8,8.0Hz,1H),4.38-4.30(m,2H),3.72(br d,J=2.4Hz,1H),3.55(br d,J=4.5Hz,2H),3.38(br dd,J=4.5,11.8Hz,1H),2.98-2.88(m,2H),1.92(dt,J=2.5,6.5Hz,1H);LCMS(M+H+):387.2。

[1192] 步骤6.对于两批:向化合物6(2.5g,6.47mmol,1当量)在吡啶(30mL)中的溶液中添加DMTCl(2.19g,6.47mmol,1当量)。将混合物在15℃下搅拌0.5h。TLC(二氯甲烷:甲醇=20:1)指示化合物6被保留下来,并且形成许多新斑点。将2个反应合并用于后处理。通过在15℃下添加水(50mL)来淬灭反应混合物,并用乙酸乙酯(150mL,50mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO2,DCM:MeOH=1:0至0:1)纯化。获得呈黄色固体的WV-NU-234(4.4g,6.39mmol,49.38%产率)、以及WV-NU-234(2g,5.18mmol,80.00%产率)。将粗产物通过以下纯化:反相HPLC(柱:Welch Xtimate 250*70mm#10um 100A 5g;流动相:[水-ACN];B%:45%-70%@20mL/min),获得呈黄色固体的1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-苯基脲(WV-NU-234)(4g,5.81mmol,80.00%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.65(br s,1H),10.32(br s,1H),9.52(br s,1H),8.26(br s,1H),7.56(br d,J=6.9Hz,2H),7.34(br s,4H),7.21(br d,J=6.3Hz,7H),7.07(br s,1H),6.83-6.72(m,4H),6.22(br s,1H),5.28(br s,1H),4.50(br s,1H),4.07-3.91(m,2H),3.70(br d,J=8.1Hz,6H),3.24-2.95(m,2H),2.14(br s,1H);LCMS(M-H+):688.73,纯度:98.33%。

[1193] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-4-硫代-3,4-二氢嘧啶-2(1H)-酮(WV-NU-237)的合成



[1194] 步骤1.对于四批:在氩气气氛下,向干净干燥的三颈3升圆底烧瓶中装入化合物1(17g,110.30mmol,1当量)并溶解到干燥的ACN(1700mL)中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0℃。然后将NaH(6.62g,165.45mmol,60%纯度,1.5当量)分批添加到反应混合物中并在0℃下搅拌30min。之后,分批添加化合物2(66g,153.60mmol,1.39当量),并且将反应混合物在0℃下搅拌30min并在65℃下搅拌3h。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.25)显示化合物2被消耗并形成新斑点。将反应混合物冷却至rt,过滤,合并四批滤液,减压浓缩,以给出粗产物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至1/2)纯化,然后在60℃下用乙酸乙酯(500mL)和MeCN(50mL)研磨15min,过滤并将滤饼再次研磨三次,将滤饼真空干燥以得到产物并将所有母液浓缩以得到粗品。获得呈白色固体的化合物3B(49g,96.97mmol,21.98%产率)并且有20g粗品可供使用。

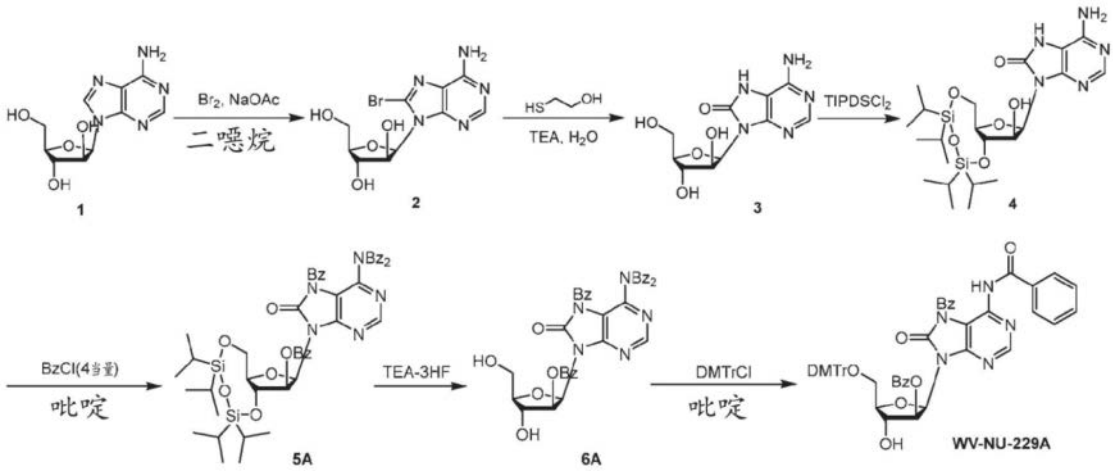
[1195] 步骤2.向化合物3B(13g,25.73mmol,1当量)在二甘醇二甲醚(250mL)中的溶液中添加P_2S_5(9.72g,43.74mmol,4.65mL,1.7当量)和NaHCO3(7.35g,87.47mmol,3.40mL,3.4当量)。将混合物在130℃下搅拌12h。LCMS(ET28998-986-P1A1)显示检测到所期望质量。将反应混合物用H_2O(100mL)稀释并用EtOAc(150mL,50mL*3)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将粗品合并,然后在25℃下用DCM 100mL*3研磨30min。获得呈黄色固体的化合物4B(11g,15.61mmol,41.74%产率,74%纯度)。LCMS($M-H^+$):519.0。

[1196] 步骤3.向化合物4B(9.9g,18.99mmol,1当量)在甲醇(100mL)中的溶液中添加NaOMe(3.08g,56.97mmol,3当量)。将混合物在20℃下搅拌2h。LCMS(ET28998-996-P1A1)显示检测到所期望质量。通过添加NH_4Cl(3g)淬灭反应混合物,然后在减压下浓缩,以给出残余物。将粗产物通过反相HPLC(800g Agela C18,H2O/MeOH,120ml/min,5%-35%30min:35%30min)纯化。获得呈黄色固体的化合物5(3g,粗品)。LCMS($M-H^+$):243.3。

[1197] 步骤4.批次1:向化合物5(1g,4.09mmol,1当量)在Py(10mL)中的溶液中添加DMTCl(1.66g,4.91mmol,1.2当量)。将混合物在20℃下搅拌2h。LCMS(ET28998-1007-P1A1)显示检测到所期望质量。通过添加甲醇(5mL)淬灭反应混合物,然后在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.4)。获得呈黄色固体的3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧

基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-4-硫代-3,4-二氢嘧啶-2(1H)-酮(WV-NU-237)(1.12g,1.96mmol,47.85%产率,95.61%纯度)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.97-11.31(m,1H),7.60(dd,J=4.1,9.0Hz,1H),7.42-7.36(m,2H),7.35-7.16(m,8H),6.88-6.79(m,4H),6.44(d,J=7.1Hz,1H),5.09(d,J=5.6Hz,1H),4.25(br dd,J=6.1,8.0Hz,1H),3.92-3.82(m,1H),3.72(d,J=1.8Hz,6H),3.30-3.24(m,1H),3.06(dd,J=3.2,9.7Hz,1H),2.60(s,1H),2.05(ddd,J=6.1,9.0,13.4Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):545.2;纯度:95.61%。

[1198] 苯甲酸(2R,3S,4R,5R)-2-(6-苯甲酰胺基-7-苯甲酰基-8-氧代-7,8-二氢-9H-嘌呤-9-基)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-3-基酯(WV-NU-229A)的合成



[1199] 步骤1.对于两批:向化合物1(30g,112.26mmol)在H_2O(900mL)和NaOAc(18.51g,225.64mmol)、AcOH(0.5M)缓冲液(pH 4.7)中的溶液中,伴随搅拌滴加Br_2(21.53g,134.71mmol)在二噁烷(400mL)中的溶液。将混合物在25℃下搅拌12h。LCMS显示化合物1被消耗,并且发现了所期望的物质。合并2批反应进行后处理/纯化。向混合物中添加浓$Na_2S_2O_5$直至红色消失。将混合物用0.5mNaOH中和至pH 7.0。将残余物蒸发,此时白色固体沉淀。滤出固体,用冷的1,4-二噁烷(50mL)洗涤,并在高真空下干燥。获得呈黄色固体的化合物2(74g,95.22%产率)。LCMS(M-H)$^-$:346.1。

[1200] 步骤2.对于三批:向化合物2(24g,69.34mmol)在水(400mL)中的溶液中添加2-巯基乙醇(27.09g,346.68mmol)和TEA(70.16g,693.37mmol)。将混合物在110℃下搅拌4h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成一个新斑点。将3批反应合并用于后处理。将反应混合物减压浓缩以去除水。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的化合物3(34g,57.71%产率)。LCMS(M-H+):284.1。

[1201] 步骤3.对于三批:在0℃下向化合物3(11g,38.84mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中滴加在N_2中的氯-[氯(二异丙基)甲硅烷基]氧基-二异丙基-硅烷(13.48g,42.72mmol.)。并且2h后,将混合物在25℃下搅拌10h。TLC指示化合物3被完全消耗并形成许多新斑点。将反应混合物用水(300ml)稀释并用乙酸乙酯(900mL,300mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的化合物4(35g,66.57mmol,57.14%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.26(s,1H),8.57(dd,J=1.6,5.8Hz,1H),7.94-7.84(m,1H),7.49-7.31(m,1H),6.49-6.35(m,2H),6.06-5.90(m,1H),4.85-4.78(m,1H),4.73-4.63(m,1H),4.25-4.12

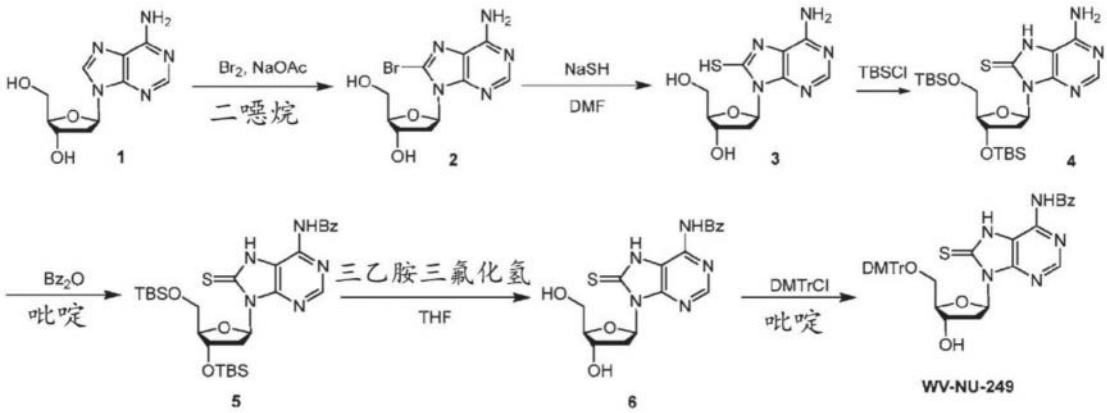
(m,1H),3.86-3.74(m,1H),3.67(dt,J=2.8,7.7Hz,1H),1.98(s,4H),0.98-0.91(m,25H);LCMS(M-H+):897.3,纯度:99.46%。

[1202] 步骤4.向化合物4(14g,26.63mmol)在吡啶(140mL)中的溶液中添加BzCl(14.97g,106.52mmol)。将混合物在25℃下搅拌12h。LCMS显示化合物4被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物5A(10g,39.86%产率)。LCMS(M-H^+):942.6。

[1203] 步骤5.向化合物5A(5g,5.31mmol)在THF(50mL)中的溶液中添加三乙胺三氟化氢(2.57g,15.92mmol.)。将混合物在25℃下搅拌2h。LCMS显示化合物5A被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应混合物减压浓缩以去除THF。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物6A(2.2g,59.25%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.58-8.55(m,1H),7.85-7.69(m,8H),7.65-7.50(m,8H),7.46-7.32(m,7H),6.56-6.53(m,1H),5.81-5.76(m,1H),5.67-5.61(m,1H),4.78-4.66(m,2H),3.93-3.82(m,1H),3.78-3.70(m,1H),3.68-3.58(m,1H)。LCMS:(M-H)$^-$:700.3。

[1204] 步骤6.向化合物6A(2.7g,3.86mmol)在DCM(30mL)中的溶液中添加DMTCl(1.44g)、TEA(780.98mg,7.72mmol)。将混合物在25℃下搅拌3h。TLC指示化合物6A被完全消耗并形成许多新斑点。将反应混合物用水(200mL)稀释并用乙酸乙酯(900mL,300mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的WV-NU-229A(2.2g,粗品)。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=1:0至0:1)。获得呈黄色固体的WV-NU-229A(3.8g,4.23mmol,80.85%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.39-8.36(m,1H),7.76(br s,4H),7.69-7.62(m,2H),7.59-7.51(m,6H),7.37(br d,J=7.0Hz,6H),7.26-7.20(m,4H),7.18-7.12(m,2H),7.10-7.05(m,1H),6.86-6.78(m,4H),6.61-6.59(m,1H),5.82-5.78(m,1H),5.70-5.65(m,1H),4.68-4.61(m,1H),4.14-4.08(m,1H),3.73-3.68(m,6H),3.54-3.43(m,1H),3.23-3.15(m,1H)。LCMS(M-H+):897.3,纯度:99.46%。

[1205] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-硫代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(WV-NU-249)的合成



[1206] 步骤1.对于三批:向3L反应器中装入NaOAc(20.24g,246.77mmol)、水(1250mL)和二噁烷(500mL),调节pH至4.7。并添加化合物1(31g,123.39mmol)。将Br_2(23.67g,148.10mmol)在二噁烷(500mL)中稀释,随后添加至反应混合物中。并然后在N_2气氛下将混合物在20℃下搅拌5h。LC-MS显示化合物1被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主

峰。合并三个反应进行后处理。通过添加焦亚硫酸钠淬灭反应混合物直至红色消失,然后调节pH至7。减压浓缩直至固体沉淀。将反应混合物过滤。将滤饼通过减压干燥以给出黄色固体。获得呈黄色固体的化合物2(100g,81.83%产率)。LCMS(M+H)$^+$:157.2,纯度:90.30%。

[1207] 步骤2.对于两批:将化合物2(10g,30.29mmol.)、NaSH(5.09g,90.87mmol,3当量)在DMF(100mL)中的混合物脱气并用N_2吹扫3次,然后将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌12h。TLC显示检测到产物。合并两个反应进行后处理。调节pH至6。将反应混合物在减压下浓缩,以给出粗产物。呈黄色油状物的粗产物3(17g,粗品)不经进一步纯化即用于下一步骤。

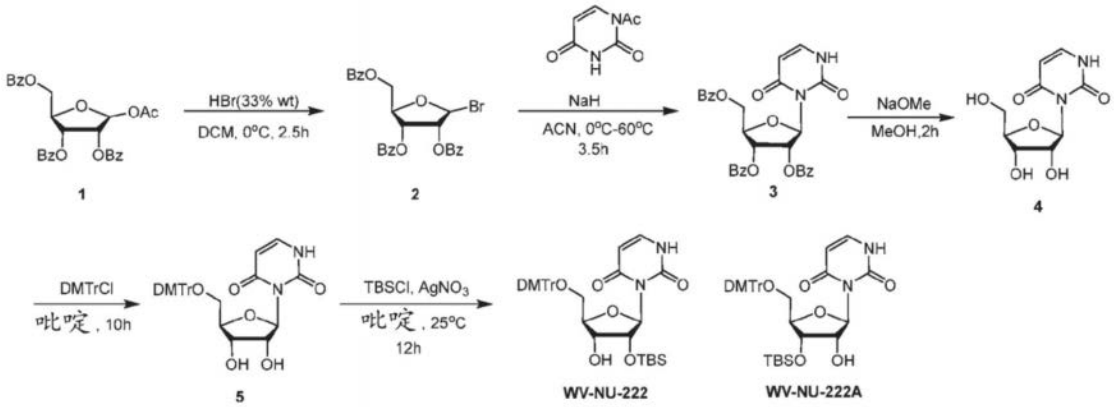
[1208] 步骤3.将化合物3(17g,60.01mmol)、TBSCl(27.13g,180.02mmol)、咪唑(20.43g,300.03mmol)在DCM(100mL)中的混合物脱气并用N_2吹扫3次,然后将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌3h。LCMS显示检测到产物。通过添加3000mL的水淬灭反应。用5000mL的CH_2Cl_2萃取三次,将有机相经Na_2SO_4干燥并减压浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)。获得呈白色固体的化合物4(24.4g,79.45%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=12.49(s,1H),3.90(dd,J=6.4,10.8Hz,1H),3.81-3.74(m,1H),3.81-3.74(m,1H),3.61(dd,J=5.3,10.8Hz,1H),2.88(s,3H),2.75-2.70(m,2H),2.09(br s,1H),0.89(s,10H),0.81(s,9H),0.13-0.07(m,1H),0.10(d,J=1.3Hz,5H),0.04(d,J=13.8Hz,6H);LCMS(M+H)$^+$:512.2,纯度:91.34%。

[1209] 步骤4.向化合物4(7.3g,14.26mmol)在吡啶(80mL)中的溶液中添加DMAP(1.74g,14.26mmol.)、苯甲酸苯甲酰酯(4.84g,21.39mmol)。将反应混合物在70℃下搅拌12h。TLC显示检测到产物。将混合物用H_2O(500mL)稀释,将水层用二氯甲烷(3x500mL)萃取,将合并的有机相经Na_2SO_4干燥,过滤并蒸发至干燥。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至5:1)。获得呈白色固体的化合物5(7g,11.36mmol,87.50%产率)。

[1210] 步骤5.向化合物5(7g,11.36mmol.)在THF(80mL)中的溶液中添加HF:TEA(10.99g,68.19mmol)。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC显示检测到产物。过滤,将残余物用甲醇洗涤并减压浓缩,以给出产物。无需纯化即可用于下一步骤。获得呈白色固体的化合物6(2.1g,粗品)。LCMS(M+H$^+$):386.2。

[1211] 步骤6.向化合物6(2.1g,5.42mmol)在吡啶(20mL)中的溶液中添加DMAP(331.12mg,2.71mmol)和DMTrCl。将反应混合物在25℃下搅拌3h。LCMS显示检测到产物。过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)。获得3.8g产物。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=12.78-12.61(m,1H),11.41(s,1H),8.31(s,1H),8.09-8.02(m,2H),7.69-7.63(m,1H),7.60-7.49(m,2H),7.36(d,J=7.2Hz,2H),7.25-7.18(m,6H),7.18-7.13(m,1H),6.89-6.75(m,4H),6.92-6.74(m,1H),5.36(d,J=4.6Hz,1H),4.69-4.50(m,1H),4.06-3.99(m,1H),4.00-3.99(m,1H),4.06-3.99(m,1H),3.71(d,J=5.5Hz,6H),3.32-3.25(m,1H),3.24-3.11(m,2H),2.24-2.15(m,1H);LCMS(M+H+):688.3,纯度:99.57%。

[1212] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-222)和3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-222A)的合成



[1213] 步骤1.在0℃下向化合物1(200g,396.44mmol)在DCM(2000mL)中的溶液中添加在N_2中的溴化氢(388.81g,1.59mol,33%纯度)。将混合物在0℃下搅拌2h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应混合物倒入500mL的冰水中,并将有机相分离,用水(5x 300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,并减压蒸发。然后将粗产物去除剩余的乙酸并真空干燥。获得呈黄色油状物的化合物2(208g,粗品)。

[1214] 步骤2.对于四批:在0℃下向1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(22.88g,148.47mmol)在ACN(2000mL)中的溶液中添加在N_2中的NaH(7.92g,197.97mmol,60%纯度),持续30min。并且然后在25℃下添加化合物2(52g,98.98mmol),持续30min,1h后加热至40℃。并且然后将混合物在60℃下搅拌2h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成四个新斑点。过滤去除固体,有机相减压浓缩,以得到粗糙产物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=1:0至0:1)。获得呈黄色固体的化合物3(76g,34.55%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.40(br s,1H),7.98(dd,J=1.1,8.3Hz,2H),7.91(dd,J=1.2,8.3Hz,2H),7.82(dd,J=1.3,8.3Hz,2H),7.68-7.57(m,3H),7.54(br d,J=7.6Hz,1H),7.50-7.42(m,4H),7.41-7.35(m,2H),6.50(s,1H),6.11-6.05(m,2H),5.68(d,J=7.6Hz,1H),4.71-4.61(m,2H),4.55-4.48(m,1H)。

[1215] 步骤3.向化合物3(40g,71.88mmol)在MeOH(400mL)中的溶液中,然后添加NaOMe(11.65g,215.63mmol)。将混合物在25℃下搅拌3h。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成两个新斑点。向反应中添加NH_4Cl(11g)并在室温下搅拌5min,然后真空浓缩。将粗品溶解在MeOH(200ml)中,并且然后在25℃下倒入EtOAc(1000ml*3)中,搅拌20min。并且然后过滤,得到白色固体以减压浓缩干燥。获得呈白色固体的化合物4(15g,85.46%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.43(d,J=7.4Hz,1H),6.07(d,J=3.6Hz,1H),5.50(d,J=7.4Hz,1H),4.47(dd,J=3.9,6.1Hz,1H),4.09(t,J=6.3Hz,1H),3.68(dt,J=3.3,6.2Hz,1H),3.58(dd,J=3.2,11.7Hz,1H),3.40(br dd,J=6.1,11.8Hz,1H);LCMS(M+H$^+$):267.1,纯度:96.15%。

[1216] 步骤4.向化合物4(14g,57.33mmol)在Py(1500mL)中的溶液中添加在N_2中的DMT-Cl(19.43g,57.33mmol)。将混合物在25℃下搅拌10h。TLC指示化合物4被完全消耗,并且形成两个新斑点。通过添加MeOH(50mL)淬灭反应混合物,然后过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=1:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=1:1,5%TEA)。获得呈红色固体的化合物5(23g,42.08mmol,76.67%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.51-7.36(m,4H),7.34-7.17(m,7H),6.91-6.82(m,4H),6.13(d,J=

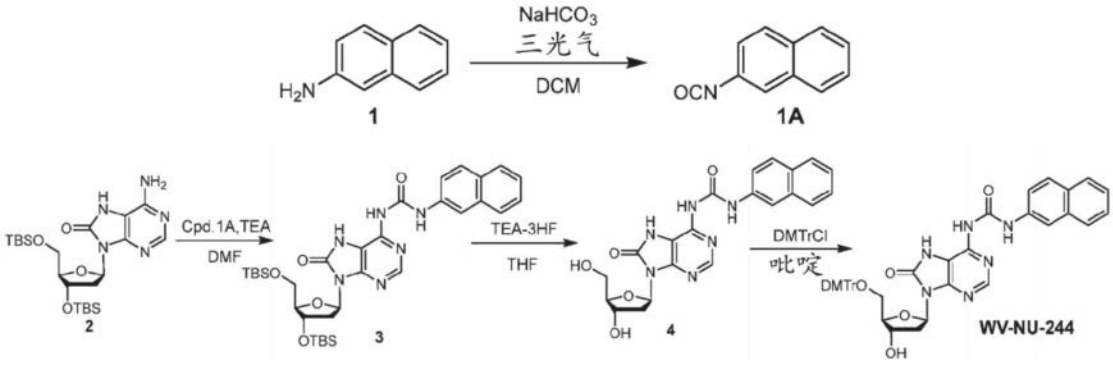
2.1Hz,1H),5.59(d,J=7.6Hz,1H),5.08(br d,J=4.8Hz,1H),4.86(br d,J=7.4Hz,1H),4.35(br t,J=6.3Hz,1H),4.16(q,J=7.2Hz,1H),3.87(dt,J=3.9,6.9Hz,1H),3.74(d,J=1.5Hz,6H),3.20-3.06(m,2H);LCMS(M-H$^+$):545.4。

[1217] 步骤5.向化合物5(22g,40.25mmol)和Py(63.68g,805.03mmol)在THF(220mL)中的溶液中添加$AgNO_3$(25.58g,150.59mmol)和TBSCl(9.10g,60.38mmol)。将混合物在25℃下搅拌10h。TLC指示化合物5被完全消耗,并且形成两个新斑点。过滤反应物以去除不溶物并在H_2O(500mL)之间分配并用EtOAc(300mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(500ml)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将粗产物通过以下纯化:反相HPLC(柱:Welch Xtimate C18250*100mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:60%-85%,20min)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-222(6.94g,36.53%产率)和呈白色固体的化合物WV-NU-222A(7.77g,40.89%产率)。

[1218] WV-NU-222:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.16(br s,1H),7.48(br d,J=7.5Hz,1H),7.40(br d,J=7.5Hz,2H),7.32-7.17(m,7H),6.92-6.80(m,4H),6.11(d,J=2.8Hz,1H),5.60(d,J=7.5Hz,1H),4.61-4.51(m,2H),4.19-4.10(m,1H),3.87(dt,J=3.4,6.6Hz,1H),3.73(s,6H),3.20-3.06(m,2H),0.83(s,9H),0.00(d,J=8.8Hz,6H);LCMS(M-H$^+$):659.3,纯度:94.77%。

[1219] WV-NU-222A:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.12(br s,1H),7.47(br d,J=6.8Hz,1H),7.39(br d,J=7.5Hz,2H),7.31-7.16(m,7H),6.84(dd,J=2.3,8.9Hz,4H),6.10(d,J=2.0Hz,1H),5.58(d,J=7.6Hz,1H),4.84(d,J=6.3Hz,1H),4.41-4.31(m,2H),3.88(dt,J=2.5,6.7Hz,1H),3.72(s,6H),3.18(dd,J=2.6,10.1Hz,1H),2.99(dd,J=6.9,10.0Hz,1H),0.74(s,9H),-0.02--0.15(m,6H);LCMS(M-H$^+$):659.3,纯度:94.89%。

[1220] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-(萘-2-基)脲(WV-NU-244)的合成



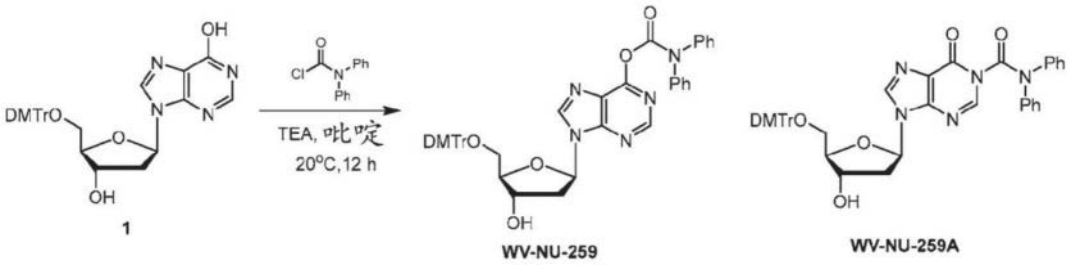
[1221] 步骤1.在0℃下向化合物1(25g,174.60mmol.)在DCM(250mL)和$NaHCO_3$(250mL)中的混合物中添加三光气(19.17g,64.60mmol.)。将混合物在0℃下搅拌1.5h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成一个新斑点。将有机层分离并且经硫酸钠干燥。过滤后,将有机物浓缩成油状物,将其静置固化,以得到化合物。获得呈棕色固体的化合物1A(28g,粗品)。

[1222] 步骤2.向化合物2(25g,50.43mmol.)在DMF(250mL)中的溶液中添加化合物1A(8.53g,50.43mmol.)和TEA(5.10g,50.43mmol)。将混合物在80℃下搅拌12h。LCMS显示有8%化合物2残留。LCMS上显示有几个新峰,并且检测到34%所期望的化合物3。将反应混合物减压浓缩以去除DMF。获得呈棕色油状物的化合物3(33.53g,粗品)。LCMS(M-H+):663.4。

[1223] 步骤3.向化合物3(33.53g,50.43mmol)在THF(350mL)中的溶液中添加TEA-3HF(81.29g,504.26mmol)。将混合物在40℃下搅拌2h。LCMS显示化合物3被完全消耗,并且检测到35%所期望的化合物。将反应混合物减压浓缩以去除THF。过滤该化合物,得到残余物和滤液。将粗产物不经进一步纯化而用于下一步骤。获得呈黄色油状物的化合物4(22g,粗品)。LCMS(M-H^+):435.2。

[1224] 步骤4.向化合物4(11g,25.21mmol,1当量)在吡啶(100mL)和DMSO(100mL)中的溶液中添加DMTCl(8.54g,25.21mmol,1当量)。将混合物在40℃下搅拌12h。LCMS(ET52262-46-P1A3)显示有7%化合物4残留。LCMS上显示有几个新峰,并且检测到23%所期望的化合物WV-NU-244。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将粗产物通过反相HPLC(0.1%$NH_3.H_2O$)纯化。获得呈小的粉红色固体的化合物WV-NU-244(4.14g,21.57%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.89(s,1H),10.38(s,1H),9.63(s,1H),8.29(s,1H),8.23(d,J=1.3Hz,1H),7.89(dd,J=8.7,19.8Hz,3H),7.62(dd,J=2.0,8.8Hz,1H),7.51-7.39(m,2H),7.34(d,J=7.3Hz,2H),7.24-7.18(m,7H),6.83-6.73(m,4H),6.22(t,J=6.7Hz,1H),5.28(d,J=4.6Hz,1H),4.53-4.46(m,1H),3.97-3.92(m,1H),3.70(d,J=9.3Hz,6H),3.22-3.11(m,2H),3.04(td,J=6.4,12.9Hz,1H),2.19-2.09(m,1H);LCMS(M-H+):737.4。

[1225] 二苯基氨基甲酸9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基酯(WV-NU-259)和9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-N,N-二苯基-6,9-二氢-1H-嘌呤-1-甲酰胺(WV-NU-259A)的合成



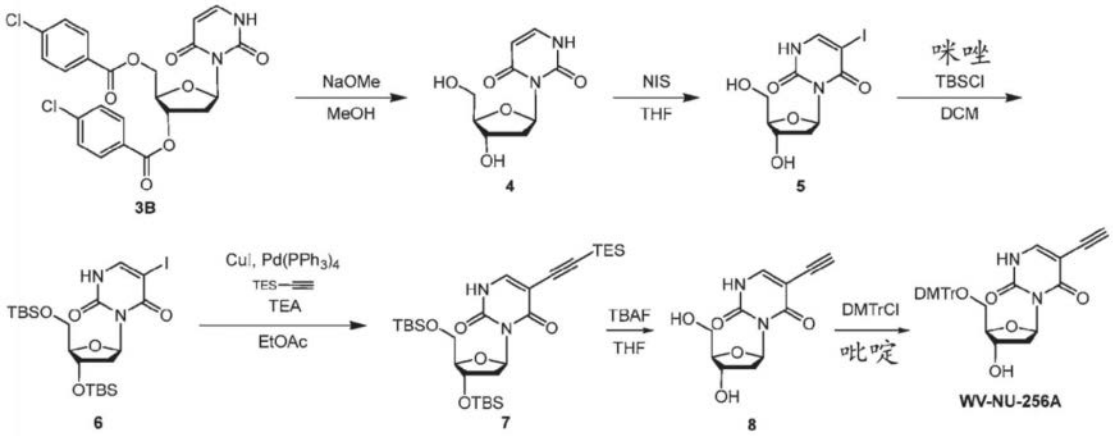
[1226] 向化合物1(40g,72.13mmol)在吡啶(600mL)中的溶液中添加TEA(72.98g,721.25mmol)和N,N-二苯氨基甲酰氯(23.39g,100.98mmol)。将混合物在25℃下搅拌4h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(2000mL)和EtOAc(1000mL)之间分配。分离有机相,用盐水(500mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=10/1至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-259A(38.25g,70.09%产率)。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-259(7.2g,2.24%产率)。

[1227] WV-NU-259A:^{1}HNMR(DMSO-d6,400MHz):δ=8.74-8.83(m,1H),8.19(d,J=12.1Hz,1H),7.13-7.54(m,19H),6.77-6.87(m,4H),6.25(t,J=6.4Hz,1H),5.38(d,J=4.4Hz,1H),4.38(br s,1H),3.92(br d,J=11.6Hz,1H),3.73(s,6H),3.01-3.20(m,2H),2.59-2.71(m,1H),2.33ppm(br s,1H);LCMS(M-H^+):748。

[1228] WV-NU-259:^{1}HNMR(DMSO-d6,400MHz):δ=8.74(s,1H),8.65(s,1H),7.39-7.56(m,8H),7.24-7.38(m,4H),7.09-7.23(m,7H),6.77(dd,J=15.6,8.8Hz,4H),6.50(t,J=6.2Hz,1H),5.43(d,J=4.4Hz,1H),4.44-4.55(m,1H),3.98-4.06(m,1H),3.66(d,J=

10.1Hz,6H),3.13-3.26(m,2H),2.89-2.98(m,1H),2.40ppm(dt,J=12.7,6.4Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):748。

[1229] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-乙炔基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-256A)的合成



[1230] 步骤1.向化合物3B(26g,51.45mmol)在MeOH(400mL)中的溶液中添加NaOMe(7.51g,138.93mmol)。将混合物在25℃下搅拌1h。TLC指示化合物3B被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物过滤并减压浓缩,得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,乙酸乙酯:甲醇=100/1至1/1)。获得呈白色固体的化合物4(11g,93.68%产率)。

[1231] 步骤2.向化合物4(11g,48.20mmol)在THF(300mL)中的溶液中添加NIS(27.11g,120.51mmol)。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC指示化合物4被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,乙酸乙酯:甲醇=100/1至0/1)。获得呈黄色固体的化合物5(13.5g,79.09%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz):δ=11.42(br d,J=5.9Hz,1H),7.93(d,J=6.0Hz,1H),6.52(dd,J=8.1,6.1Hz,1H),4.28(dt,J=7.3,4.9Hz,1H),3.63-3.69(m,1H),3.54-3.62(m,1H),3.38-3.48(m,1H),2.61-2.71(m,1H),1.92ppm(ddd,J=13.0,8.2,4.9Hz,1H)。

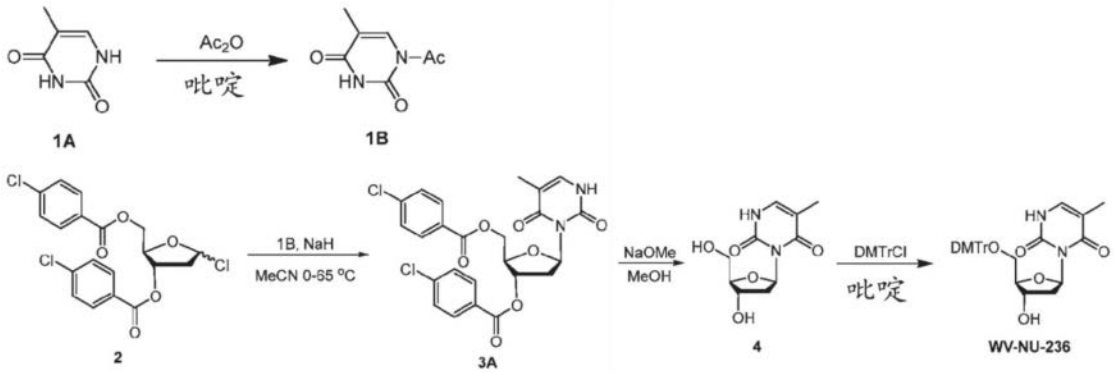
[1232] 步骤3.向化合物5(11g,31.06mmol)在DCM(300mL)中的溶液中添加TBSCl(9.36g,62.13mmol)和咪唑(3.17g,46.60mmol)。将混合物在15℃下搅拌12h。LCMS显示化合物5被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将混合物减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。获得呈白色固体的化合物6(17g,93.93%产率)。^{1}HNMR(氯仿-d,400MHz):δ=7.49(s,1H),6.62(dd,J=8.6,5.1Hz,1H),4.45(dt,J=7.5,5.0Hz,1H),3.69-3.86(m,3H),2.70(ddd,J=13.1,7.8,5.1Hz,1H),1.96-2.06(m,1H),0.82(d,J=3.1Hz,18H),0.00ppm(t,J=2.1Hz,12H);LCMS(M+Na$^+$)=605。

[1233] 步骤4.向化合物6(10g,17.16mmol)在EtOAc(100mL)中的溶液中添加TEA(2.61g,25.75mmol)和CuI(16.34mg,85.82umol)、三乙基(乙炔基)硅烷(7.22g,51.49mmol,3当量)、$Pd(PPh_3)_2Cl_2$(60.24mg,85.82umol)。将混合物在15℃下搅拌12h。TLC指示化合物6被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物7(6.5g,63.65%产率)。

[1234] 步骤5.向化合物7(6.5g,10.92mmol)在THF(65mL)中的溶液中添加TBAF(2M,21.85mL)。将混合物在15℃下搅拌4h。TLC指示化合物7被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。获得呈白色固体的化合物8(2.5g,90.73%产率)。

[1235] 步骤6.向化合物8(2.5g,9.91mmol)在Py(20mL)中的溶液中添加DMTCl(3.36g,9.91mmol)。将混合物在15℃下搅拌2h。LCMS显示化合物8被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将反应混合物在H_2O(50mL)和EtOAc(100mL)之间分配。分离有机相,用盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物WV-NU-256A(3.3g,60.03%产率)。^{1}H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=9.24(br s,1H),7.45(br d,J=7.4Hz,1H),7.26-7.39(m,8H),7.18-7.23(m,3H),6.79-6.89(m,4H),6.69(dd,J=9.1,4.1Hz,1H),4.66-4.82(m,1H),3.81(d,J=10.9Hz,6H),3.51(dd,J=9.5,6.3Hz,1H),3.38(dd,J=9.6,5.6Hz,1H),2.77-2.86(m,1H),2.18-2.30ppm(m,1H);LCMS(M-H$^+$):553纯度:98%。

[1236] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-236)的合成



[1237] 步骤1.向化合物1A(41.4g,328.28mmol)在吡啶(400mL)中的溶液中添加Ac_2O(201.08g,1.97mol)。将混合物在120℃下搅拌3h。TLC指示化合物1A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物减压浓缩以给出残余物。在15℃下,将粗产物用石油醚:乙酸乙酯=10:1研磨5min。获得呈白色固体的化合物1B(46g,83.33%产率)。

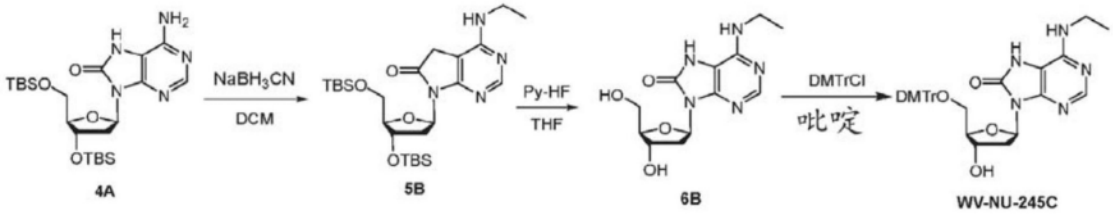
[1238] 步骤2.在N_2气氛下,向干净干燥的三颈1L圆底烧瓶中装入化合物1B(11.74g,69.82mmol)并溶解到干燥的MeCN(300mL)中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0℃。然后将NaH(4.19g,104.73mmol,60%纯度)分批添加至反应混合物中并在0℃下搅拌30min。分批添加化合物2(30g,69.82mmol)之后,将反应混合物搅拌30min,在0℃-45℃下搅拌1h并且在65℃下搅拌2h。TLC显示化合物2被消耗并且形成新斑点。然后,将反应混合物冷却至15℃并使用whatman滤纸通过烧结漏斗过滤。将滤液在减压下浓缩,以给出粗产物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。然后,通过在15℃下从EtOAc(100mL)中重结晶来纯化粗产物。获得呈白色固体的化合物3A(6g,16.55%产率)。

[1239] 步骤3.向化合物3A(6.5g,12.52mmol)在MeOH(90mL)中的溶液中添加NaOMe(1.69g,31.29mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示化合物3A被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物用NH_4Cl固体(1.7g)淬灭,过滤固体得到滤液。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,二氯甲烷:甲醇=

1/0至0/1)。获得呈白色固体的化合物4(2.8g,92.41%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.93-10.83(m,1H),7.31(s,1H),6.61-6.52(m,1H),5.07(d,J=4.6Hz,1H),4.59-4.53(m,1H),4.34-4.26(m,1H),4.13-4.07(m,1H),3.70-3.63(m,1H),3.62-3.54(m,1H),3.49-3.40(m,1H),1.91(dd,J=4.5,8.1,12.8Hz,1H),1.75(d,J=0.7Hz,3H);LCMS(M-H$^+$):241.2。

[1240] 步骤4.向化合物4(2.8g,11.56mmol)在吡啶(70mL)中的溶液中添加DMTCl(4.31g,12.72mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示化合物4被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物用H_2O(100mL)稀释并用EtOAc(200mL,100mL*2)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(200mL,100mL*2)洗涤,经饱和Mg_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色泡沫状的化合物WV-NU-236(5g,75.71%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.84(d,J=5.7Hz,1H),7.40(d,J=7.2Hz,2H),7.32(dd,J=1.0,5.7Hz,1H),7.30-7.22(m,6H),7.22-7.16(m,1H),6.88-6.79(m,4H),6.63(dd,J=4.3,9.0Hz,1H),5.08-5.04(m,1H),4.33-4.25(m,1H),3.87-3.80(m,1H),3.73(d,J=2.2Hz,6H),3.25(t,J=8.8Hz,1H),3.10-3.05(m,1H),2.61(ddd,J=4.2,8.3,12.9Hz,1H),2.07-2.00(m,1H),1.74(s,3H);LCMS(M-H+):543.2,LCMS纯度:95.4%。

[1241] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-(乙基氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(WV-NU-245C)的合成



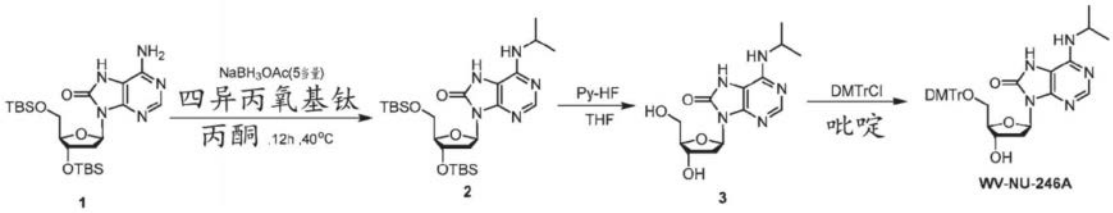
[1242] 步骤1.向化合物4A(6.66g,151.28mmol)、四异丙氧基钛(4.30g,15.13mmol)在DCM(250mL)中的溶液中,搅拌2h后,反应变成澄清溶液。然后添加三乙酰氧基硼酸钠(32.06g,151.28mmol)。将混合物在25℃下搅拌10h。LCMS显示化合物4A被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。TLC指示化合物4A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(100mL)和DCM(400mL)之间分配。分离有机相,用盐水(40mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至3/1)纯化。获得呈白色固体的化合物5B(10g,63.10%产率)。LCMS:(M+H$^+$):524。

[1243] 步骤2.向化合物5B(9g,17.18mmol)在THF(100mL)中的溶液中添加氟化氢吡啶(6.81g,51.54mmol)。将混合物在37℃下搅拌12h。LCMS显示化合物5B被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将混合物真空浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=100/1至5/1)。获得呈白色固体的化合物6B(5g,98.55%产率)。LCMS:(M+H+)=296。

[1244] 步骤3.向化合物6B(5g,16.93mmol)在Py(60mL)中的溶液中添加DMT-Cl(5.74g,16.93mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。TLC指示化合物6B被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(100mL)和EtOAc(300mL)之间分配。分离有机相,用盐水洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱

法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-245C(4.2g,38.18%产率)。^1H NMR(DMSO-d_6,400MHz):δ＝10.20(s,1H),7.95(s,1H),7.35(d,J＝7.3Hz,2H),7.13-7.26(m,7H),6.75-6.89(m,4H),6.44(t,J＝5.4Hz,1H),6.14(t,J＝6.8Hz,1H),5.22(d,J＝4.8Hz,1H),4.45-4.54(m,1H),3.90(q,J＝5.3Hz,1H),3.68-3.77(m,6H),3.42-3.50(m,2H),3.14(d,J＝5.5Hz,2H),3.05(dt,J＝13.0,6.5Hz,1H),2.07ppm(ddd,J＝12.8,7.7,4.8Hz,1H);LCMS:(M-H+)＝596。

[1245] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-(异丙基氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(WV-NU-246A)的合成

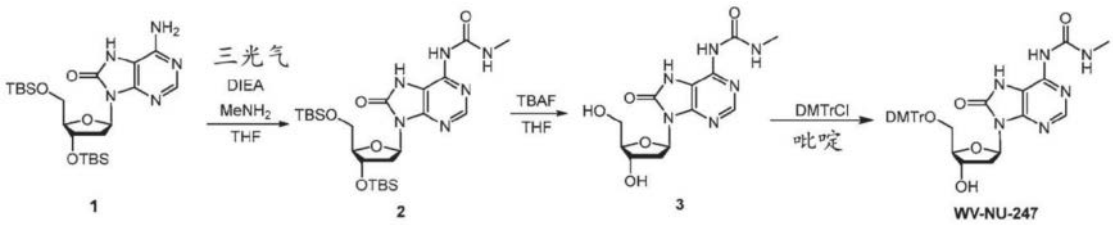


[1246] 步骤1.向化合物1(20g,40.34mmol)、四异丙氧基钛(40.13g,141.20mmol)在丙酮(400mL)中的溶液中。在60℃下搅拌4h后,反应变成澄清溶液。然后添加三乙酰氧基硼酸钠(32.06g,151.28mmol)。将混合物在25℃下搅拌10h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(500mL)和DCM(2000mL)之间分配。分离有机相,用盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至3/1)纯化。获得呈白色固体的化合物2(9g,41.48%产率)。^1H NMR(氯仿-d,400MHz):δ＝10.11(br s,1H),7.95-8.08(m,1H),6.22(t,J＝7.2Hz,1H),5.45(br s,1H),4.60(dt,J＝5.5,2.8Hz,1H),4.12-4.25(m,1H),3.51-3.67(m,1H),3.16-3.45(m,1H),1.91-2.08(m,3H),1.01-1.24(m,7H),0.74-0.82(m,17H),-0.15-0.01ppm(m,11H)。

[1247] 步骤2.向化合物2(9g,16.73mmol)在THF(100mL)中的溶液中添加氟化氢吡啶(4.88g,41.83mmol,85%纯度)。将混合物在37℃下搅拌12h。LCMS显示化合物5被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将混合物真空浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇＝100/1至5/1)。获得呈白色固体的化合物3(3.3g,63.76%产率)。LCMS:($M+H^+$)＝310。

[1248] 步骤3.向化合物3(3.3g,10.67mmol)在Py(33mL)中的溶液中添加DMT-Cl(3.61g,10.67mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。LC-MS显示化合物6被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(80mL)和EtOAc(200mL)之间分配。分离有机相,用盐水(80mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈紫色固体的化合物WV-NU-246A(5.2g,74.58%产率)。^{1}HNMR(DMSO-d_6,400MHz):δ＝10.41(br s,1H),7.94(s,1H),7.25-7.39(m,2H),7.09-7.33(m,8H),6.74-6.86(m,4H),6.56(br s,1H),6.13(t,J＝6.7Hz,1H),5.22(d,J＝4.5Hz,1H),4.44-4.54(m,1H),4.20(dq,J＝13.5,6.6Hz,1H),3.85-3.93(m,1H),3.72(d,J＝4.2Hz,6H),3.12-3.18(m,2H),2.07(ddd,J＝12.9,7.7,4.7Hz,1H),1.19ppm(qd,J＝7.2,3.4Hz,6H);LCMS($M-H^+$)＝610;纯度＝93%。

[1249] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(WV-NU-247)的合成

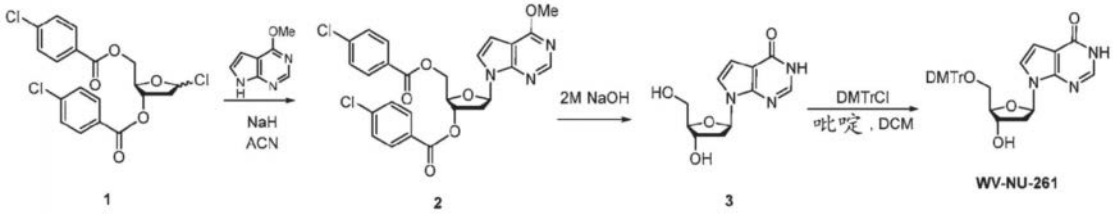


[1250] 步骤1.在0℃下向化合物1(30g,60.51mmol)和DIEA(19.55g,151.28mmol)在THF(1500mL)中的溶液中添加三光气(7.70g,25.96mmol.)并且将混合物搅拌10min。然后添加$MeNH_2$(2M,60.51mL.),将混合物再搅拌20min,然后升温至15℃并在N_2下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望质量。用100mL水淬灭过量的三光气,然后浓缩混合物。将残余物在水(200mL)和乙酸乙酯(200mL*3)之间分配,收集有机相,用饱和碳酸氢钠水溶液(100mL)和盐水(100mL)洗涤。然后经无水Na_2SO_4干燥,过滤,并浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。然后将粗产物用20mL甲醇在15℃下研磨10min。获得呈黄色固体的化合物2(3.5g,10.61%产率)。LCMS(M-H^+):551.5。

[1251] 步骤2.向化合物2(3.5g,6.33mmol.)在THF(30mL)中的溶液中添加TBAF(1M,15.83mL)。将混合物在15℃下搅拌2h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将粗产物通过反相HPLC(0.1%$NH_3.H_20$)纯化。获得呈白色固体的化合物3(1.8g,87.67%产率)。LCMS(M-H^+):323.2。

[1252] 步骤3.向化合物3(0.9g,2.78mmol.)在Py(50mL)中的溶液中添加DMTCl(1.03g,3.05mmol)。将混合物在15℃下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望质量。通过添加饱和$NaHCO_3$(50mL)将反应混合物淬灭并稀释,然后用乙酸乙酯(200mL,100mL*2)萃取。将合并的有机层用盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,然后乙酸乙酯/甲醇=1/0至0/1,5%TEA)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-247(1g,53.47%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.28(s,1H),9.32(s,1H),8.33-8.24(m,1H),8.15(s,1H),7.34(br d,J=7.7Hz,2H),7.29-7.08(m,7H),6.87-6.70(m,4H),6.19(br t,J=6.6Hz,1H),5.26(d,J=4.8Hz,1H),4.54-4.42(m,1H),3.93(br d,J=5.0Hz,1H),3.70(d,J=7.0Hz,6H),3.22-3.09(m,2H),3.02(td,J=6.4,13.0Hz,1H),2.78(br d,J=4.4Hz,3H),2.19-2.06(m,1H);LCMS(M-H^+):625.3;纯度:93.00%。

[1253] 7-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3,7-二氢-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮(WV-NU-261)的合成



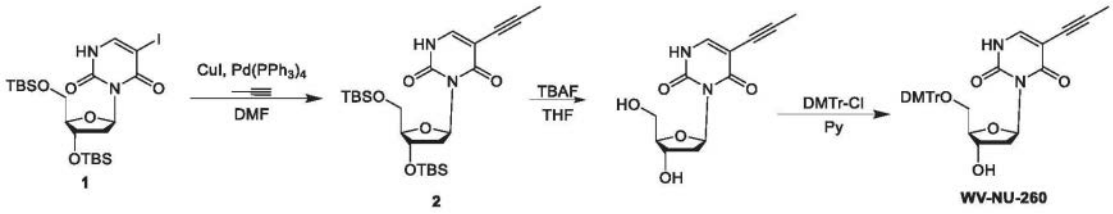
[1254] 步骤1.在0℃下向4-甲氧基-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶(4.5g,30.17mmol)在ACN(200mL)中的溶液中添加NaH(1.81g,45.26mmol,60%纯度)并在0℃下搅拌30min,然后将化

合物1(19.45g,45.26mmol)添加到上述反应混合物中并在65℃下搅拌4h。TLC显示检测到产物。过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至3:1)。获得呈白色固体的化合物2(11g,78.57%产率)。

[1255] 步骤2.向化合物2(10g,18.44mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加NaOH(2M,92.19mL)。将反应混合物在90℃下搅拌12h。LCMS显示检测到产物。过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=60:1至0:1)。获得呈白色固体的化合物3(4.2g,90.67%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.98(br s,1H),7.91(s,1H),7.36(d,J=3.5Hz,1H),6.52(d,J=3.6Hz,1H),6.50-6.45(m,1H),5.59-4.74(m,2H),4.45-4.23(m,1H),3.91-3.77(m,1H),3.59-3.46(m,2H),2.48-2.39(m,1H),2.24-2.15(m,1H)。LCMS(M+H$^+$):250.2。

[1256] 步骤3.向化合物3(3.5g,13.93mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中添加DMTCl(5.19g,15.32mmol)。TLC显示检测到产物。添加几滴甲醇(5ml)以水解任何未反应的DMTrCl,并将混合物搅拌10分钟并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)。获得呈黄色固体的WV-NU-261(3.2g,40.11%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.99(br s,1H),7.91(s,1H),7.37(d,J=7.4Hz,2H),7.30-7.20(m,7H),7.19-7.17(m,1H),6.91-6.80(m,4H),6.52-6.47(m,2H),4.44-4.31(m,1H),3.98-3.88(m,1H),3.73(s,6H),3.15(br d,J=4.6Hz,2H),2.58-2.44(m,2H),2.27(ddd,J=4.1,6.2,13.1Hz,1H);LCMS(M-H+):552.3,纯度:96.67%。

[1257] 3-((2R,4S,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-260)的合成



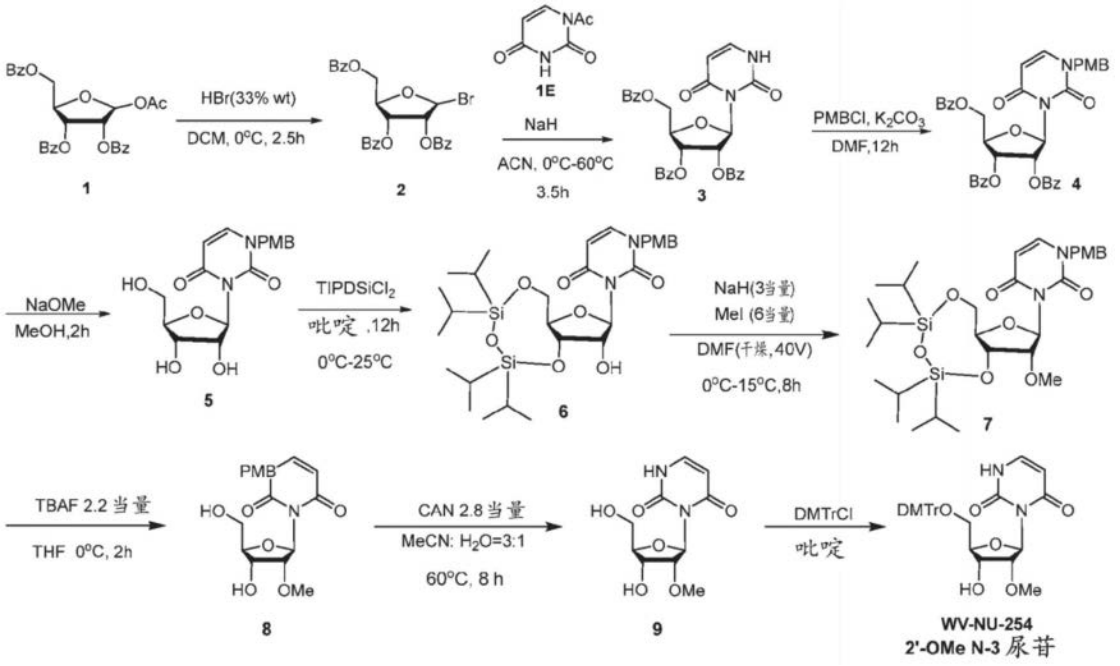
[1258] 步骤1.向化合物1(2.9g,4.98mmol)在EtOAc(30mL)中的溶液中添加TEA(579.23mg,5.72mmol)、CuI(4.74mg,24.89umol)和Pd(PPh_3)$_2$$Cl_2$(17.47mg,24.89umol)、丙-1-炔(2M,14.93mL)。将混合物在25℃下搅拌12h。LCMS显示反应物1被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将混合物减压浓缩以给出残余物。将粗产物通过以下纯化:反相HPLC(柱:Welch Xtimate C18250*70mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:70%-95%,20min)。获得呈白色固体的化合物2(0.5g,20.30%产率)。LCMS(M+Na$^+$):517。

[1259] 步骤2.向化合物2(1.5g,3.03mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加TBAF(1M,9.10mL)。将混合物在15℃下搅拌2h。LCMS显示化合物2被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将混合物减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=100/1至5/1)。获得呈白色固体的化合物3(0.807g,粗品)。LC-MS(M+Na$^+$):289。

[1260] 步骤3.向化合物3(0.7g,2.63mmol)在Py(10mL)中的溶液中添加DMT-Cl(890.81mg,2.63mmol)。将混合物在15℃下搅拌2h。LCMS显示化合物3被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将反应混合物在EtOAc(100mL)和H_2O(30mL)之间分配。分离有机相,用盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱

法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物WV-NU-260(1g,62.88％产率)。^{1}HNMR(DMSO-d_6,400MHz):δ＝11.43(br s,1H),7.78(s,1H),7.44(d,J＝7.4Hz,2H),7.22-7.36(m,7H),6.90(t,J＝8.9Hz,4H),6.62(dd,J＝8.9,4.2Hz,1H),5.13(d,J＝5.5Hz,1H),4.26-4.36(m,1H),3.84-3.90(m,1H),3.79(d,J＝1.6Hz,6H),3.38(s,2H),3.22-3.32(m,1H),3.13(dd,J＝9.8,3.2Hz,1H),2.64(ddd,J＝12.9,8.3,4.3Hz,1H),2.05ppm(s,4H);LCMS(M-H$^+$):567,纯度:94％。

[1261] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-254)的合成



[1262] 步骤1.在0℃下向化合物1(200g,396.44mmol)在DCM(2000mL)中的溶液中添加在N_2中的溴化氢(388.81g,260.95mL,33％纯度)。将混合物在0℃下搅拌2h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应混合物倒入500mL的冰水中,并将有机相分离,用水(300mL＊5)洗涤,经Na_2SO_4干燥,并减压蒸发。然后去除剩余的乙酸并将粗产物真空干燥。获得呈黄色油状物的化合物2(208g,粗品)。

[1263] 步骤2.对于四批:在0℃下向化合物1E(22.88g,148.47mmol)在ACN(2000mL)中的溶液中添加在N_2中的NaH(7.92g,60％纯度),持续30min。并且然后在25℃下添加化合物2(52g,98.98mmol),持续30min,1h后加热至40℃。并且然后将混合物在60℃下搅拌2h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成四个新斑点。过滤去除固体,有机相减压浓缩,以得到粗糙产物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯＝1:0至0:1)。获得呈黄色固体的化合物3(60g,27.27％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.40(br s,1H),7.98(br d,J＝7.6Hz,2H),7.91(br d,J＝7.6Hz,2H),7.83(br d,J＝7.6Hz,2H),7.69-7.57(m,3H),7.54(br d,J＝7.5Hz,1H),7.50-7.42(m,4H),7.42-7.34(m,2H),6.51(s,1H),6.12-6.05(m,2H),5.68(d,J＝7.6Hz,1H),4.72-4.62(m,2H),4.57-4.48(m,1H);LCMS(M+H$^+$):579.3,纯度:94.16％。

[1264] 步骤3.向化合物3(20g,35.94mmol)在DMF(300mL)中的溶液中添加K_2CO_3(7.45g,53.91mmol)和PMB-Cl(6.19g,39.53mmol)。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC指示化合物3被

完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物用水(200mL)稀释并用EtOAc(100mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并且减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=15:1至0:1)。获得呈黄色油状物的化合物4(23g,94.58%产率)。LCMS(M+H$^+$):700.3,纯度:98.35%。

[1265] 步骤4.向化合物4(23g,33.99mmol)在MeOH(300mL)中的溶液中,然后添加NaOMe(5.51g,101.97mmol)。将混合物在25℃下搅拌3h。TLC指示化合物4被完全消耗,并且形成两个新斑点。向反应中添加NH_4Cl(5.6g)并在室温下搅拌10min,然后真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=5:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=3:1)。获得呈黄色油状物的化合物5(12g,96.90%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.84(d,J=7.9Hz,1H),7.28(d,J=8.6Hz,2H),6.98-6.87(m,2H),6.07(d,J=3.4Hz,1H),5.70(d,J=7.9Hz,1H),5.05(br s,1H),4.87-4.77(m,2H),4.58(br s,1H),4.43(br dd,J=3.5,5.8Hz,1H),4.09(br t,J=6.3Hz,1H),3.73(s,3H),3.70-3.52(m,2H),3.45-3.29(m,2H);LCMS(M+H$^+$):365.2,纯度:99.51%。

[1266] 步骤5.在0℃下,向3-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1-(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(5)(12g,32.94mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中缓慢添加在N_2中的氯-[氯(二异丙基)甲硅烷基]氧基-二异丙基-硅烷(13.51g,42.82mmol)持续1h。将混合物在0℃-25℃搅拌11h。LCMS显示化合物5被完全消耗并且检测到所期望的质量。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=20:1至0:1)。获得呈黄色油状物的3-((6aR,8R,9R,9aS)-9-羟基-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅环辛-8-基)-1-(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(6)(15g,75.05%产率)。LCMS(M+H+):607.4,纯度:95.88%。

[1267] 步骤6.对于五批:在0℃下,向3-((6aR,8R,9R,9aS)-9-羟基-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅环辛-8-基)-1-(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(6)(5g,8.24mmol)在DMF(200mL)中的溶液中添加在N_2中的NaH(988.61mg,24.72mmol,60%纯度)和MeI(7.02g,49.44mmol)。将该混合物在0℃-15℃下搅拌10h。LCMS显示化合物6被完全消耗并且检测到所期望的质量。通过添加NH_4Cl(1000mL)淬灭五批反应混合物,然后用H_2O(500mL)稀释并用EtOAc(500mL*4)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤,并且减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)。获得呈黄色油状物的1-(4-甲氧基苄基)-3-((6aR,8R,9R,9aR)-2,2,4,4-四异丙基-9-甲氧基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅环辛-8-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(7)(21.5g,84.06%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=7.23(d,J=8.6Hz,2H),7.07(d,J=8.0Hz,1H),6.91-6.87(m,2H),6.26(d,J=1.6Hz,1H),5.64(d,J=8.0Hz,1H),5.06(dd,J=5.9,9.1Hz,1H),4.90(d,J=14.6Hz,1H),4.69(d,J=14.5Hz,1H),4.22(dd,J=1.5,5.9Hz,1H),4.07(d,J=2.8Hz,1H),4.01-3.96(m,1H),3.86-3.80(m,4H),3.51(s,3H),1.17-1.01(m,28H);LCMS(M+H+):621.4,纯度:99.09%。

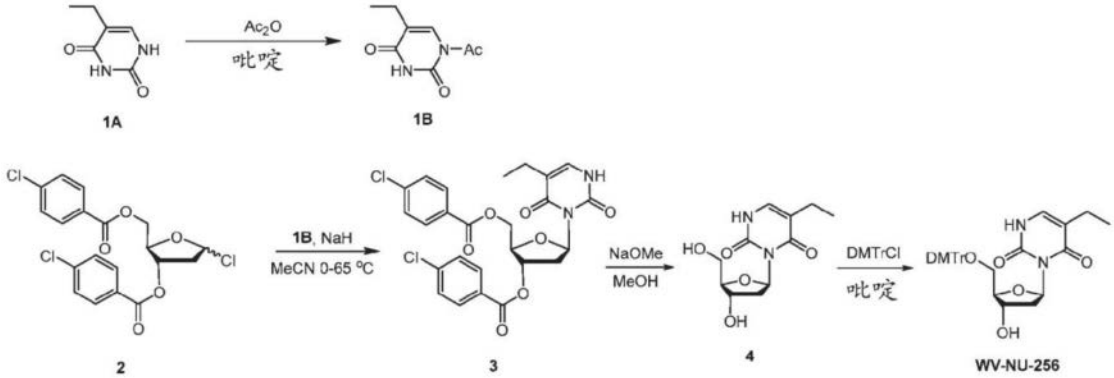
[1268] 步骤7.向1-(4-甲氧基苄基)-3-((6aR,8R,9R,9aR)-2,2,4,4-四异丙基-9-甲氧基四氢-6H-呋喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅环辛-8-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(7)(19g,30.60mmol)在THF(200mL)中的溶液中添加TBAF(1M,61.20mL)。将混合物在0℃下搅拌

4h。TLC指示化合物7被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=1:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=1:1)。获得呈白色固体的3-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)-1-(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(8)(10.9g,94.14%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.84(d,J=7.9Hz,1H),7.29(d,J=8.6Hz,2H),6.93(d,J=8.6Hz,2H),6.12(d,J=3.3Hz,1H),5.71(d,J=7.9Hz,1H),4.88(d,J=7.1Hz,1H),4.83(d,J=7.1Hz,2H),4.58(t,J=5.8Hz,1H),4.27-4.14(m,2H),3.74(s,3H),3.66(dt,J=3.3,6.6Hz,1H),3.60(ddd,J=3.4,5.3,11.7Hz,1H),3.39(td,J=6.3,12.0Hz,1H),3.30(s,3H);LCMS(M+H$^+$):401.2,纯度:96.37%。

[1269] 步骤8.向3-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)-1-(4-甲氧基苄基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(8)(10.9g,28.81mmol)在ACN(400mL)和H_2O(100mL)中的溶液中添加CAN(39.48g,72.02mmol)。将混合物在60℃下搅拌3h。TLC指示化合物8被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将粗产物通过以下纯化:制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18250*70mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:0%-10%,20min)。获得呈白色固体的3-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(9)(3.6g,48.65%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.17(br s,1H),7.46(d,J=7.6Hz,1H),6.10(d,J=3.1Hz,1H),5.58(d,J=7.6Hz,1H),4.86(d,J=6.9Hz,1H),4.58(t,J=5.8Hz,1H),4.24-4.16(m,2H),3.66(dt,J=3.3,6.3Hz,1H),3.60(ddd,J=3.4,5.3,11.8Hz,1H),3.44-3.36(m,1H),3.31(s,3H),3.17(d,J=5.1Hz,1H);LCMS(M+H$^+$):281.1,纯度:100.0%。

[1270] 向3-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(9)(3.5g,13.55mmol)在吡啶(50mL)中的溶液中添加DMT-Cl(4.59g,13.55mmol)。将混合物在15℃下搅拌6h。TLC指示化合物9被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=5:1,5%TEA)。获得呈白色固体的3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-254)(6.3g,82.89%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=9.36(br s,1H),7.47(d,J=7.8Hz,2H),7.35(d,J=8.6Hz,4H),7.26-7.22(m,2H),7.20-7.15(m,1H),6.85-6.74(m,5H),6.36(d,J=1.8Hz,1H),5.62(d,J=7.8Hz,1H),4.54-4.45(m,1H),4.21(dd,J=1.9,6.6Hz,1H),3.93(dt,J=3.1,7.1Hz,1H),3.77(s,6H),3.47(s,3H),3.43(dd,J=3.0,10.1Hz,1H),3.31(dd,J=6.6,10.1Hz,1H),2.70(d,J=9.1Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):559.3,纯度:99.10%。

[1271] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-256)的合成



[1272] 步骤1.向5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1A)(50g,356.79mmol)在吡啶(500mL)中的溶液中添加Ac_2O(218.54g,2.14mol)。将混合物在120℃下搅拌3h。TLC指示化合物1A被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物在减压下浓缩,以给出粗产物。将粗品用乙酸乙酯(500mL*3)洗涤,过滤,并将滤饼减压干燥,以得到产物。获得呈白色固体的1-乙酰基-5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1B)(50g,76.92%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.55(br s,1H),7.93(s,1H),2.60(s,3H),2.28(q,J=7.4Hz,2H),1.04(t,J=7.4Hz,3H)。

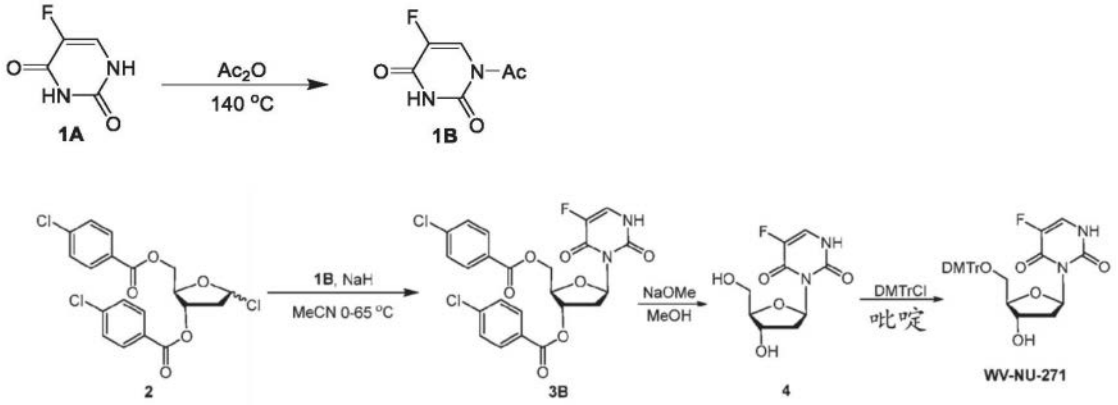
[1273] 步骤2.对于四批:在氩气气氛下,向干净干燥的三颈2L圆底烧瓶中装入1-乙酰基-5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1B)(10g,54.89mmol)并溶解到干燥的ACN(1000mL)中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0C。然后将NaH(3.29g,82.34mmol,60%纯度)分批添加到反应混合物中并在0℃下搅拌30min。之后,分批添加化合物2(32.78g,76.30mmol)并且将反应混合物在0℃下搅拌30min并在65℃下搅拌3h。LCMS显示化合物2被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物冷却至rt,过滤,将滤液减压浓缩,以给出粗产物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。在60℃下,将粗产物通过以下纯化:由石油醚:乙酸乙酯=5:1(200mL)重结晶。获得呈白色固体的4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(5-乙基-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3)(5.7g,19.00%产率)和10g粗品。

[1274] 步骤3.向4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(5-乙基-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3)(7.5g,14.06mmol)在MeOH(100mL)中的溶液中添加NaOMe(1.90g,35.15mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示化合物3被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。向反应混合物中添加干燥的NH4Cl(1.9g)并搅拌。将反应混合物减压浓缩以去除MeOH。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的5-乙基-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(3.4g,87.83%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.89(br d,J=4.9Hz,1H),7.22(d,J=5.1Hz,1H),6.57(dd,J=6.6,7.8Hz,1H),5.05(d,J=4.8Hz,1H),4.54(dd,J=5.1,6.4Hz,1H),4.35-4.26(m,1H),3.69-3.63(m,1H),3.62-3.54(m,1H),3.48-3.40(m,1H),3.17(d,J=5.3Hz,1H),2.74-2.66(m,1H),2.19(q,J=7.4Hz,2H),1.00(t,J=7.4Hz,3H);LCMS(M-H^+):255.2。

[1275] 步骤4.向5-乙基-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(3.4g,13.27mmol)在吡啶(90mL)中的溶液中添加DMTCl(4.95g,14.59mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示化合物4被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应用H_2O(100mL)稀释并用乙酸乙酯(100mL*3)萃取。将合并的有

机层用饱和盐水(100mL＊2)洗涤,经干燥的Na_2SO4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的34(2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-256)(5.8g,76.24％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ＝10.85(br s,1H),7.42-7.36(m,2H),7.29-7.22(m,7H),7.21-7.16(m,1H),6.87-6.79(m,4H),6.62(dd,J＝4.1,9.1Hz,1H),5.05(d,J＝5.5Hz,1H),4.31-4.24(m,1H),3.86-3.80(m,1H),3.72(d,J＝2.9Hz,6H),3.25-3.18(m,1H),3.06(dd,J＝3.2,9.7Hz,1H),2.59(ddd,J＝4.2,8.4,12.9Hz,1H),2.07-2.00(m,1H),1.17(t,J＝7.2Hz,2H),1.01-0.95(m,3H);LCMS(M-H$^+$):557.3,LCMS纯度:97.4％。

[1276] 34(2R,4S,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-271)的合成



[1277] 步骤1.向5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1A)(52g,399.76mmol)的溶液中添加Ac_2O(545.00g,5.34mol)。将混合物在140℃下搅拌12h。TLC指示化合物1A被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物在减压下浓缩,以给出粗产物。将粗产物用石油醚:乙酸乙酯＝10:1(100mL＊3)洗涤,过滤并将滤饼减压干燥以得到产物。获得呈白色固体的1-乙酰基-5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1B)(48g,69.77％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝12.15-12.02(m,1H),8.33(d,J＝7.5Hz,1H),2.60(s,3H)。

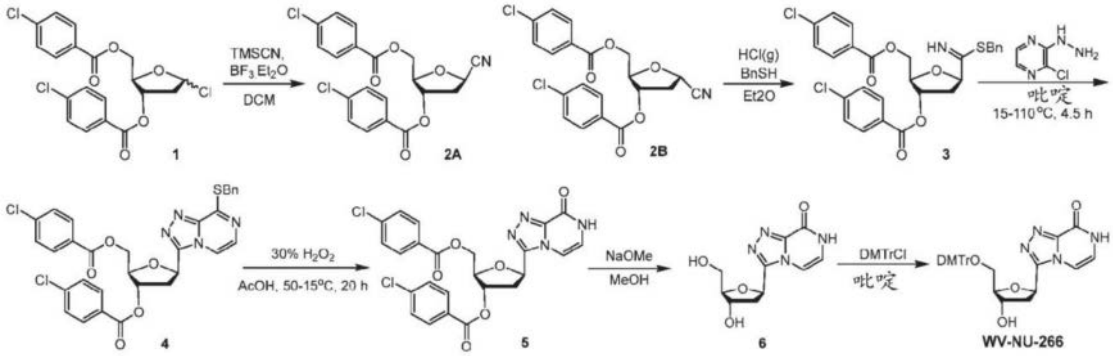
[1278] 步骤2.在氩气气氛下,向干净干燥的三颈3L圆底烧瓶中装入1-乙酰基-5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1B)(18g,104.58mmol)并溶解到干燥的ACN(1800mL)中。通过使用冰浴将反应混合物冷却至0℃。然后将NaH(6.27g,156.87mmol,60％纯度)分批添加到反应混合物中并在0℃下搅拌30min。之后,分批添加化合物2(62.46g,145.37mmol)并且将反应混合物在0℃下搅拌30min并在65℃下搅拌3h。LCMS显示化合物2被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物冷却至rt,过滤,将滤液减压浓缩,以给出粗产物。在65℃下将粗产物用乙酸乙酯(200mL)和石油醚(600mL)研磨15min,过滤并将滤饼洗涤三次,将滤饼真空干燥以得到产物并将所有母液浓缩以得到粗品。获得呈白色固体的4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(5-氟-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3B)(14g,25.58％产率)。

[1279] 步骤3.向4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(5-氟-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(3B)(14g,26.75mmol)在MeOH(200mL)中的溶液中添加NaOMe(3.61g,66.88mmol)。将混合物在20℃下搅拌2h。LCMS显示化合物3B

被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物用NH_4Cl固体(3.6g)淬灭,过滤固体得到滤液。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,二氯甲烷:甲醇=1/0至0/1)。获得呈白色泡沫状的5-氟-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(5.74g,87.10%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.47-10.66(m,1H),7.83(d,J=5.4Hz,1H),6.49(dd,J=6.1,7.9Hz,1H),5.20-4.98(m,1H),4.54(br s,1H),4.29(td,J=4.8,7.3Hz,1H),3.69-3.52(m,2H),3.48-3.39(m,1H),2.71(ddd,J=6.2,7.2,13.1Hz,1H),2.01-1.89(m,1H);LCMS(M+H$^+$):269.2。

[1280] 步骤4.向5-氟-3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4)(5.7g,23.15mmol)在吡啶(140mL)中的溶液中添加DMTCl(8.63g,25.47mmol)。将混合物在20℃下搅拌5h。LCMS显示化合物4被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物用H20(150mL)稀释并用乙酸乙酯(150mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(150mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化以得到呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-271)(10.4g,79.56%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.04(br s,1H),7.87(d,J=5.4Hz,1H),7.39(br d,J=7.5Hz,2H),7.30-7.22(m,6H),6.84(br t,J=9.0Hz,4H),6.59-6.52(m,1H),5.10(br d,J=5.1Hz,1H),4.31-4.21(m,1H),3.88-3.80(m,1H),3.73(d,J=2.1Hz,7H),3.27-3.18(m,1H),3.08(br dd,J=3.2,9.7Hz,1H),2.62(ddd,J=4.2,8.3,12.9Hz,1H),2.09-2.01(m,1H);LCMS(M-H$^+$):547.2,LCMS纯度:97.15%。

[1281] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8(7H)-酮(WV-NU-266)的合成



[1282] 步骤1.向化合物1(70.00g,162.91mmol)在DCM(1400mL)中的溶液中添加TMSCN(24.24g,244.37mmol.)和$BF_3.Et_2O$(46.24g,325.83mmol.)。将混合物在15℃下搅拌12h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。将反应用饱和碳酸氢铵溶液(200mL)淬灭并再搅拌30min。合并两批的浆液并用CH_2Cl_2(2*1000mL)萃取。将合并的有机相经Na_2SO_4干燥并蒸发至干燥。在15℃下,将粗产物用1000mL的石油醚:乙酸乙酯=1:1的混合溶剂研磨30min,进行两次。获得呈灰色固体的4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-氰基四氢呋喃-2-基)甲基酯(2A)(62g,45.29%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=8.05-7.96(m,4H),7.62(d,J=8.1Hz,4H),5.68-5.56(m,1H),5.18(t,J=7.9Hz,1H),4.59-4.54

(m,1H),4.52-4.43(m,2H),2.72(dd,J＝4.1,8.0Hz,2H)。

[1283] 步骤2.将4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-氰基四氢呋喃-2-基)甲基酯(2A)(52g,123.74mmol)和BnSH(31.34g,252.33mmol)在Et_2O(1500mL)中的溶液在0℃用无水HCl饱和2h(45min之后,形成白色沉淀物)。然后将混合物在-10℃下保持6h。LCMS显示检测到所期望的质量。过滤分离白色沉淀并用无水Et_2O(500mL)洗涤,干燥滤饼以得到产品。获得呈白色固体的4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-((苄基硫)(亚氨基)甲基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(3)(67g,粗品)。LCMS($M+H^+$):545.1。

[1284] 步骤3.将4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-((苄基硫)(亚氨基)甲基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(3)(37g,67.96mmol)和(3-氯吡嗪-2-基)肼(19.65g,135.92mmol)在Py(1500mL)中的混合物在15℃下搅拌3h并然后在115℃下搅拌1.5h。LCMS显示检测到所期望的质量。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-(8-(苄基硫)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-3-基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(4)(14g,32.42％产率)。LCMS(M+H+):635.2。

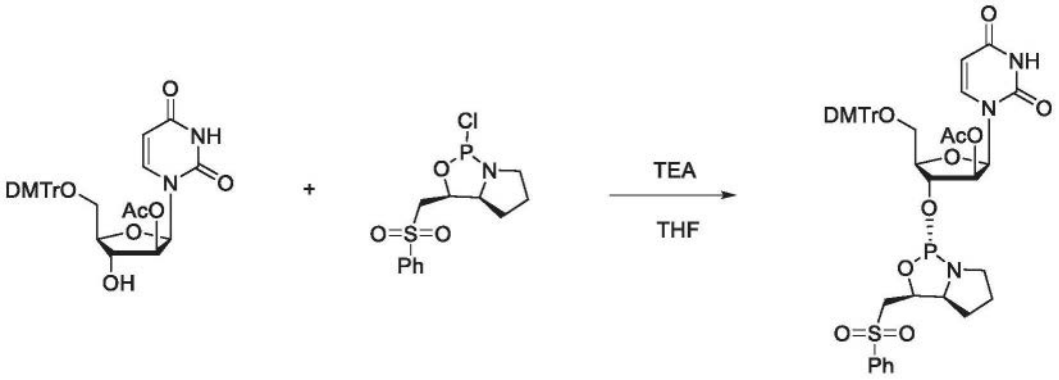
[1285] 步骤4.在50℃下,向4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-(8-(苄基硫)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-3-基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(4)(22g,34.62mmol)在AcOH(220mL)中的溶液中添加H_2O_2(21.81g,192.36mmol,30％纯度)。将混合物在15℃下搅拌20h。LCMS显示检测到所期望质量。真空去除AcOH,得到浅黄色浆料,向其中添加H_2O(500mL)。用3N NaOH溶液将该溶液的pH调节至6。通过过滤分离所得沉淀并从200mL MeOH中重结晶以给出粗品。获得呈黄色固体的4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(8-氧代-7,8-二氢-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-3-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(5)(18.32g,粗品)。LCMS($M+H^+$):529.1。

[1286] 步骤5.向4-氯苯甲酸((2R,3S,5R)-3-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(8-氧代-7,8-二氢-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-3-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(5)(18.32g,34.61mmol.)在MeOH(200mL)中的溶液中添加NaOMe(4.67g,86.52mmol)。将混合物在15℃下搅拌2h。LCMS显示检测到所期望质量。通过添加NH_4Cl(4.7g)淬灭反应混合物,然后在减压下浓缩,以给出残余物。获得呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8(7H)-酮(6)(8.73g,粗品)。LCMS(M+H+):253.1。

[1287] 步骤6.向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8(7H)-酮(6)(8.58g,34.02mmol.)在Py(200mL)中的溶液中添加DMTCl(11.53g,34.02mmol)。将混合物在15℃下搅拌10h。LCMS显示检测到所期望质量。通过添加饱和$NaHCO_3$(100mL)将反应混合物淬灭并稀释,然后用乙酸乙酯(200mL,100mL＊2)萃取。将合并的有机层用饱和盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将粗产物用DCM(100mL＊3)研磨15min。获得呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8(7H)-酮(WV-NU-266)(6.08g,31.07％产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ＝11.49(br d,J＝5.4Hz,1H),7.54(d,J＝5.6Hz,1H),7.26-7.13(m,5H),7.10(d,J＝8.8Hz,4H),6.83-6.74(m,5H),5.58(t,J＝7.1Hz,1H),5.35(br s,1H),4.38(br s,1H),3.98(q,J＝3.9Hz,1H),3.71(s,6H),3.08-2.87(m,2H),2.83(td,J＝6.6,13.2Hz,1H),2.30(ddd,J＝4.0,6.9,12.6Hz,1H);

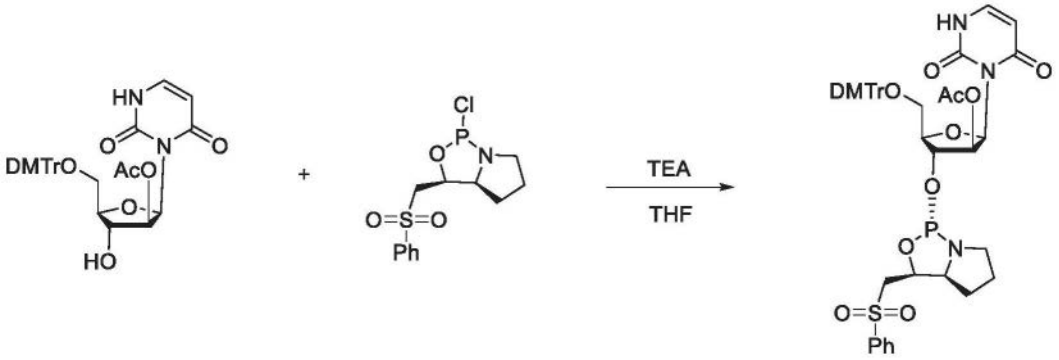
LCMS(M-H$^+$):553.2,纯度:96.42%。

[1288] 乙酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2,4-二氧代-3,4-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-3-基酯的合成



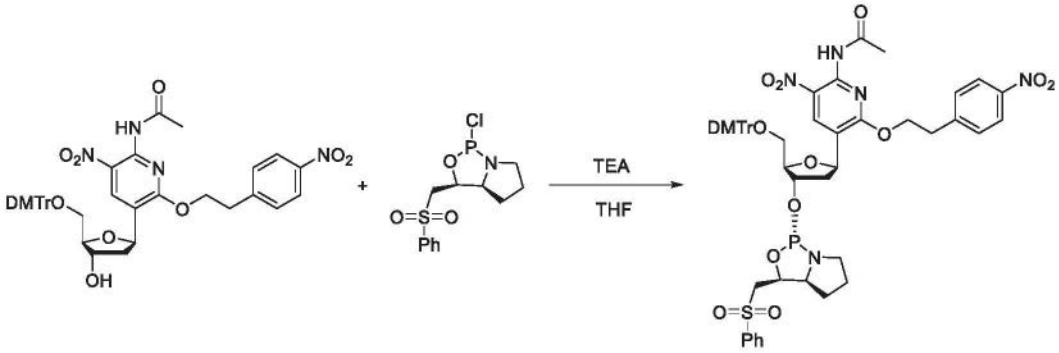
[1289] 向干燥的乙酸[(2R,3R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-2-(2,4-二氧代嘧啶-1-基)-4-羟基-四氢呋喃-3-基]酯(9.5g,16.14mmol)在THF(70mL)中的溶液中添加三乙胺(4.95mL,35.51mmol)。将反应烧瓶置于水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.43M在THF中,56.3mL,24.21mmol)。去除水浴。将浑浊反应溶液在rt下搅拌1h。TLC显示反应完成。用水(145μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.937g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(10.96g,77.9%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.52(s,1H),7.92-7.87(m,2H),7.65-7.59(m,1H),7.53(q,J=7.9Hz,3H),7.46-7.41(m,2H),7.34-7.28(m,6H),7.24(t,J=7.3Hz,1H),6.87-6.82(m,4H),6.26(d,J=4.6Hz,1H),5.48(d,J=8.2Hz,1H),5.36(dd,J=4.6,2.9Hz,1H),5.04(q,J=6.1Hz,1H),4.68(ddd,J=9.1,4.5,2.9Hz,1H),4.02(q,J=4.4Hz,1H),3.79(s,6H),3.64(dq,J=10.0,6.1Hz,1H),3.49(ddd,J=14.1,10.5,7.3Hz,1H),3.44(dt,J=14.4,5.3Hz,2H),3.38-3.31(m,2H),3.09-3.00(m,1H),1.95(s,3H),1.86(ddt,J=12.0,7.7,3.7Hz,1H),1.76(dt,J=11.8,8.2Hz,1H),1.68-1.63(m,1H),1.14-1.05(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ152.83;MS(ESI),870.63[M-H]$^-$。

[1290] 乙酸(2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-2-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-3-基酯的合成



[1291] 向干燥的乙酸[(2R,3R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-2-(2,4-二氧代-1H-嘧啶-3-基)-4-羟基-四氢呋喃-3-基]酯(1.9g,3.23mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加三乙胺(0.99mL,7.1mmol)。将反应烧瓶置于水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,5.38mL,4.84mmol)。去除水浴。将浑浊反应溶液在rt下搅拌2h。TLC和LCMS显示反应几乎完成。再搅拌1h。用水(29μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(387mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(1.02g,36.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.49(s,1H),7.86(d,J=7.8Hz,2H),7.62(t,J=7.5Hz,1H),7.53-7.48(m,2H),7.46(d,J=7.9Hz,2H),7.34(dd,J=9.1,2.9Hz,4H),7.22(t,J=7.6Hz,2H),7.15(t,J=7.3Hz,1H),6.96(d,J=7.6Hz,1H),6.86(d,J=8.2Hz,1H),6.77(dd,J=8.6,5.8Hz,4H),5.59(d,J=7.5Hz,1H),5.41(t,J=7.5Hz,1H),5.00(q,J=6.0Hz,2H),3.96(td,J=8.1,2.1Hz,1H),3.76-3.73(m,6H),3.62(dq,J=11.5,5.8Hz,1H),3.57(t,J=9.2Hz,1H),3.33(d,J=9.4Hz,1H),3.32-3.22(m,3H),2.74(qd,J=9.4,4.1Hz,1H),1.98(s,3H),1.77(dp,J=12.5,4.3Hz,1H),1.73-1.65(m,1H),1.61(dt,J=9.3,5.3Hz,1H),1.11-1.01(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.88;MS(ESI),870.46[M-H]-。

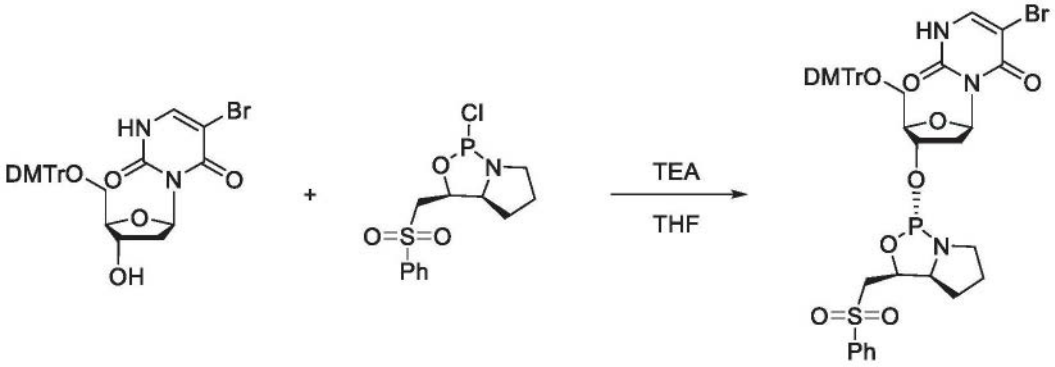
[1292] N-(5-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-3-硝基-6-(4-硝基苯氧基)吡啶-2-基)乙酰胺的合成



[1293] 向干燥的N-[5-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-3-硝基-6-[2-(4-硝基苯基)乙氧基]-2-吡啶基]乙酰胺(2.0g,2.62mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加三乙胺(0.91mL,6.54mmol)。将反应烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,5.23mL,4.71mmol)。去除水浴。将浑浊的反应溶液在rt下搅拌4h 45min。TLC和LCMS显示反应完成。用水(24μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(314mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-70%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈浅黄色泡沫状的标题化合物(1.897g,69.2%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ10.59(s,1H),8.66(s,1H),8.20(d,J=8.6Hz,2H),7.89(d,J=7.5Hz,2H),7.57(tt,J=7.5,1.4Hz,1H),7.50-7.44(m,4H),7.43-7.39(m,2H),7.32(dd,J=8.8,3.8Hz,4H),7.28(t,J=7.6Hz,

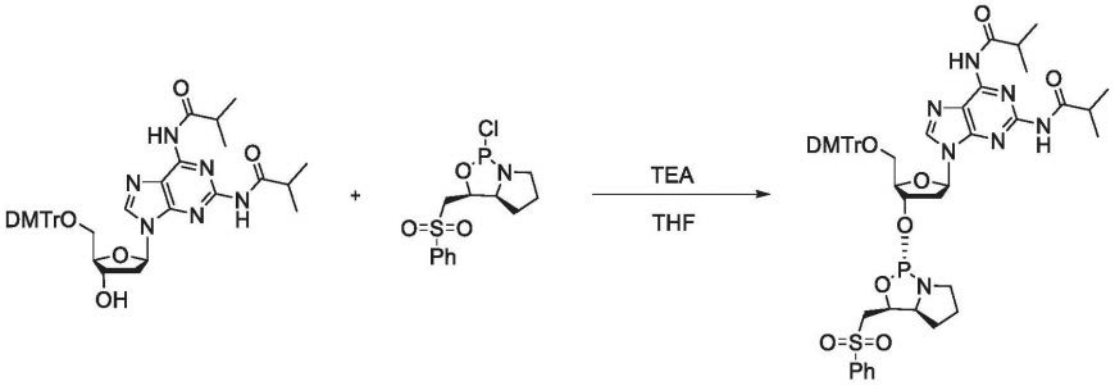
2H),7.20(t,J=7.2Hz,1H),6.87-6.80(m,4H),5.14-5.08(m,1H),5.08-5.03(m,1H),4.76-4.65(m,3H),4.08(q,J=3.6Hz,1H),3.79(s,6H),3.61(dq,J=11.7,5.9Hz,1H),3.54(ddd,J=14.5,10.5,7.5Hz,1H),3.48(dd,J=14.5,7.0Hz,1H),3.36(dd,J=14.5,5.3Hz,1H),3.27(dq,J=15.5,6.3,5.2Hz,3H),3.22(dd,J=10.2,3.9Hz,1H),3.13(qd,J=10.3,3.9Hz,1H),2.46(s,3H),2.38(dd,J=13.0,5.2Hz,1H),1.90(tdd,J=11.5,7.6,3.0Hz,1H),1.84-1.73(m,2H),1.64(dt,J=12.0,7.2Hz,1H),1.17-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.45;MS(ESI),1086.17$[M+K]^+$。

[1294] 3-((2R,4S,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-溴嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



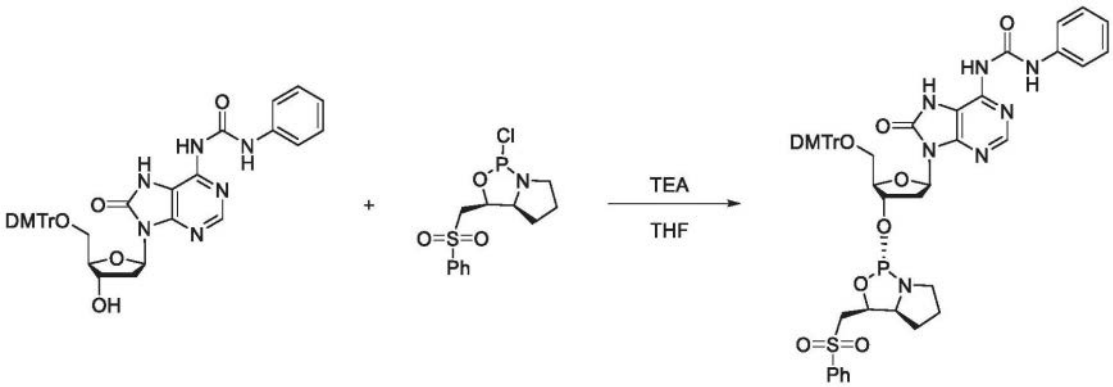
[1295] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-溴-1H-嘧啶-2,4-二酮(2.8g,4.59mmol)在THF(21mL)中的溶液中添加三乙胺(1.6mL,11.49mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.19mL,8.27mmol)。将所得浆液在rt下搅拌2h 45min。TLC和LCMS显示反应完成。用水(41μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(551mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的45%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(2.433g,59.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.87(d,J=8.1Hz,2H),7.63-7.58(m,1H),7.50(t,J=7.7Hz,2H),7.47(d,J=7.8Hz,2H),7.35(d,J=8.5Hz,4H),7.24(t,J=7.7Hz,2H),7.16(t,J=7.3Hz,1H),6.93(s,1H),6.82-6.76(m,4H),6.70(dd,J=8.5,5.0Hz,1H),4.91(q,J=6.1Hz,1H),4.85(td,J=8.8,4.4Hz,1H),3.94(td,J=6.2,3.2Hz,1H),3.751(s,3H),3.748(s,3H),3.60(dp,J=11.7,6.5,6.1Hz,1H),3.43-3.33(m,3H),3.33-3.26(m,2H),2.96(qd,J=10.0,4.0Hz,1H),2.86(ddd,J=13.3,8.2,5.0Hz,1H),2.26(ddd,J=13.7,8.5,5.5Hz,1H),1.82(ddq,J=11.9,7.7,3.9,3.3Hz,1H),1.72(dt,J=14.9,9.1Hz,1H),1.60(qd,J=7.5,2.6Hz,1H),1.16-1.01(m,2H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ150.19;MS(ESI),890.46/892.45$[M-H]^-$。

[1296] N,N'-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-2,6-二基)双(2-甲基丙酰胺)的合成



[1297] 向干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-2-(2-甲基丙酰基氨基)嘌呤-6-基]-2-甲基-丙酰胺(3.25g,4.59mmol)在THF(24.4mL)中的溶液中添加三乙胺(1.6mL,11.46mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.17mL,8.25mmol)。去除水浴。将所得浆液在rt下搅拌2.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(41μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(551mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.52g,55.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.65(s,1H),8.27(s,1H),8.05(s,1H),7.92-7.88(m,2H),7.57(t,J=7.5Hz,1H),7.48(t,J=7.7Hz,2H),7.39(d,J=7.6Hz,2H),7.28(d,J=8.6Hz,4H),7.23(t,J=7.5Hz,2H),7.19(t,J=7.2Hz,1H),6.80-6.75(m,4H),6.38(dd,J=7.9,5.8Hz,1H),5.03(q,J=6.0Hz,1H),4.88(ddt,J=8.8,5.7,2.5Hz,1H),4.15-4.13(m,1H),3.76(s,6H),3.63(dq,J=11.6,6.1Hz,1H),3.53-3.43(m,2H),3.40-3.30(m,2H),3.13(qd,J=9.8,3.7Hz,2H),2.88(ddd,J=13.8,8.0,6.1Hz,1H),2.63(ddd,J=13.5,5.8,2.4Hz,1H),2.14(s,2H),1.88(ddq,J=11.7,7.6,3.7,3.1Hz,1H),1.79(tt,J=12.0,7.7Hz,1H),1.64(qd,J=7.6,2.4Hz,1H),1.29(d,J=6.8Hz,6H),1.18(dd,J=11.4,6.8Hz,6H),1.14-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ152.69;MS(ESI),992.72$[M+H]^+$。

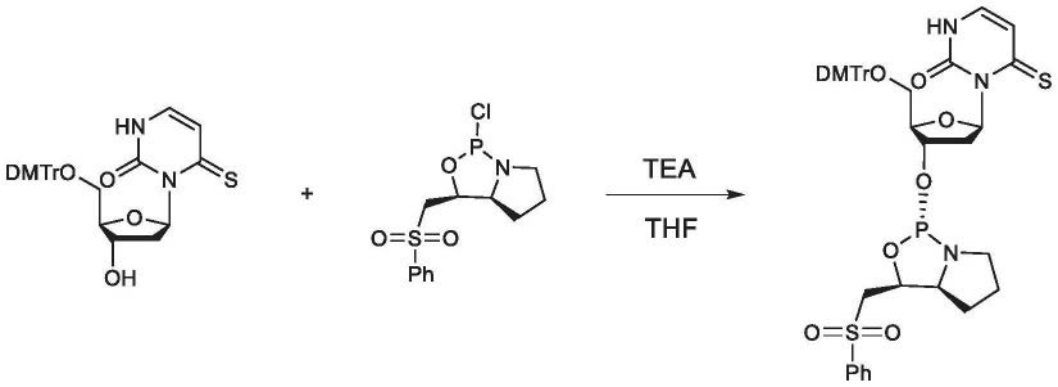
[1298] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-苯基脲的合成



[1299] 向干燥的1-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟

基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]-3-苯基-脲(3.95g,5.74mmol)在THF(30mL)中的溶液中添加三乙胺(2.0mL,14.34mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,11.47mL,10.32mmol)。去除水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(52μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(688mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈浅黄色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-100%乙腈(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(1.70g,30.6%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ11.67(s,2H),10.62(s,1H),8.27(s,1H),7.90(d,J=7.9Hz,2H),7.59(t,J=7.8Hz,1H),7.51(dt,J=26.1,8.9Hz,6H),7.43(d,J=7.8Hz,2H),7.31(d,J=8.3Hz,4H),7.20(t,J=7.6Hz,3H),7.16(d,J=7.4Hz,1H),6.74(t,J=9.1Hz,4H),6.38-6.32(m,1H),5.10(q,J=6.2Hz,2H),4.08-4.02(m,1H),3.73(s,3H),3.72(s,3H),3.71-3.66(m,1H),3.47(dd,J=14.6,6.9Hz,2H),3.42-3.30(m,3H),3.26(t,J=8.2Hz,1H),3.07-2.99(m,1H),2.30(dt,J=12.7,5.4Hz,1H),1.87(t,J=9.2Hz,1H),1.78(p,J=10.0,9.4Hz,1H),1.67(dt,J=13.1,6.1Hz,1H),1.18-1.08(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.65;MS(ESI),970.45[M-H]$^-$。

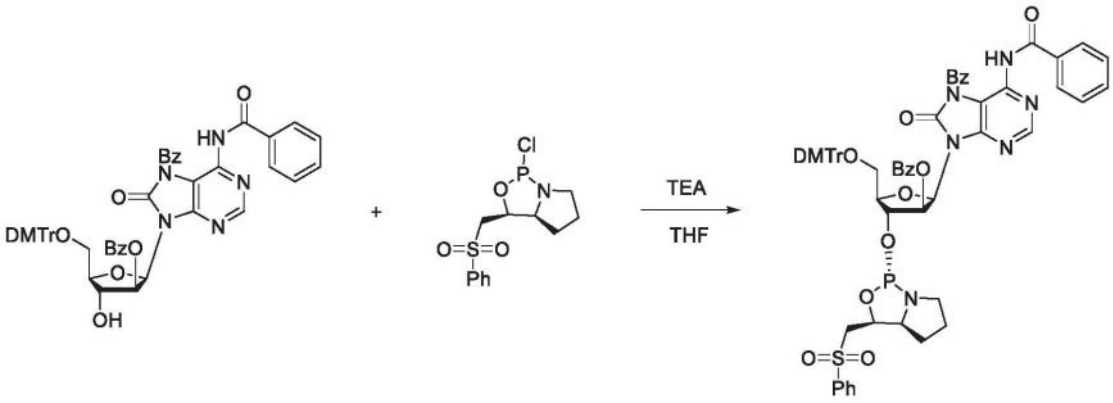
[1300] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-4-硫代-3,4-二氢嘧啶-2(1H)-酮的合成



[1301] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-4-硫代-1H-嘧啶-2-酮(2.2g,4.02mmol)在THF(16.5mL)中的溶液中添加三乙胺(1.4mL,10.06mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,8.05mL,6.04mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(36μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(483mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈浅黄色泡沫状的标题化合物(1.35g,40.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.86(d,J=7.8Hz,2H),7.61(p,J=7.0Hz,2H),7.51(t,J=7.7Hz,2H),7.46(d,J=7.6Hz,2H),7.34(d,J=8.3Hz,3H),7.23(t,J=7.8Hz,2H),7.16(d,J=7.7Hz,1H),6.79(d,J=8.4Hz,4H),6.75(d,J=8.4Hz,1H),6.43(d,J=7.3Hz,1H),6.38(d,J=7.3Hz,1H),4.95-4.90(m,1H),4.86(p,J=7.8Hz,1H),3.96(dd,J=7.6,4.2Hz,1H),3.75(s,6H),3.60(dq,J=13.6,6.5Hz,1H),3.42-3.26(m,5H),2.97-2.90

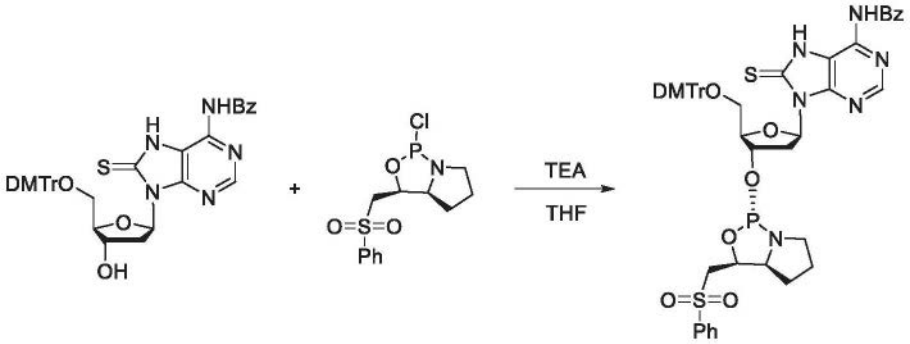
(m,1H),2.78(p,J＝6.5Hz,1H),2.28(dt,J＝13.8,7.1Hz,1H),1.85-1.79(m,1H),1.72(q,J＝10.5,9.8Hz,1H),1.61(p,J＝6.3Hz,1H),1.58-1.49(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.15;MS(ESI),828.38[M-H]-。

[1302] 苯甲酸(2R,3S,4R,5R)-2-(6-苯甲酰胺基-7-苯甲酰基-8-氧代-7,8-二氢-9H-嘌呤-9-基)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-3-基酯的合成



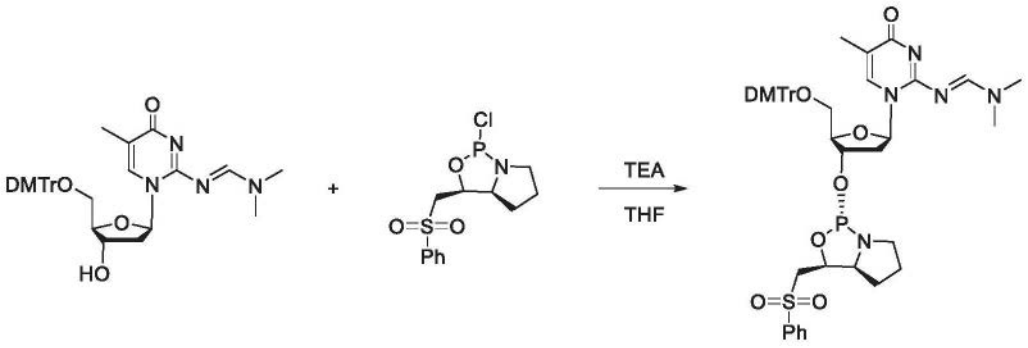
[1303] 向干燥的苯甲酸[(2R,3R,5R)-2-(6-苯甲酰胺基-7-苯甲酰基-8-氧代-嘌呤-9-基)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-3-基]酯(2.5g,2.78mmol)在THF(19mL)中的溶液中添加三乙胺(0.97mL,6.96mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,6.31mL,4.73mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌1.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(25μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(334mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的15%-70%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(1.54g,46.9%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.26(s,1H),7.94-7.88(m,2H),7.87-7.81(m,2H),7.78(dd,J＝17.2,7.8Hz,3H),7.68(d,J＝7.8Hz,2H),7.60(t,J＝7.7Hz,1H),7.54(t,J＝7.8Hz,1H),7.49(t,J＝8.0Hz,1H),7.46-7.39(m,7H),7.33(dt,J＝6.4,2.8Hz,3H),7.28(q,J＝6.6,4.7Hz,4H),7.15(t,J＝7.7Hz,2H),7.11(t,J＝7.3Hz,1H),6.80-6.71(m,4H),6.66(d,J＝7.5Hz,1H),5.77(t,J＝7.1Hz,1H),5.16(q,J＝8.1Hz,1H),4.89(q,J＝6.4Hz,1H),4.15-4.10(m,1H),3.74(s,6H),3.57(q,J＝8.8,8.1Hz,2H),3.43(d,J＝10.2Hz,1H),3.26(qd,J＝14.3,6.2Hz,3H),2.82-2.75(m,1H),1.79-1.64(m,2H),1.63-1.53(m,2H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ153.71;MS(ESI),1179.43[M-H]-。

[1304] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-硫代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



[1305] 向干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-硫代-7H-嘌呤-6-基]苯甲酰胺(2.5g,3.62mmol)在THF(19mL)中的溶液中添加三乙胺(1.26mL,9.06mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,8.22mL,6.16mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌1.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(33μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(435mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈黄色泡沫状的标题化合物(2.96g,84.0%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.67(s,2H),8.24(d,J=2.5Hz,1H),7.95(d,J=7.8Hz,2H),7.89(d,J=7.8Hz,2H),7.66(t,J=7.7Hz,1H),7.61(t,J=7.7Hz,1H),7.56(t,J=7.6Hz,2H),7.52(t,J=7.9Hz,2H),7.42(d,J=7.8Hz,2H),7.30(d,J=8.1Hz,4H),7.22(t,J=7.9Hz,2H),7.16(t,J=7.5Hz,1H),6.98(t,J=7.6Hz,1H),6.79-6.73(m,4H),5.25-5.18(m,1H),5.08(q,J=6.6Hz,1H),4.11(dd,J=7.9,4.9Hz,1H),3.76(s,6H),3.70(t,J=8.0Hz,1H),3.55-3.45(m,2H),3.45-3.40(m,1H),3.37(dt,J=13.7,6.6Hz,2H),3.32-3.26(m,1H),3.05(d,J=10.3Hz,1H),2.39(tt,J=7.3,3.0Hz,1H),1.90(ddt,J=15.9,11.6,5.8Hz,1H),1.78(q,J=9.9Hz,1H),1.68(dt,J=12.6,6.0Hz,1H),1.12(q,J=10.3Hz,1H);^{31}PNMR(243MHz,氯仿-d)δ149.85;MS(ESI),971.40[M-H1-。

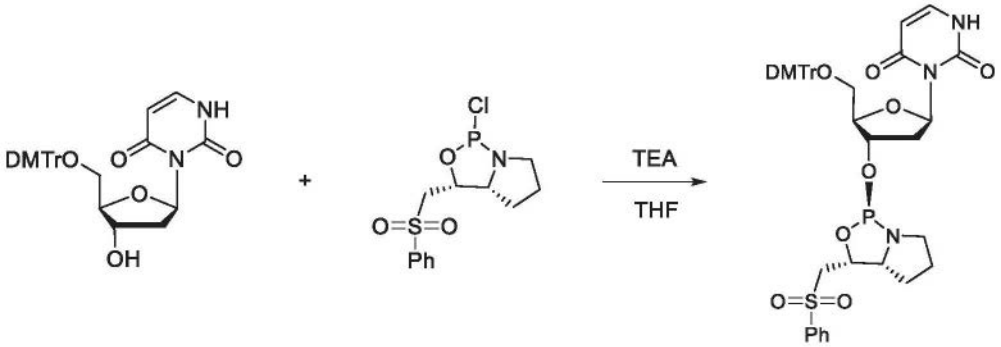
[1306] (E)-N'-(1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-甲基-4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)-N,N-二甲基甲脒的合成



[1307] 向干燥的5'-ODMTr-N-DMF-5-甲基-异胞苷(20g,33.41mmol)在THF(300mL)中的溶液中添加三乙胺(11.64mL,83.52mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷

(0.75M在THF中,75.72mL,56.79mmol)。去除冰/水浴。将浆液在rt下搅拌6.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(301μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(4.0g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法首先使用在己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)、然后使用在EtOAc中的0%-90%乙腈(各流动相含有5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(21.9g,74.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.82(s,1H),7.86(d,J=7.7Hz,2H),7.66(s,1H),7.58(t,J=7.8Hz,1H),7.47(t,J=7.8Hz,2H),7.44-7.39(m,2H),7.33-7.26(m,6H),7.22(t,J=7.4Hz,1H),6.83(d,J=8.3Hz,4H),6.81-6.75(m,1H),4.97(q,J=6.3Hz,1H),4.81-4.75(m,1H),3.99(q,J=2.5Hz,1H),3.77(s,6H),3.57(dq,J=12.3,6.2Hz,1H),3.52-3.39(m,3H),3.33(dd,J=14.6,5.5Hz,1H),3.26(dd,J=10.6,2.5Hz,1H),3.14(s,3H),3.10(s,3H),2.50-2.44(m,1H),2.26(dt,J=14.3,7.4Hz,1H),1.92-1.85(m,1H),1.83-1.70(m,2H),1.64(q,J=5.7Hz,1H),1.61(s,3H),1.09(p,J=10.4Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ152.53;MS(ESI),882.59$[M+H]^+$。

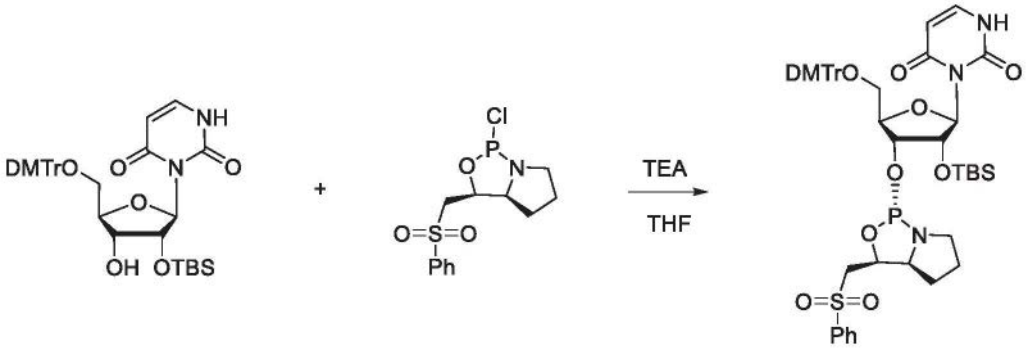
[1308] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1R,3R,3aR)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1309] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(5.0g,9.42mmol)在THF(37.5mL)中的溶液中添加三乙胺(3.28mL,23.56mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3R,3aR)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.8M在THF中,18.85mL,15.08mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(85μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.13g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(6.3g,82.1%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.31(s,1H),7.91(d,J=7.8Hz,2H),7.63(t,J=7.7Hz,1H),7.54(t,J=7.8Hz,2H),7.46(d,J=7.8Hz,2H),7.34(d,J=8.3Hz,4H),7.23(t,J=7.8Hz,2H),7.16(t,J=7.6Hz,1H),6.78(ddt,J=6.7,4.5,2.5Hz,4H),6.68(d,J=8.0Hz,2H),5.55(d,J=7.4Hz,1H),5.00(q,J=6.2Hz,1H),4.81(五重峰,J=6.3Hz,1H),4.02(q,J=5.6Hz,1H),3.75(s,6H),3.60(五重峰,J=7.9Hz,1H),3.48(dd,J=14.8,7.6Hz,1H),3.43-3.34(m,3H),3.34-3.28(m,1H),3.10(q,J=9.12Hz,1H),2.84-2.77(m,1H),2.14(dt,J=14.0,7.2Hz,1H),1.83(d,J=9.6Hz,1H),1.79-1.70(m,1H),1.60(五重峰,J=6.2Hz,

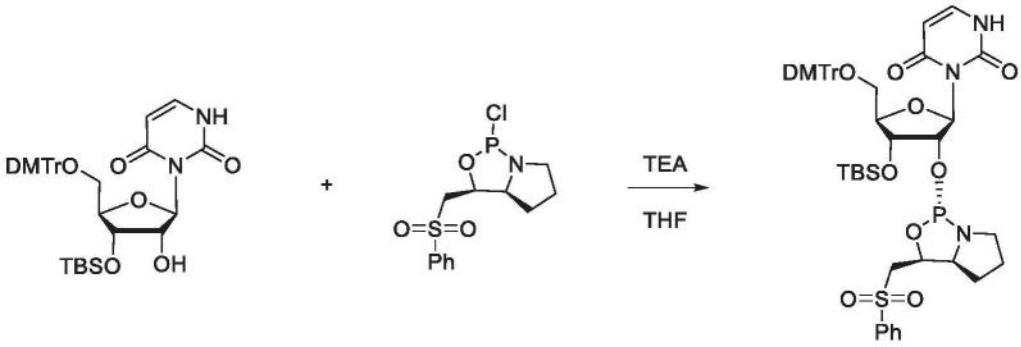
1H),1.09(h,J＝10.1,9.5Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ155.86;MS(ESI),812.46[M-H]$^-$。

[1310] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



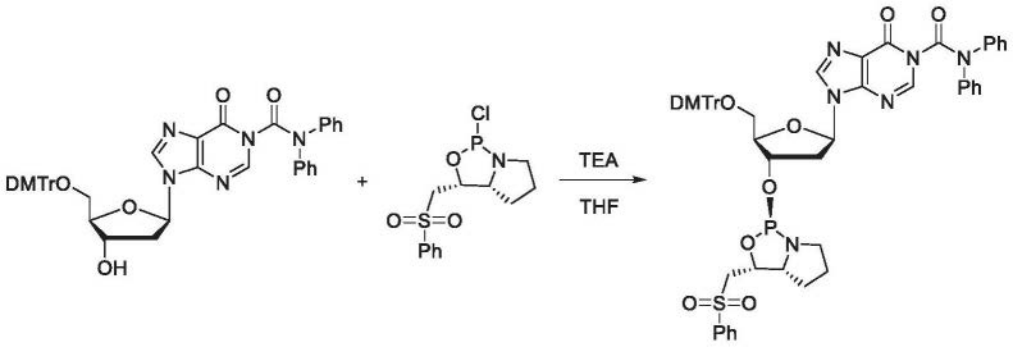
[1311] 向干燥的3-[(2R,4S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(5.0g,7.57mmol)在THF(37.5mL)中的溶液中添加三乙胺(2.64mL,18.92mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,17.15mL,12.86mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌4h 45min。用水(68μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(908mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在已烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(4.206g,58.9%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.51(s,1H),7.84(d,J＝7.7Hz,2H),7.57(t,J＝7.7Hz,1H),7.51(d,J＝8.2Hz,2H),7.45(t,J＝7.9Hz,2H),7.40-7.32(m,4H),7.23(t,J＝7.8Hz,2H),7.16(t,J＝7.6Hz,1H),6.79(d,J＝8.3Hz,4H),6.27(d,J＝3.1Hz,1H),6.20(d,J＝7.5Hz,1H),5.42(d,J＝7.5Hz,1H),5.00(s,1H),4.88(q,J＝6.5Hz,1H),4.63(dt,J＝11.4,5.5Hz,1H),3.98-3.93(m,1H),3.75(s,6H),3.58(q,J＝7.2,6.6Hz,1H),3.44-3.29(m,4H),3.08(dd,J＝10.4,5.0Hz,1H),3.00-2.92(m,1H),1.81(t,J＝9.9Hz,1H),1.70(q,J＝10.8,9.8Hz,1H),1.59(q,J＝6.9,6.2Hz,1H),1.10-1.00(m,1H),0.87(s,9H),0.04(s,3H),0.00(s,3H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.37;MS(ESI),942.40[M-H]$^-$。

[1312] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1313] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-3-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(5.0g,7.57mmol)在THF(37.5mL)中的溶液中添加三乙胺(2.64mL,18.92mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,18.16mL,13.62mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌4h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(68μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(908mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-95% EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(3.587g,50.2%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.35(s,1H),7.97-7.93(m,2H),7.66-7.61(m,1H),7.56(dd,J=8.4,7.2Hz,2H),7.48-7.44(m,2H),7.38-7.31(m,4H),7.23(t,J=7.7Hz,2H),7.18-7.12(m,1H),6.86(d,J=7.7Hz,1H),6.78(dt,J=9.4,2.2Hz,4H),6.28(d,J=3.6Hz,1H),5.58(d,J=7.6Hz,1H),5.05-4.97(m,2H),4.44(t,J=6.4Hz,1H),4.03(td,J=6.1,3.5Hz,1H),3.75(s,6H),3.72-3.67(m,1H),3.47-3.37(m,3H),3.33(dd,J=14.4,5.9Hz,1H),3.13(dd,J=10.4,5.8Hz,1H),2.97(tt,J=10.0,6.5Hz,1H),1.76-1.64(m,3H),1.18(dq,J=11.7,8.3Hz,1H),0.78(s,9H),0.00(s,3H),-0.08(s,3H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.50;MS(ESI),942.40[M-H]$^-$。

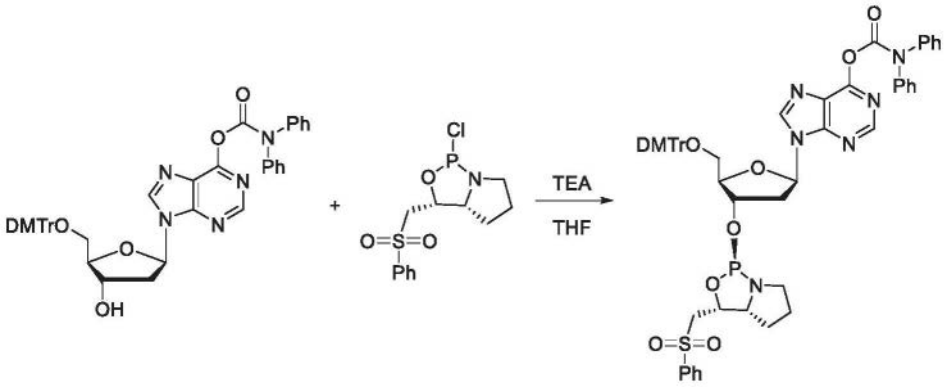
[1314] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1R,3R,3aR)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-N,N-二苯基-6,9-二氢-1H-嘌呤-1-甲酰胺的合成



[1315] 向干燥的9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-氧代-N,N-二苯基-嘌呤-1-甲酰胺(13.06g,17.42mmol)在THF(98mL)中的溶液中添加三乙胺(6.07mL,43.54mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3R,3aR)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.80M在THF中,39.19mL,31.35mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h 45min。TLC

和LCMS显示反应完成。用水(157μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(2.08g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(14.7g,81.7%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.05(s,1H),7.90(t,J=12.5Hz,2H),7.83(s,1H),7.59(s,1H),7.57-7.46(m,2H),7.44(s,2H),7.42-7.33(m,5H),7.32-7.23(m,6H),7.21(t,J=7.4Hz,2H),7.18(s,2H),7.11(s,1H),7.05(s,1H),6.83-6.77(m,4H),6.24(dd,J=7.3,6.0Hz,1H),5.09(dq,J=7.8,4.6Hz,1H),4.86-4.77(m,1H),4.24-4.16(m,1H),3.782(s,3H),3.781(s,3H),3.69-3.63(m,1H),3.55-3.44(m,2H),3.42-3.33(m,2H),3.29(dd,J=10.5,3.9Hz,1H),3.19(tdd,J=10.2,8.7,4.0Hz,1H),2.64(dt,J=13.5,6.7Hz,1H),2.53-2.39(m,1H),1.92-1.86(m,1H),1.85-1.75(m,1H),1.65-1.60(m,1H),1.13(dtd,J=11.7,10.3,8.6Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ156.79(次要),156.34(主要);次要:主要=47:53;MS(ESI),1033.10$[M+H]^+$。

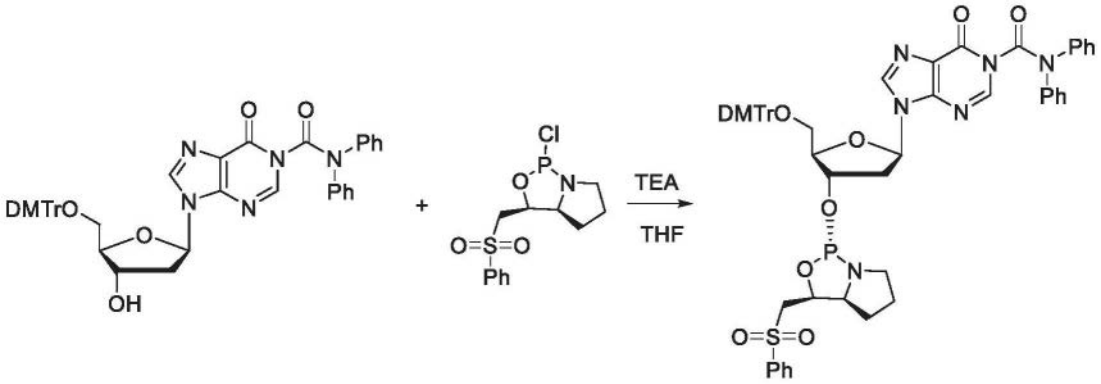
[1316] 二苯基氨基甲酸9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1R,3R,3aR)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基酯的合成



[1317] 向干燥的N,N-二苯基氨基甲酸[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]嘌呤-6-基]酯(3.6g,4.8mmol)在THF(27mL)中的溶液中添加三乙胺(1.67mL,12.0mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3R,3aR)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.80M在THF中,10.8mL,8.64mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌2.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(43μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(576mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的20%-80%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(3.94g,79.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.62(s,1H),8.28(s,1H),7.93-7.89(m,2H),7.60-7.56(m,1H),7.53-7.48(m,2H),7.48-7.41(m,4H),7.41-7.38(m,2H),7.35(t,J=7.9Hz,4H),7.32-7.27(m,4H),7.26-7.20(m,4H),7.20-7.17(m,1H),6.82-6.75(m,4H),6.44(dd,J=7.3,6.0Hz,1H),5.10(ddd,J=7.7,5.8,4.5Hz,1H),4.86(ddt,J=8.8,6.1,3.1Hz,1H),4.27(q,J=4.1Hz,1H),3.749(s,3H),3.747(s,3H),3.70-3.64(m,1H),3.55-3.46(m,2H),3.44(dd,J=10.4,4.7Hz,1H),3.39(dd,J=14.5,4.4Hz,1H),3.34(dd,J=10.4,4.3Hz,1H),3.20(tdd,J=10.1,8.7,4.0Hz,1H),2.91(ddd,J=13.4,7.4,6.0Hz,1H),2.56(ddd,J=13.6,6.0,3.3Hz,1H),1.90(tdd,J=11.8,9.4,5.6Hz,1H),1.85-1.77(m,1H),1.68-1.61(m,1H),1.14

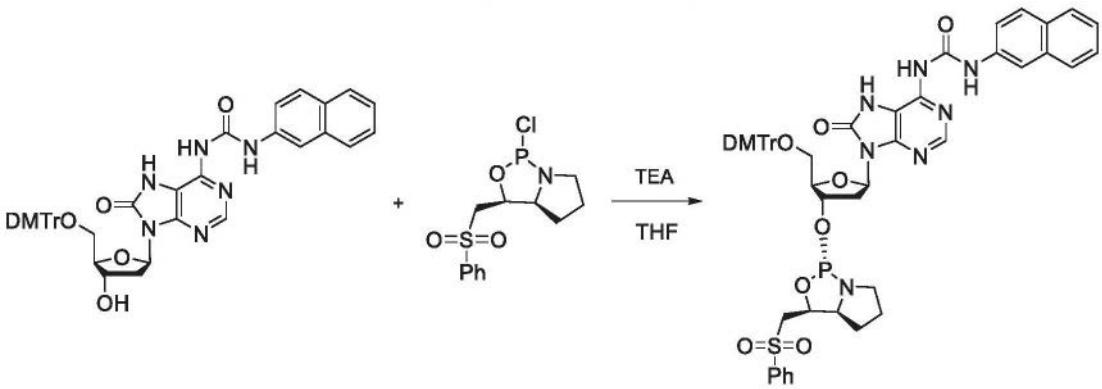
(dtd,J＝11.6,10.2,8.4Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ156.38;MS(ESI),1033.00[M+H]$^{+}$。

[1318] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-氧代-N,N-二苯基-6,9-二氢-1H-嘌呤-1-甲酰胺的合成



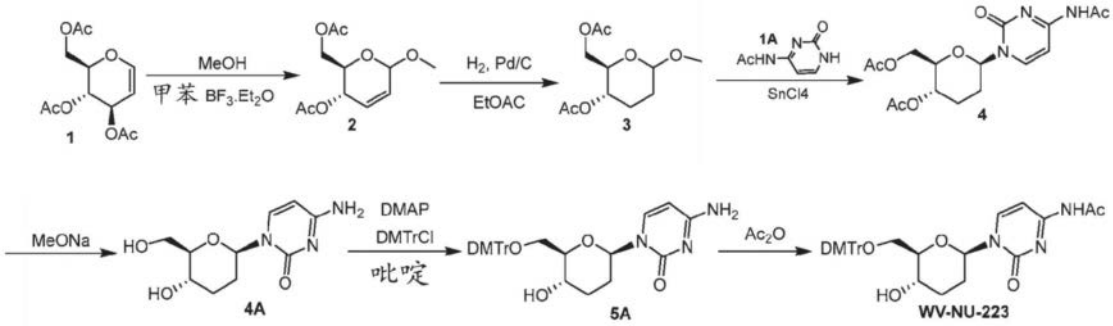
[1319] 向干燥的9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-氧代-N,N-二苯基-嘌呤-1-甲酰胺(10.0g,13.34mmol)在THF(75mL)中的溶液中添加三乙胺(4.65mL,33.34mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,32.01mL,24.01mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3.5h。TLC和LCMS显示反应完成。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(9.91g,71.9%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.07(s,1H),7.92-7.87(m,2H),7.79(s,1H),7.57(t,J＝7.5Hz,1H),7.47(t,J＝7.8Hz,2H),7.46-7.34(m,6H),7.34-7.26(m,5H),7.25-7.04(m,8H),6.83-6.77(m,4H),6.25(t,J＝7.3Hz,1H),5.06(s,1H),4.98-4.83(m,1H),4.17-4.05(m,1H),3.777(s,3H),3.776(s,3H),3.65(dq,J＝10.0,5.9Hz,1H),3.55-3.45(m,1H),3.48(dd,J＝14.6,7.0Hz,1H),3.37(dd,J＝14.6,5.3Hz,1H),3.33-3.22(m,2H),3.14-3.09(m,1H),2.71-2.59(m,1H),2.51(s,1H),1.93-1.88(m,1H),1.83-1.75(m,1H),1.70-1.62(m,1H),1.17-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ152.46(主要),152.33(次要);主要:次要＝56:44;MS(ESI),1033.48[M+H]$^{+}$。

[1320] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-(萘-2-基)脲的合成



[1321] 向干燥的1-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]-3-(2-萘基)脲(3.0g,4.06mmol)在THF(22.5mL)中的溶液中添加三乙胺(1.41mL,10.15mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,9.75mL,7.31mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在乙腈中的0%-100%EtOAc(EtOAc含有2.5%TEA,乙腈含有1.0%TEA)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(2.17g,52.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ11.97(s,1H),10.46(s,1H),9.69(s,1H),8.24-8.11(m,2H),8.04-7.96(m,1H),7.96-7.89(m,2H),7.85(d,J=7.9Hz,1H),7.74-7.67(m,1H),7.61-7.57(m,1H),7.51(t,J=7.8Hz,3H),7.46-7.40(m,3H),7.39-7.34(m,1H),7.31(dt,J=8.9,2.2Hz,4H),7.24-7.18(m,2H),7.14(t,J=7.2Hz,1H),6.79-6.70(m,4H),6.34(t,J=6.8Hz,1H),5.20-5.07(m,2H),4.07(q,J=4.8Hz,1H),3.78-3.64(m,7H),3.49(dt,J=14.9,7.5Hz,2H),3.45-3.38(m,2H),3.35(q,J=7.0Hz,1H),3.28(dd,J=10.2,5.5Hz,1H),3.06(qd,J=10.0,3.9Hz,1H),2.32(dq,J=13.0,7.7,6.4Hz,1H),1.89(tq,J=10.6,4.5,3.3Hz,1H),1.84-1.74(m,1H),1.73-1.65(m,1H),1.19-1.10(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.69(主要),145.64(次要);主要:次要=83:17;MS(ES1),1020.11[M-H]$^{-}$。

[1322] N-(1-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羟基四氢-2H-吡喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺(WV-NU-223)的合成



[1323] 步骤1.在0℃下将三氟化硼乙醚(22.16g,156.11mmol)添加到化合物1(50g,183.65mmol)在MeOH(12.95g,404.04mmol,16.35mL,2.2当量)和甲苯(600mL)中的溶液中。将混合物在20℃下搅拌6.5h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将溶液冷却至0℃,并用Et_3N(20.45mL)淬灭,在0℃下维持10min后,将Na_2CO_3(19.45g)添加至溶液中。将滤液浓缩以给出残余物,将残余物通过硅胶柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1,含有1.0vol%Et_3N)纯化。获得呈无色油状物的化合物2(44g,98.09%产率)。^{1}H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=5.73-5.87(m,2H),5.25(dd,J=9.7,1.5Hz,1H),4.86(s,1H),4.13-4.25(m,2H),3.93-4.03(m,1H),3.39(s,3H),2.04(s,3H),2.02ppm(s,4H)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)Rf=0.23。

[1324] 步骤2.向化合物2(44g,180.15mmol)在EtOAc(400mL)中的溶液中添加Pd/C(0.07mg,180.15mmol,10%纯度)。将混合物在H_2(15Psi)气氛下在25℃搅拌18h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。通过硅藻土垫过滤去除不溶物质。将垫子用EtOAc(100mL)洗涤。浓缩滤液。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/

乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈无色油状物的化合物3(43g,96.93％产率)。^{1}H NMR(氨仿-d,400MHz):δ＝4.67-4.80(m,2H),4.22-4.31(m,1H),4.11(dd,J＝11.9,2.3Hz,1H),3.90(ddd,J＝10.0,5.3,2.3Hz,1H),3.37(s,3H),2.09(s,3H),2.04-2.06(m,3H),1.81-2.02ppm(m,4H)。TLC:(石油醚:乙酸乙酯＝5:1)Rf＝0.30。

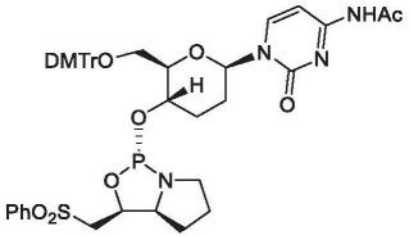
[1325] 步骤3.向化合物1A(37.44g,244.46mmol)在MeCN(500mL)中的溶液中添加BSA(71.04g,349.23mmol,86.32mL)和化合物3(43g,174.61mmol)和$SnCl_4$(68.24g,261.92mmol,30.60mL)。将混合物在45℃下搅拌2h。TLC指示化合物1A被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(200mL)和EtOAc(500mL)之间分配。分离有机相,用盐水(30mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的化合物4(34g,粗品)。

[1326] 步骤4.向化合物4(24g,65.33mmol)在MeOH(5mL)中的溶液中添加CH_3ONa(10.59g,196.00mmol)。将混合物在15℃下搅拌12h。HPLC显示化合物4被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。将过滤液体真空浓缩。将粗产物通过反相HPLC(0.1％FA条件)纯化。获得呈白色固体的化合物4A(13g,82.48％产率)。

[1327] 步骤5.向化合物4A(13g,53.89mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中添加DMT-Cl(18.26g,53.89mmol)。将混合物在25℃下搅拌6h。LCMS显示化合物4A被完全消耗,和一个具有所期望m/z的主峰。将反应混合物在H_2O(500mL)和EtOAc(1000mL)之间分配。分离有机相,用盐水(50mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并在减压下浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇＝100/1至0/1)。获得呈白色固体的化合物5A(13g,44.38％产率)。LCMS:(M-H^+)＝542。TLC(二氯甲烷:甲醇＝10:1),Rf＝0.33。

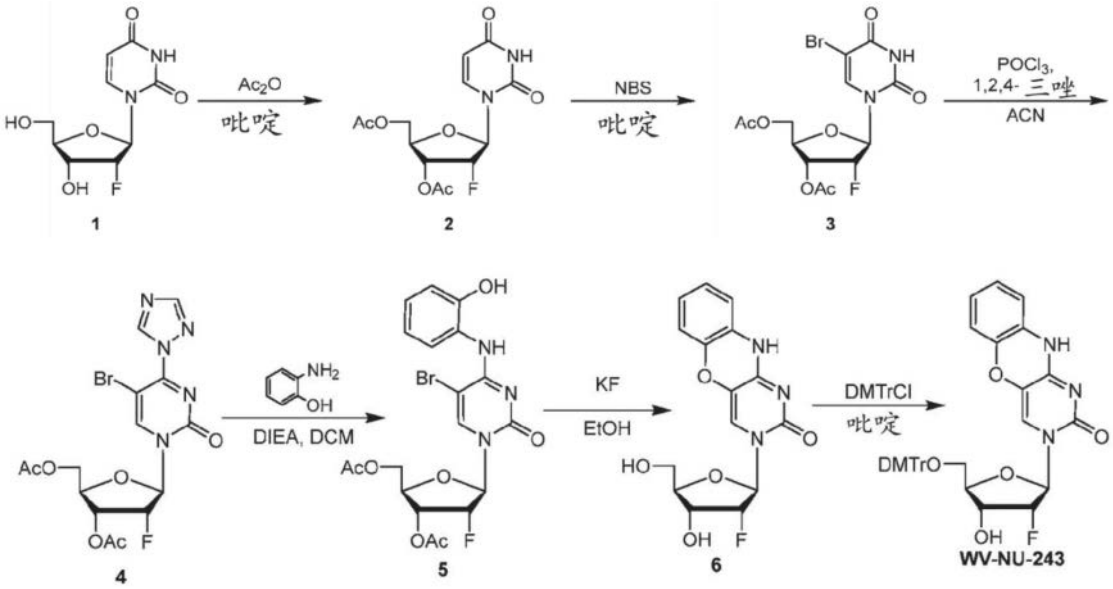
[1328] 步骤6.向化合物5A(13g,23.91mmol)在Pyr.(130mL)中的溶液中添加Ac_2O(2.44g,23.91mmol,2.24mL)。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝0:1)指示化合物5A被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将混合物真空浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物WV-NU-223(7.7g,52.78％产率,96％纯度)。^{1}H NMR(DMSO-d_6,400MHz):δ＝10.93(s,1H),8.12(d,J＝7.5Hz,1H),7.40(br d,J＝7.4Hz,2H),7.14-7.34(m,8H),6.79-6.91(m,4H),5.73(br d,J＝10.4Hz,1H),4.89(d,J＝6.1Hz,1H),3.73(s,6H),3.59-3.66(m,1H),3.26(br d,J＝9.4Hz,1H),3.15(br dd,J＝10.0,6.7Hz,1H),2.12(s,3H),1.93(br d,J＝10.2Hz,2H),1.53-1.72ppm(m,2H)。LCMS＝(M-H^+)＝585.6。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝0:1),Rf＝0.43。

[1329] N-(1-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺(CSM-019-L-PSM)的合成



[1330] 使用一般程序合成亚酰胺6。产率,74%。^{31}P NMR(243MHz,$CDCl_3$)6149.44;MS(ES)m/z针对$C_{45}H_{49}N_4O_{10}PS[M+K]^+$的计算值907.25,观察值:907.14$[M+K]^+$。

[1331] 3-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-(三氟甲基)四氢呋喃-2-基)-3H-苯并[b]嘧啶并[4,5-e][1,4]噁嗪-2(10H)-酮(WV-NU-243)的合成



[1332] 步骤1.对于两批:向化合物1(100g,406.19mmol.)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加Ac_2O(165.87g,1.62mol.)。将混合物在20℃下搅拌18h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成一个新斑点。将两批反应混合物合并并减压浓缩以去除溶剂。将残余物用石油醚(1000mL*2)洗涤。获得呈白色固体的化合物2(268g,99.89%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.47(br s,1H),7.71(d,J=8.0Hz,1H),5.93-5.82(m,1H),5.68(d,J=8.0Hz,1H),5.62-5.44(m,1H),5.26(ddd,J=5.4,7.9,17.3Hz,1H),4.39-4.31(m,1H),4.30-4.24(m,1H),4.21-4.12(m,1H),2.11(s,3H),2.04(s,3H)。TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.8。

[1333] 步骤2.对于两批:向化合物2(134g,405.73mmol)在Py(1300mL)中的溶液中添加NBS(93.88g,527.45mmol)。将混合物在20℃下搅拌18h。TLC指示化合物2被完全消耗,并且形成一个新斑点。将两批反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/1至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物3(323g,97.28%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.99(s,1H),8.20(s,1H),5.97-5.79(m,1H),5.63-5.43(m,1H),5.27(ddd,J=5.3,7.9,18.0Hz,1H),4.40-4.27(m,2H),4.25-4.17(m,1H),2.09(d,J=17.6Hz,6H)。LCMS(M-H+):411.0。TLC:石油醚:乙酸乙酯=1:2,Rf=0.8。

[1334] 步骤3.对于两批:在0℃下,向1H-1,2,4-三唑(81.02g,1.17mol.)、$POCl_3$(44.97g,293.28mmol)在ACN(1300mL)中的混合物中缓慢添加TEA(148.39g,1.47mol),30min后,添加

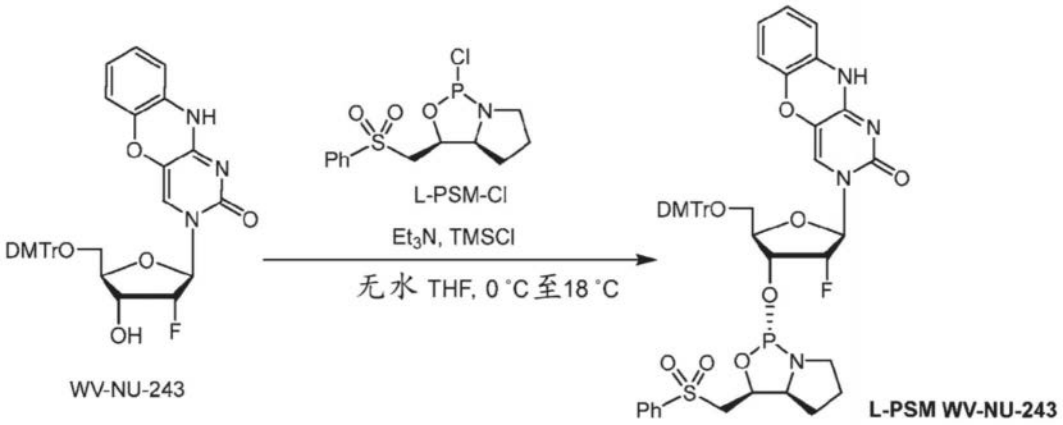
化合物3(30g,73.32mmol)在ACN(200mL)中的溶液,将混合物在15℃下搅拌1h。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。添加过量TEA(150mL)和水(50mL)并搅拌30min。蒸发溶剂得到残余物并在二氯甲烷(500mL)与碳酸氢钠溶液(200mL)之间分配。将两批的混合物合并,并用二氯甲烷(500mL*3)萃取水层,并将合并的有机层用盐水(500mL)洗涤,经硫酸钠干燥。蒸发溶剂,得到浅黄色固体,将其在高真空下干燥。获得呈黄色固体的化合物4(60g,粗品)。TLC:石油醚:乙酸乙酯=1:2,Rf=0.4。

[1335] 步骤4.对于两批:向化合物4(60g,130.37mmol.)在DCM(1200mL)中的溶液中添加D1EA(42.12g,325.94mmol)和2-氨基苯酚(35.57g,325.94mm01.)。将混合物在20℃下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望质量。通过添加5%柠檬酸(500ml)和H2O(500mL)淬灭反应混合物,然后合并两批混合物并用二氯甲烷(1000ml*2)萃取,合并的有机层经硫酸钠干燥并蒸发至给出粗品。将粗品用乙酸乙酯(1000mL*3)洗涤。获得呈棕色固体的化合物5(43g,65.93%产率)。LCMS(M-H+):499.2。

[1336] 步骤5.向化合物5(30g,59.97mmol)在EtOH(1.5L)中的溶液中添加KF(69.68g,1.20mol)。将混合物在95℃下搅拌12h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物冷却至15℃,然后过滤并减压浓缩得到残余物。获得呈棕色固体的化合物6(20g,粗品)。LCMS(M-H+):336.0。

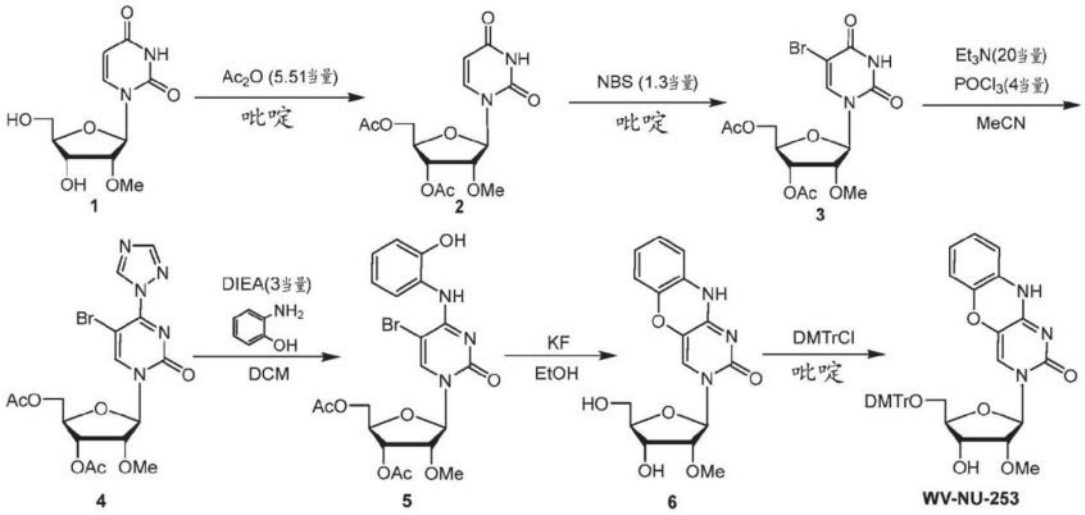
[1337] 步骤6.向化合物6(20g,59.65mmol)在Py(1000mL)中的溶液中添加DMTCl(22.23g,65.62mmol)。将混合物在80℃下搅拌10h。LCMS显示检测到所期望质量。通过在15℃下添加甲醇(50mL)淬灭反应混合物,然后减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,然后乙酸乙酯:甲醇=1/0至0/1)。然后将粗产物通过以下纯化:制备型HPLC(柱:Agela DuraShell C18250*70mm*10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:42%-72%,18min)。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-243(3.68g,67%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.77-9.94(m,1H),7.86-7.58(m,1H),7.34-7.25(m,2H),7.24-7.16(m,1H),7.11(br d,J=7.6Hz,2H),7.01(d,J=8.8Hz,4H),6.86(d,J=8.9Hz,4H),6.73(d,J=8.6Hz,1H),6.68(s,1H),6.56(dd,J=2.1,8.6Hz,1H),5.86(dd,J=1.2,17.1Hz,1H),5.58(br d,J=6.3Hz,1H),5.33(br t,J=4.4Hz,1H),5.04-4.78(m,1H),4.24-4.09(m,1H),3.88(br d,J=7.6Hz,1H),3.78(br s,1H),3.73(s,6H),3.66-3.57(m,1H)。LCMS(M-H+):636.2,纯度:100%。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,Rf=0.3)。

[1338] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-3H-苯并[b]嘧啶并[4,5-e][1,4]噁嗪-2(10H)-酮(L-PSM-WV-NU-243亚酰胺)的合成



[1339] 将250mL大小的三颈烧瓶中的核苷WV-NU-243(1.72g,2.70mmol,1.0当量)与无水甲苯(30mL)共沸,并在高真空下干燥48h。在氩气下向烧瓶中添加无水THF(10mL),并将溶液冷却至-10℃。向反应混合物中添加三乙胺(4.0当量),然后经10min添加TMSCl(1.0当量)、然后L-PSM-Cl(0.8M)溶液(2.0当量)。将反应混合物升温至室温并通过HPLC监测反应进程。起始材料消失后,通过添加水淬灭反应并通过添加分子筛干燥。将反应混合物通过烧结玻璃管过滤。用无水THF(25mL)洗涤反应烧瓶和沉淀物。收集获得的滤液,减压去除溶剂。将残余物通过柱色谱法(SiO2,在已烷中的40%-100%乙酸乙酯)纯化以给出呈淡黄色固体的L-PSM-WV-NU-243亚酰胺(2.1g,84%产率)。LCMS:$C_{45}H_{46}N_5O_9PS$(M-H^+):919.27。^{1}H NMR(600MHz,$CDCl_3$)δ10.95(s,1H),7.90-7.84(m,2H),7.63(t,J=6.6Hz,1H),7.61-7.57(m,1H),7.52(s,1H),7.49(t,J=7.9Hz,2H),7.47-7.42(m,2H),7.38-7.32(m,4H),7.29(t,J=7.7Hz,2H),7.22-7.16(m,1H),6.88-6.78(m,5H),6.74(td,J=7.8,1.7Hz,1H),6.28(dt,J=8.1,1.4Hz,1H),6.00(d,J=16.0Hz,1H),5.10(d,J=4.1Hz,2H),5.00(dt,J=12.3,5.4Hz,2H),4.80-4.65(m,1H),4.14(d,J=8.1Hz,1H),3.70(d,J=11.8Hz,8H),3.56-3.40(m,4H),3.36(dd,J=14.6,5.9Hz,1H),3.14(qd,J=10.0,4.1Hz,1H),1.85(dtt,J=11.8,7.7,3.3Hz,1H),1.76(dt,J=12.0,8.5Hz,1H),1.66(dtd,J=12.3,6.0,2.8Hz,1H),1.16-1.04(m,1H)。^{31}P NMR(243MHz,$CDCl_3$)δ=155.40。^{19}F NMR(565MHz,$CDCl_3$)δ=200.12。^{13}C NMR(151MHz,$CDCl_3$)δ171.81,159.27,159.24,156.20,154.29,144.82,142.89,139.74,136.27,135.97,134.71,130.89,130.71,129.99,128.92,128.90,128.82,128.67,127.66,126.66,124.90,124.59,121.99,118.74,115.89,113.95,113.93,94.24,92.97,89.32,89.10,87.60,81.76,81.74,75.38,75.32,69.43,69.36,69.33,69.26,66.78,66.75,61.06,60.92,58.77,58.74,55.84,55.82,47.18,46.95,28.03,26.69,26.67,21.72,14.87。

[1340] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)-3H-苯并[b]嘧啶并[4,5-e][1,4]噁嗪-2(10H)-酮(WV-NU-253)的合成



[1341] 步骤1.向化合物1(90g,348.53mmol)在吡啶(720mL)中的溶液中添加Ac_2O(196.20g,1.92mol)并将反应混合物在25℃下搅拌18h。LCMS显示检测到产物。将残余物溶于二氯甲烷(1000ml),并且用饱和碳酸氢钠溶液(4＊1000ml)洗涤。将水层用二氯甲烷(2＊750ml)萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥并蒸发。无需任何进一步纯化即可用于下一步骤。获得呈黄色油状物的化合物2(100g,83.82%产率)。

^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.60-11.33(m,1H),8.71-8.49(m,1H),7.82-7.74(m,1H),7.70(d,J＝8.1Hz,1H),7.42-7.35(m,1H),5.83(d,J＝5.7Hz,1H),5.74(d,J＝8.1Hz,1H),5.20(br s,1H),4.27-4.18(m,4H),3.29(s,3H),2.10(s,3H),2.07(s,3H)。LCMS(M+H+):341.2。

[1342] 步骤2.向化合物2(100g,292.14mmol)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加NBS(67.59g,379.78mmol)。将反应混合物在25℃下搅拌18h。LCMS显示检测到产物。将该反应混合物用二氯甲烷(1000ml)进行稀释,并且用饱和碳酸氢钠溶液(3x800ml)进行洗涤。将水层用二氯甲烷(2x500ml)萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥并蒸发。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝10/1至0/1)纯化。获得呈棕色固体的化合物3(117g,95.08%产率)。1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.97(s,1H),8.13(s,1H),5.80(d,J＝4.8Hz,1H),5.19(t,J＝5.2Hz,1H),4.31-4.19(m,4H),3.33-3.31(m,3H),2.10(d,J＝2.6Hz,6H)。LCMS($M+H^+$):444.3。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝0:1),Rf＝0.37。

[1343] 步骤3.在0℃(冰浴)下,向1H-1,2,4-三唑(91.83g,1.33mol)和$POCl_3$(50.96g,332.39mmol,30.89mL)在ACN(1000mL)中的悬浮液中缓慢添加Et_3N(168.17g,1.66mol,231.32mL)。搅拌20min之后,将化合物3(35g,83.10mmol)在ACN(500mL)中的溶液添加到反应烧瓶中。去除冰浴并将混合物在25℃下搅拌3h。TLC显示检测到产物。添加过量三乙胺(700mL)和水(300mL)并搅拌30min。蒸发溶剂得到残余物并在二氯甲烷(500＊3mL)与碳酸氢钠溶液(200mL)之间分配。将水层用二氯甲烷萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥。蒸发溶剂,得到浅黄色固体,将其在高真空下干燥。将混合物不经进一步纯化而用于下一步骤。获得呈黄色油状物的化合物4(39g,粗品)。TLC(石油醚:乙酸乙酯＝1:2),Rf＝0.36。

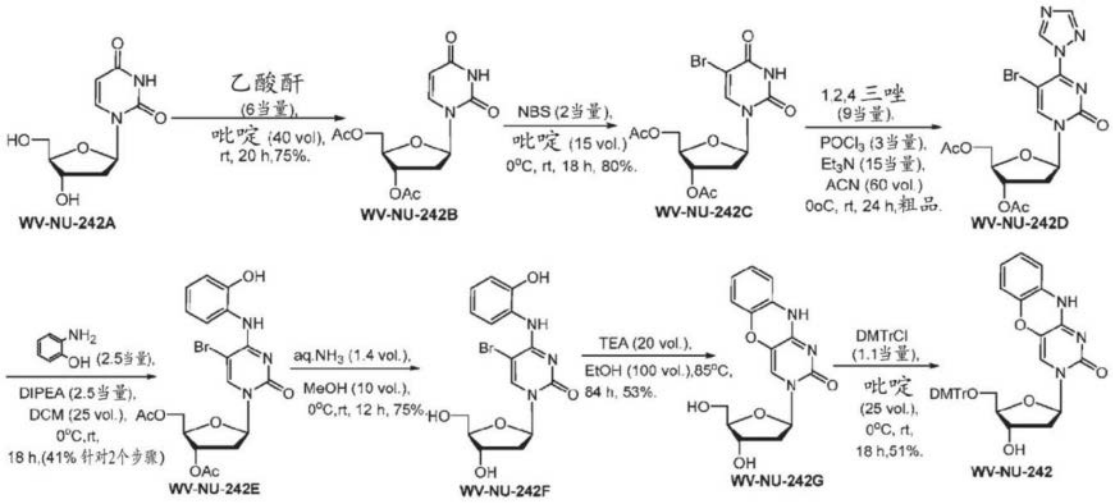
[1344] 步骤4.向化合物4(39g,82.58mmol)在DCM(500mL)中的溶液中添加2-氨基苯酚(27.04g,247.75mmol)和DIEA(32.02g,247.75mmol,43.15mL)。将反应混合物在25℃下搅拌2h。TLC显示检测到产物。通过添加5%柠檬酸(200ml)淬灭反应混合物。将水层用二氯甲烷

(200ml)萃取并将合并的有机层经硫酸钠干燥并蒸发以给出泡沫状产物。在25℃下,将粗产物用(石油醚:乙酸乙酯=1:1)(500ml)研磨12h。获得呈棕色固体的化合物5(20g,粗品)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:2),Rf=0.57。

[1345] 步骤5.向化合物5(30g,58.56mmol)、KF(34.02g,585.59mmol)在EtOH(1500mL)中的溶液中,并将混合物在90℃下搅拌72h。LCMS显示化合物5被消耗,并且发现了所期望的质量。将混合物浓缩以得到粗品并将混合物用DCM:MeOH=10:1(2000mL)洗涤,过滤并将过滤物浓缩以得到呈黄色油状物的化合物6(20g,98.33%产率)。LCMS:(M+H+):348.1。

[1346] 步骤6.向化合物6(20g,57.58mmol)在吡啶(2000mL)中的溶液中添加DMTCl(25.36g,74.86mmol)并将混合物在15℃下搅拌12h。LCMS显示化合物6被消耗,并且获得了所期望的质量。浓缩混合物以得到粗品。将残余物通过MPLC(DCM:MeOH=20:1、10:1)纯化。在15℃下,将粗产物用DCM(10mL):MTBE(10mL)研磨,添加到搅拌的石油醚(10mL)中,持续5min。过滤并将滤饼干燥以得到呈黄色固体的WV-NU-253(10.7g,26.94%产率)。^{1}HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=10.01(brs,1H),7.52(s,1H),7.41(d,J=7.5Hz,2H),7.35-7.28(m,5H),7.24(t,J=7.6Hz,2H),7.17-7.12(m,1H),6.82-6.70(m,6H),6.29(dd,J=1.3,7.8Hz,1H),5.88(s,1H),4.44-4.37(m,1H),3.94(brd,J=8.0Hz,1H),3.81(d,J=5.1Hz,1H),3.71-3.62(m,9H),3.51-3.39(m,2H),2.55(br d,J=9.3Hz,1H)。LCMS:(M-H+):648.3,LCMS纯度:94.193%。TLC:DCM:MeOH=10:1,Rf=0.38。

[1347] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-苯并[b]嘧啶并[4,5-e][1,4]噁嗪-2(10H)-酮(WV-NU-242)的合成



[1348] 步骤1.在0℃下,经30min时间段,向(WV-NU-242A)(50g,0.219mol)在干燥的吡啶(750mL,15vol.)中的搅拌溶液中滴加乙酸酐(124.3mL,1.315mol.)。然后将反应在rt下进一步搅拌18h。通过TLC监测反应进程。将反应混合物在真空下浓缩以得到粗物质。将物质与甲苯(2x100mL)共蒸馏,并在真空下干燥,得到灰白色固体(51g)。TLC流动相详情:在DCM中的7%MeOH。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6):δin ppm=10.39(s,1H),7.66(d,1H,J1=8.3Hz),7.20(m,1H),6.15(dd,1H,J1=8.3Hz,,J2=6.2Hz),5.70(d,1H,J1=8.3Hz)5.18(m,1H),)5.18(m,1H)),4.22(m,2H))4.17(m,1H))2.47(m,1H),2.31(m,2H)2.06(m,6H,J1=6.9Hz)MS:m/z针对$C_{13}H_{16}N_2O_7$的计算值312.3;发现值$[M+H^+]^+$,313.14。

[1349] 步骤2.在0℃下,经30min时间段,向(WV-NU-242B)(40g,0.128mol)在干燥的吡啶

(600mL,15vol.)中的搅拌溶液中分批添加新鲜结晶的NBS(41.07g,0.2305mol.)。将以上反应在rt下搅拌18h。通过TLC监测反应进程。随后真空浓缩反应。将粗品溶于DCM(600mL),用饱和$NaHCO_3$(2x100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥并真空浓缩以得到胶状物质。将粗品通过硅胶柱色谱法(230-400目)(在30%EtOAc/己烷中洗脱)纯化以得到灰白色固体(WV-NU-243C)(38g,76%)。TLC流动相详情:在己烷中的60%EtOAc。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δin ppm=11.09(s,1H),8.06(s,1H),6.12(dd,1H,J1=87.9Hz,,J2=6.3Hz),5.18(m,1H),4.26(d,2H,J1=4.7Hz)4.19(m,1H),)2.57(s,1H)),2.53(d,1H,J1=7.6Hz))2.31(ddd,1H))2.08(s,3H),2.06(s,3H),MS:m/z针对$C_{13}H_{15}BrN_2O_7$的计算值391.2;发现值$[M+2]^+$,393。

[1350] 步骤3.在0℃下,向1,2,4-三唑(63.52g,0.92mol)在干燥的乙腈(1.7升,50vol.)中的搅拌溶液中添加$POCl_3$(28.63mL,0.3063mol),随后经40min时间段滴加三甲胺(209mL,1.534mol)。然后将混合物在0℃至10℃下搅拌2h。在0℃下,经1h时间段,向该混合物中滴加(WV-NU-242C)(40g,0.1023mol)在干燥的乙腈(300mL)中的溶液。然后使混合物升温至rt并搅拌24h。通过TLC监测反应进程。真空浓缩反应混合物。将粗品溶解在DCM(1升),用饱和$NaHCO_3$(200mLx2)洗涤,经Na_2SO_4干燥并真空浓缩,以得到微黄色固体(WV-NU-242D)(40g),TLC流动相详情:在己烷中的60%EtOAc。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6):δin ppm=9.28(s,1H),8.66(s,1H),8.41(s,1H),6.11(t,1H,1H,J1=6.5),5.24(m,1H),4.4(m,1H),4.33(ddd,2H,J1=21.0J2=12.1J3=4.3),2.59(m,2H,),2.09(d,6H,J1=4.8),MS:m/z针对$C_{15}H_{16}BrN_2O_6$的计算值442.2;发现值444.08。$[M+2]^+$。

[1351] 步骤4.在0℃下,经20min时间段,向(WV-NU-242D)(40g,0.0907mol)在干燥的乙腈(800mL,20vol.)中的搅拌溶液中滴加2-氨基苯酚(24.71g,0.2267mol.)、DBU(33.79ml,0.2267mol)。将以上反应在rt下搅拌18h。通过TLC监测反应进程。将反应物真空浓缩以得到粗化合物。将粗品通过硅胶柱色谱法(230-400目)(在50%EtOAc/己烷中洗脱)纯化以得到微红色固体(WV-NU-243C)(20g,41%针对2个步骤)。TLC流动相详情:在己烷中的70%EtOAc。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δin ppm=10.23(s,1H),8.41(s,1H),8.12(dd,1H,J1=8.2Hz,,J2=1.5Hz),8.10(s,1H),7.02(m,1H),6.93(dd,1H,J1=8.8Hz,,J2=1.3Hz),6.85(m,1H),6.15(m,1H),5.19(dd,1H,J1=6.1Hz,J2=2.8Hz)4.26(m,3H),)2.38(s,2H)),2.08(d,1H,J1=7.7Hz),MS:m/z针对$C_{19}H_{20}BrN_3O_7$的计算值482.3;发现值484.05$[M+2]^+$。

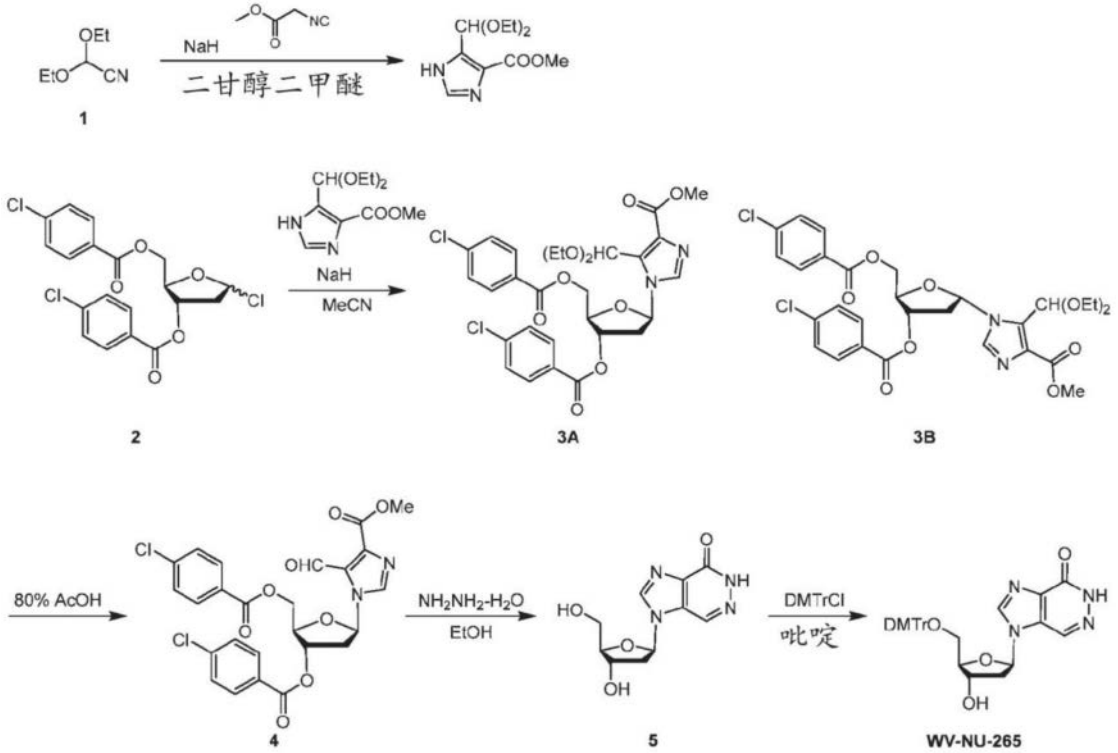
[1352] 步骤5.在0℃下,经10min时间段,向(WV-NU-242E)(20g,0.04149mol)在甲醇(200mL,10vol.)中的搅拌溶液中添加25%氨水溶液(28mL,1.4vol)。将以上反应在rt下搅拌12h。通过TLC监测反应进程。然后真空浓缩反应混合物;与甲苯(2x100ml)共蒸馏,并干燥以获得粗品胶状物质。将粗物质通过硅胶柱色谱法(230-400目)(在5%MeOH/DCM中洗脱)纯化以得到微黄色固体(WV-NU-243F)(12g,75%)。TLC流动相详情:在DCM中的10%MeOH。^{1}H NMR(500MHz,DMSO-d_6):δin ppm=10.25(s,1H),8.46(s,1H),8.32(s,1H),8.18(dd,1H,J1=7.6Hz,,J2=1.4Hz),7.01(td,1H,J1=7.2Hz,,J2=1.6Hz),6.93(dd,1H,,J1=8.3Hz,,J2=1.4Hz),6.85(m,1H),6.11(t,1H,J1=6.2Hz,),5.25(d,1H,J1=4.1Hz),5.19(t,1H,J1=4.8Hz),4.24(m,1H,)3.82(q,1H,,J1=3.2Hz),)3.63(dd,2H,J1=39.2Hz,J2=7.7Hz,J3=3.9Hz,)),2.21(qd,1H,J1=6.5Hz,J2=4.3Hz),),2.08(m,1H,)MS:m/z针对$C_{15}H_{16}BrN_3O_5$的计算值398.3;发现值400.05$[M+2]^+$。

[1353] 步骤6.在rt下,经10min时间段,向(WV-NU-242F)(7g,0.01799mol)在无水乙醇

(350mL,50vol.)中的搅拌溶液中滴加三乙胺(140mL,20vol)。将以上反应在85℃下搅拌80h。通过TLC监测反应进程。然后将反应物真空浓缩以得到粗品,将粗品通过硅胶柱色谱法(230-400目)(在7%MeOH/DCM中洗脱)纯化以得到微黄色固体(WV-NU-243G)(3g,52%)。TLC流动相详情:在DCM中的10%MeOH。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δin ppm=7.67(s,1H),6.94(m,2H),6.81(m,2H),6.12(t,1H,J1=6.7Hz,),4.22(m,1H),3.80(m,1H,),3.60(m,2H),3.09(m,2H,),2.04(m,2H,),1.17(t,3H,J1=7.3Hz)MS:m/z针对$C_{15}H_{15}N_3O_5$的计算值317.3;发现值316.16[M-1]$^+$。

[1354] 步骤7.在0℃下,经30min时间段,向(WV-NU-242G)(3g,0.0094mol)在干燥的吡啶(75mL,25vol.)中的搅拌溶液中分批添加DMTCl(3.51g,0.0104mol)。将以上反应搅拌18h。通过TLC监测反应进程。然后将反应物在真空下浓缩以得到粗物质。将粗品溶于DCM(100mL),用饱和$NaHCO_3$(50mLx2)洗涤,经Na_2SO_4干燥并真空浓缩以得到黄色固体。将粗品通过硅胶柱色谱法(230-400目)(在3%EtOH/DCM中洗脱)纯化以得到微黄色固体(WV-NU-243)(3g,51%)。TLC流动相详情:在DCM中的7%EtOH。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6):δin ppm=7.41(m,2H),7.31(m,7H),7.22(t,1H,J1=6.7Hz),6.85(m,8H),6.11(t,1H,J1=6.5Hz),5.27(s,1H,),4.28(dd,1H,J1=8.9HzJ2=5.0Hz),3.89(m,1H,),3.72(m,7H,),3.26(q,1H,J1=5.2Hz),3.11(dd,1H,J1=10.4Hz,J2=2.7Hz),2.162(t,1H,J1=6.0Hz)MS:m/z针对$C_{36}H_{33}N_3O_7$的计算值619.7;发现值618.30[M-1]$^+$。

[1355] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮(WV-NU-265)的合成



[1356] 步骤1.在0℃下,向NaH(11.15g,278.73mmol,60%纯度)在二甘醇二甲醚(300mL)中的溶液中滴加在二甘醇二甲醚(50mL)中的3-氧代戊腈(15.04g,154.85mmol)和2,2-二乙氧基乙腈(20g,154.85mmol),持续约0.5h。在添加之后,将所得混合物在80℃下搅拌1h。TLC指示2,2-二乙氧基乙腈被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应

混合物在DCM(1000mL)与H_2O(500mL)之间分配。分离有机相,用盐水(300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。在15℃下,将粗产物用石油醚:乙酸乙酯=10:1研磨30min。获得呈黄色固体的5-(二乙氧基甲基)-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(22g,62.25%产率)。

[1357] 步骤2.在0℃下,向5-(二乙氧基甲基)-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(20g,87.63mmol)在MeCN(500mL)中的溶液中滴加NaH(4.21g,105.15mmol,60%纯度)。在添加之后,将混合物在此温度下搅拌0.5h,并且然后在15℃下滴加4-氯苯甲酸(2R,3S)-5-氯-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(37.65g,87.63mmol)。将所得的混合物在60℃下搅拌2h。TLC指示4-氯苯甲酸(2R,3S)-5-氯-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物减压浓缩以去除MeCN。通过在15℃下添加H_2O(500mL)淬灭反应混合物,并用EtOAc(1500mL)萃取,将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈白色固体的1-((2R,4S,5R)-4-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-5-(二乙氧基甲基)-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(20g,36.73%产率)。

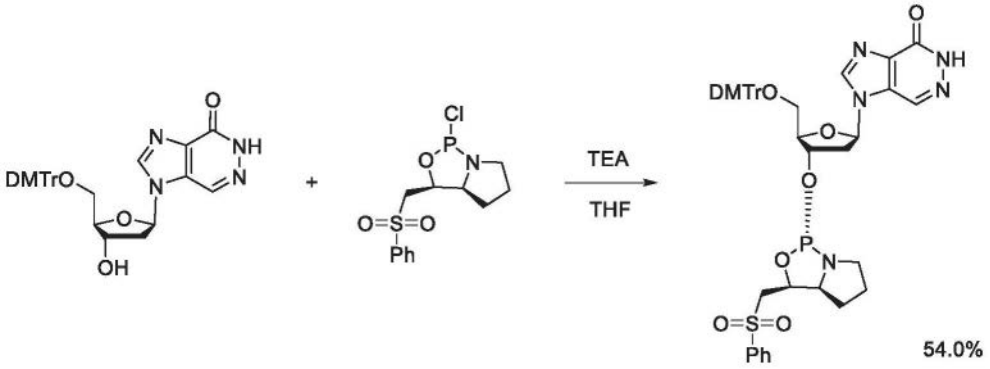
[1358] 步骤3.向1-((2R,4S,5R)-4-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-5-(二乙氧基甲基)-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(17g,27.35mmol)在AcOH(30mL)/H2O(120mL)中的溶液中。将混合物在15℃下搅拌14h。根据TLC,反应是干净的。通过过滤分离所得固体,洗涤并真空干燥,以给出残余物。残余物无需进一步纯化。获得呈白色固体的1-((2R,4S,5R)-4-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-5-甲酰基-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(14.97g,100.00%产率)。^{1}H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=10.29(s,1H),8.35-8.45(m,1H),8.03(d,J=8.5Hz,2H),7.89(d,J=8.5Hz,2H),7.65(d,J=8.6Hz,2H),7.57(d,J=8.6Hz,2H),6.70(t,J=6.5Hz,1H),5.60-5.68(m,1H),4.59-4.77(m,3H),3.84-3.93(m,3H),2.89(ddd,J=14.5,6.1,2.9Hz,1H),2.72ppm(dt,J=14.4,7.0Hz,1H)。

[1359] 步骤4.向1-((2R,4S,5R)-4-((4-氯苯甲酰基)氧基)-5-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-5-甲酰基-1H-咪唑-4-甲酸甲酯(13g,23.75mmol)在EtOH(300mL)中的溶液中添加$NH_2NH_2.H_2O$(6.99g,118.76mmol,85%纯度)。将混合物在80℃下搅拌72h。根据TLC,反应是干净的。过滤所得固体,用乙醇洗涤并在高真空下干燥,以给出灰白色固体状残余物。残余物无需进一步纯化。获得呈白色固体的1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮(3.5g,58.42%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d6,400MHz):δ=12.73(brs,1H),8.50-8.71(m,2H),6.38(brt,J=6.2Hz,1H),5.38(br d,J=3.3Hz,1H),5.05(brs,1H),4.32-4.46(m,1H),3.91(brs,1H),3.58(brd,J=4.0Hz,2H),2.37ppm(brd,J=12.8Hz,1H)。

[1360] 步骤5.向1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮(4.5g,17.84mmol,1当量)在PY(100mL)中的溶液中添加DMTrCl(6.65g,19.63mmol)和DMAP(1.09g,8.92mmol)。将混合物在15℃下搅拌2h。将反应混合物在H_2O(300mL)与EtOAc(1000mL)之间分配。分离有机相,用盐水(300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=100/1至0/1)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-265(6.5g,65.69%产率)。^{1}HNMR(DMSO-d_6,

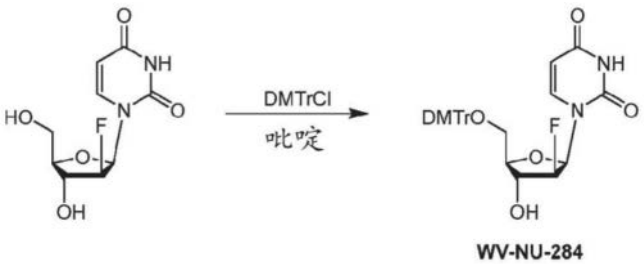
400MHz):δ=12.77(s,1H),8.53(s,1H),8.50(s,1H),7.11-7.28(m,9H),6.79(dd,J=8.9,6.4Hz,4H),6.42(t,J=6.0Hz,1H),5.46(d,J=4.8Hz,1H),4.41(quin,J=5.3Hz,1H),3.98-4.06(m,1H),3.72-3.83(m,3H),3.35(s,2H),3.06-3.15(m,2H),2.67-2.81(m,1H),2.42-2.49ppm(m,1H);LCMS(M-H+)=553,LCMS纯度:96.1%。

[1361] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-1,5-二氢-4H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-4-酮的合成



[1362] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6H-咪唑并[4,5-d]哒嗪-7-酮(3.00g,5.41mmol)在THF(45mL)中的浆液中添加三乙胺(1.66mL,11.9mmol)。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.62mL,8.66mmol)。将所得浆液在rt下搅拌6h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(49μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(649mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-40%ACN作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.45g,54.0%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ10.56(s,1H),8.33(s,1H),8.03(s,1H),7.92-7.87(m,2H),7.62-7.57(m,1H),7.51-7.46(m,2H),7.35-7.31(m,2H),7.28-7.22(m,6H),7.22-7.19(m,1H),6.84-6.77(m,4H),6.22(dd,J=8.2,5.6Hz,1H),5.10(dt,J=7.2,5.4Hz,1H),4.91-4.86(m,1H),4.24(td,J=3.7,2.0Hz,1H),3.775(s,3H),3.772(s,3H),3.67(ddt,J=10.0,7.0,5.6Hz,1H),3.58-3.50(m,1H),3.52-3.47(m,1H),3.39(dd,J=14.5,5.1Hz,1H),3.35(dd,J=10.6,3.7Hz,1H),3.31(dd,J=10.6,3.8Hz,1H),3.19(tdd,J=10.4,8.8,4.0Hz,1H),2.70-2.60(m,2H),1.93(dddt,J=14.9,10.8,7.9,5.2Hz,1H),1.87-1.77(m,1H),1.66(tdd,J=9.0,7.7,6.6,3.9Hz,1H),1.13(dtd,J=11.6,10.3,8.5Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ154.40;MS(ESI),876.05$[M+K]^+$。

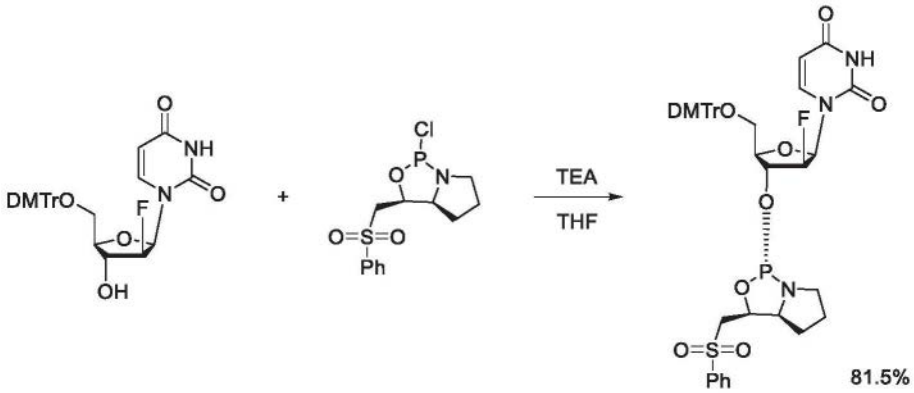
[1363] 1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-284)的合成



WV-NU-284

[1364] 向1-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(15g,60.93mmol)在吡啶(350mL)中的溶液中添加DMTCl(22.71g,67.02mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物用H_2O(300mL)稀释并用乙酸乙酯(100mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的化合物WV-NU-284(29.5g,88.26%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.51(s,1H),7.52(dd,J=1.1,8.2Hz,1H),7.43-7.38(m,2H),7.36-7.20(m,7H),6.91(d,J=8.9Hz,4H),6.17(dd,J=4.3,15.6Hz,1H),6.00(brd,J=4.9Hz,1H),5.49(d,J=8.1Hz,1H),5.18-4.95(m,1H),4.33-4.20(m,1H),4.01-3.95(m,1H),3.74(s,6H),3.28(brd,J=4.4Hz,2H);LCMS(M-H+):547.3,LCMS纯度:97.8%;TLC(乙酸乙酯:石油醚=2:1),Rf=0.4。

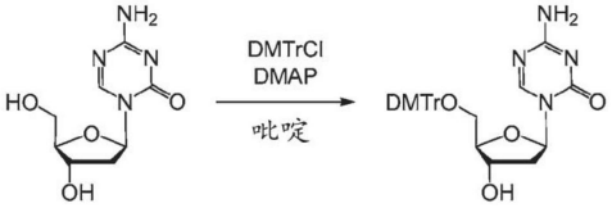
[1365] 1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1366] 向干燥的1-[(2R,3R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-氟-4-羟基-四氢呋喃-2-基]嘧啶-2,4-二酮(15.0g,27.3mmol)在THF(90mL)中的溶液中添加三乙胺(8.38mL,60.2mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,48.6mL,43.8mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌2h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(246μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(3.28g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(18.5g,81.5%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.70(s,1H),7.92-7.86(m,2H),7.64-7.60(m,1H),7.55(dd,J=8.2,1.9Hz,1H),7.53-7.49(m,2H),7.45-7.40(m,2H),7.36-7.26(m,6H),7.25-7.22(m,1H),6.87-6.80(m,4H),6.19(dd,J=18.7,3.6Hz,1H),5.56(d,J=8.2Hz,1H),5.03(ddd,J=51.2,3.6,1.7Hz,1H),5.00(q,J=6.4Hz,1H),4.76(dddd,J=19.4,9.2,4.2,1.8Hz,1H),3.97(q,J=4.2Hz,1H),3.79(s,6H),3.63(dq,J=9.9,5.9Hz,1H),3.52-3.40(m,3H),3.39-3.31(m,2H),3.04(tdd,J=10.4,8.9,4.1Hz,1H),1.94-1.85(m,1H),1.78(dddd,J=19.6,13.0,9.8,7.7Hz,1H),1.67(dddd,J=9.5,7.4,5.4,2.6Hz,1H),1.11(dtd,J=11.8,10.2,8.5Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.51;^{19}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-197.06;MS(ESI),830.18[M-H]$^-$。

[1367] 4-氨基-1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四

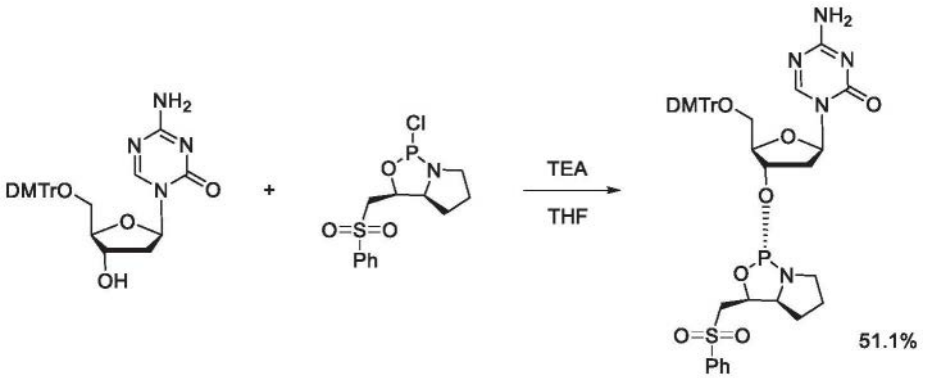
氢呋喃-2-基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮(WV-274A)的合成



WV-NU-274A

[1368] 向4-氨基-1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮(5.00g,21.91mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中添加在N_2中的DMT-Cl(7.42g,21.91mmol)和DMAP(1.34g,10.96mmol)。将混合物在20℃下搅拌2h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=10:1至0:1,至乙酸乙酯:甲醇=1:1,5%TEA)。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-274A(17g,91.40%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.31(s,1H),7.54(s,2H),7.42-7.35(m,2H),7.34-7.18(m,7H),6.88(d,J=8.6Hz,4H),6.04(t,J=6.4Hz,1H),5.29(d,J=4.6Hz,1H),4.23(quin,J=4.8Hz,1H),3.96-3.90(m,1H),3.74(s,6H),3.32(s,1H),3.26-3.13(m,2H),2.24(t,J=5.9Hz,2H);TLC:乙酸乙酯:甲醇=5:1,Rf=0.41;LCMS(M-H+):529.3,LCMS纯度:98.27%。

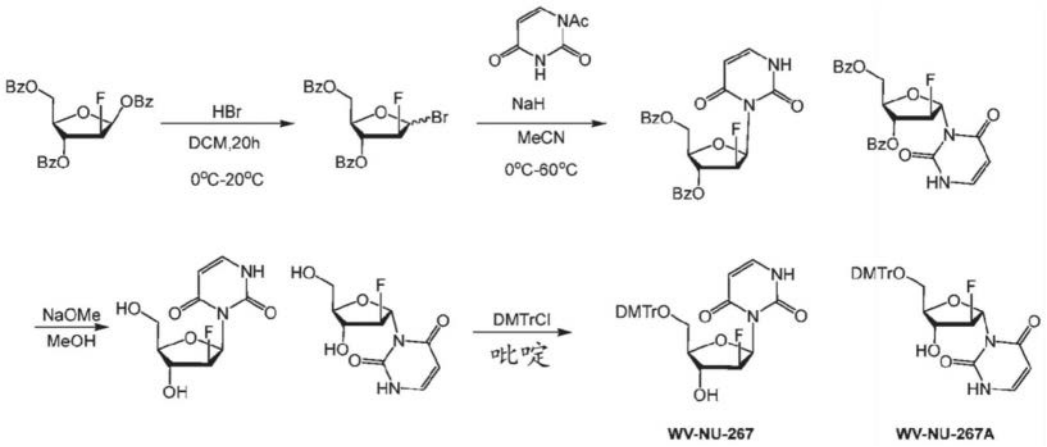
[1369] 4-氨基-1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-1,3,5-三嗪-2(1H)-酮的合成



[1370] 向干燥的4-氨基-1-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1,3,5-三嗪-2-酮(3.00g,5.65mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.97mL,14.1mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,13.6mL,10.2mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(51μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(678mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在$EtOA_c$中的0%-40%ACN(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈微黄灰白色泡沫状的标题化合物(2.35g,51.1%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.40(s,1H),7.88(dq,J=8.6,1.5Hz,2H),7.62-7.59(m,1H),7.52-7.48(m,2H),7.40-7.36(m,2H),7.32-7.25(m,6H),7.24-7.20(m,1H),6.87-6.81(m,4H),6.12(t,J=6.4Hz,1H),6.11(s,1H),5.60(s,1H),4.95(dt,J=6.9,5.6Hz,1H),4.69(ddq,J=10.1,6.9,3.5Hz,1H),3.78(s,6H),3.76-3.70(m,1H),3.61(dq,J=9.9,5.9Hz,1H),3.52-

3.43(m,2H),3.39-3.30(m,3H),3.14(tdd,J＝10.3,8.8,4.1Hz,1H),2.74(ddd,J＝14.0,6.1,3.2Hz,1H),2.28-2.22(m,1H),1.90-1.84(m,1H),1.78(ddd,J＝9.6,7.8,4.9Hz,1H),1.63(dtt,J＝9.9,5.4,2.7Hz,1H),1.10(dtd,J＝11.7,10.2,8.4Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ153.71;MS(ESI),852.45[M+K]$^{+}$。

[1371] 3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-267)和3-((2S,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-267A)的合成



[1372] 步骤1.对于两批:在0℃下,向二苯甲酸(2S,3S,4R,5R)-5-((苯甲酰基氧基)甲基)-3-氟四氢呋喃-2,4-二基酯(75g,161.49mmol)在DCM(1500mL)中的溶液中添加在N_2中的溴化氢(158.37g,645.94mmol)。将混合物在0℃-20℃下搅拌20h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成一个新斑点。将两批反应混合物倒入500mL冰水中,并且分离有机相,用水(5x200mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥并减压蒸发,然后将粗产物去除剩余的乙酸并真空干燥。获得呈黄色油状物的苯甲酸((2R,3R,4S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(136g,粗品)。

[1373] 步骤2.对于四批:在0℃下,向1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(12.38g,80.33mmol)在ACN(2000mL)中的溶液中添加NaH(6.43g,160.66mmol),持续0.5h,并且然后添加苯甲酸((2R,3R,4S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(34g,80.33mmol)。将混合物在0℃-60℃下搅拌3h。TLC指示苯甲酸((2R,3R,4S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯被完全消耗,并且形成两个新斑点。将四批反应混合物过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯＝1:0至1:1)。获得呈白色固体的苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(13g,8.90％产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.36-11.30(m,1H),8.00(d,J＝7.5Hz,2H),7.87(d,J＝7.5Hz,2H),7.73-7.67(m,1H),7.62-7.51(m,4H),7.44-7.36(m,2H),6.85(dd,J＝4.6,8.0Hz,1H),6.32-6.20(m,1H),5.96-5.75(m,1H),5.65(d,J＝7.6Hz,1H),4.71-4.53(m,2H),4.45-4.34(m,1H)。TLC:石油醚:乙酸乙酯＝1:1.5,Rf＝0.17。获得呈白色固体的苯甲酸((2R,3R,4S,5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(49g,33.56％产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.40(brs,1H),8.03(brd,J＝

7.3Hz,2H),7.96(brd,J=7.1Hz,1H),7.75-7.61(m,2H),7.60-7.47(m,5H),6.69-6.54(m,1H),6.21-6.01(m,1H),5.92-5.77(m,1H),5.68(d,J=7.6Hz,1H),4.94(td,J=3.7,7.4Hz,1H),4.62-4.47(m,2H);TLC:石油醚:乙酸乙酯=1:1.5,Rf2=0.11。

[1374] 步骤3.向苯甲酸((2R,3R,4S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(13g,28.61mmol)在MeOH(150mL)中的溶液中添加NaOMe(3.09g,57.22mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。向反应中添加NH_4Cl(3.1g)并在室温下搅拌5min,然后真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=1:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=1:1)。获得呈白色固体的3-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(6.6g,94.29%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.14(brs,1H),7.46(d,J=7.6Hz,1H),6.61(dd,J=6.0,7.9Hz,1H),5.57(d,J=7.6Hz,1H),5.28(dd,J=6.3,7.8Hz,1H),5.14(dd,J=6.2,7.8Hz,1H),4.61-4.46(m,2H),3.67-3.56(m,3H);LCMS($M+H^+$):269.2,纯度:96.9%;TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.21。

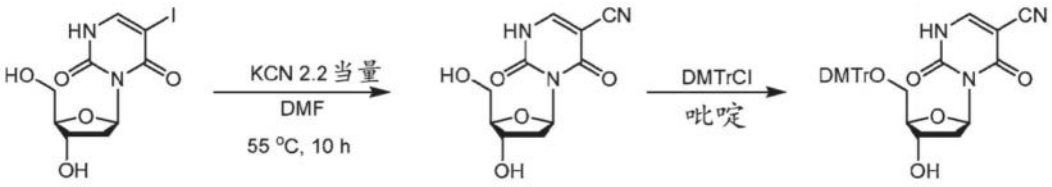
[1375] 步骤4.向3-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(6.6g,26.81mmol)在Py(5mL)中的溶液中添加在N_2中的DMTCl(9.08g,26.81mmol)。将混合物在25℃下搅拌6h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=0:1至1:0,至乙酸乙酯:MeOH=5:1)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-267(13g,88.40%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.15(brs,1H),7.49(d,J=7.5Hz,1H),7.39(d,J=7.4Hz,2H),7.32-7.15(m,7H),6.85(t,J=8.7Hz,4H),6.71(dd,J=5.0,8.0Hz,1H),5.64-5.54(m,2H),5.35-5.15(m,1H),4.54-4.39(m,1H),3.85(brt,J=7.9Hz,1H),3.73(d,J=1.6Hz,6H),3.46(t,J=9.2Hz,1H),3.09-3.03(m,1H);LCMS($M-H^+$):547.3,纯度:95.92%;TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.48。

[1376] 步骤5.向苯甲酸((2R,3R,4S,5S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(49g,107.83mmol)在MeOH(500mL)中的溶液中添加NaOMe(12.82g,237.23mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。向反应中添加NH_4Cl(12g)并在室温下搅拌5min,然后真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=10:1)。获得呈黄色固体的3-((2S,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(25g,96.15%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.80-10.71(m,1H),7.49(d,J=7.6Hz,1H),6.42-6.31(m,1H),5.83-5.75(m,1H),5.68-5.59(m,1H),4.91-4.66(m,1H),4.34-4.18(m,2H),3.66-3.54(m,1H),3.42(br dd,J=4.0,12.4Hz,1H);LCMS($M+H^+$):247.2,纯度:98.26%;TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.21。

[1377] 步骤6.向3-((2S,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(25g,101.55mmol)在Py(500mL)中的溶液中添加在N_2中的DMTrCl(34.41g,101.55mmol)。将混合物在25℃下搅拌6h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=20:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=5:1)。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-267A(34g,61.04%产率)。^1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.81-10.78(m,1H),7.53(d,J=7.6Hz,1H),7.43-7.37(m,2H),7.36-7.20(m,

7H),6.90(d,J＝8.9Hz,4H),6.50-6.40(m,1H),5.87-5.77(m,1H),5.70-5.62(m,1H),4.48-4.40(m,1H),4.39-4.26(m,1H),3.75(s,6H),3.20(brd,J＝9.9Hz,1H),3.05(dd,J＝5.4,10.6Hz,1H);LCMS(M-H$^+$):547.3,纯度:93.07%;TLC:石油醚:乙酸乙酯＝0:1,Rf＝0.48。

[1378] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲腈(WV-272)的合成

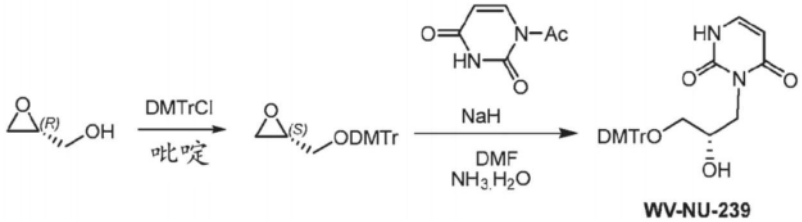


WV-NU-272

[1379] 步骤1.向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(3.6g,10.17mmol)在DMF(60mL)中的溶液中添加KCN(1.51g,23.19mmol,993.42uL)和1,4,7,10,13,16-六氧杂环十八烷(10.75g,40.67mmol)。将混合物在55℃下搅拌15h。向混合物中添加饱和$NaHCO_3$溶液以调节pH9。将混合物用H_2O(300mL)稀释并用EtOAc(200mL＊3)提取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,DCM:MeOH＝100:0至5:1)。获得呈黄色油状物的3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲腈(2.0g,77.69%产率)。LCMS(M-H$^+$):252.1;TLC:DCM:MeOH＝5:1,Rf＝0.52。

[1380] 步骤2.对于两批:向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲腈(2.5g,9.87mmol)在吡啶(30mL)中的溶液中添加DMTCl(3.35g,9.87mmol)。将混合物在15℃下搅拌1h。将10mL MeOH添加到混合物中,并且将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱法(SiO2,石油醚:乙酸乙酯＝100:1至0:1,5%TEA)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-272(9g,82.06%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝7.38(d,J＝7.4Hz,2H),7.31-7.16(m,7H),6.84(t,J＝9.3Hz,4H),6.55(dd,J＝4.2,9.1Hz,1H),6.26(s,1H),5.05(brd,J＝3.0Hz,1H),4.23(brd,J＝6.5Hz,1H),3.87-3.78(m,1H),3.73(d,J＝1.6Hz,6H),3.24-3.17(m,1H),3.13-3.05(m,2H),2.56(ddd,J＝4.3,8.3,12.9Hz,1H),1.99-1.94(m,1H);LCMS(M-H+):554.3,纯度:93.70%;TLC:石油醚:乙酸乙酯＝1:2,Rf＝0.45。

[1381] (S)-3-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-239)的合成



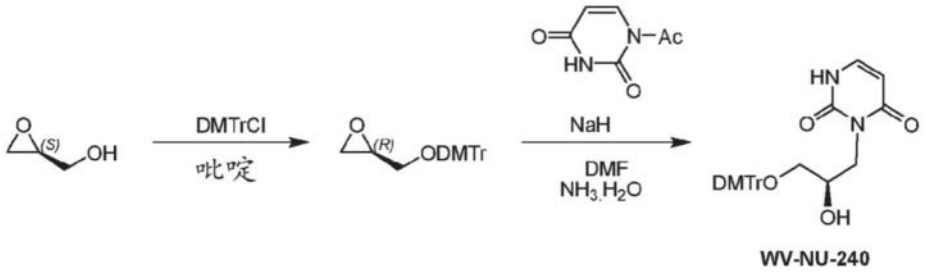
WV-NU-239

[1382] 步骤1.设置两个批次:向(R)-环氧乙烷-2-基甲醇(25g,337.48mmol,22.32mL)在吡啶(1250mL)中的溶液中添加DMTCl(125.78g,371.23mmol)。将混合物在25℃下搅拌10h。将2个批次混合。将混合物用H_2O(2000mL)稀释并用乙酸乙酯(2000mL＊3)萃取。将有机相经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙

酯＝100/1至5/1)纯化。获得呈黄色油状物的(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(160g,粗品)。TLC:石油醚:乙酸乙酯＝3:1,Rf＝0.3。

[1383] 步骤2.设置五个批次:向1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4.50g,29.22mmol)在DMF(50mL)中的溶液中添加NaH(223.14mg,5.58mmol,60％纯度)和(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(10g,26.56mmol)。将混合物在110℃下搅拌12h。将五个批次混合。向混合物的溶液中添加$NH_3.H_2O$(72.80g,519.32mmol,25％纯度)。将混合物在60℃下搅拌12h。LCMS显示有14％的中间体状态残留。LCMS上显示有几个新峰,并且检测到40％所期望的化合物。将反应混合物减压浓缩以去除DMF。将残余物用H_2O(300mL)稀释并用乙酸乙酯(200mL＊2)萃取。将合并的有机层用NaCl(300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1,乙酸乙酯/甲醇＝1/0至50/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-239(5g,62.50％产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.02(brs,1H),7.42-7.36(m,3H),7.32-7.22(m,7H),6.91-6.85(m,4H),5.54(d,J＝7.6Hz,1H),4.96(d,J＝5.8Hz,1H),4.02-3.95(m,1H),3.89-3.80(m,1H),3.74(s,7H),2.99(dd,J＝5.6,9.5Hz,1H),2.87-2.81(m,1H);LCMS(M-H$^+$):487.2,LCMS纯度:95.37％;TLC:石油醚:乙酸乙酯＝0:1,Rf＝0.3。

[1384] (R)-3-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-240)的合成

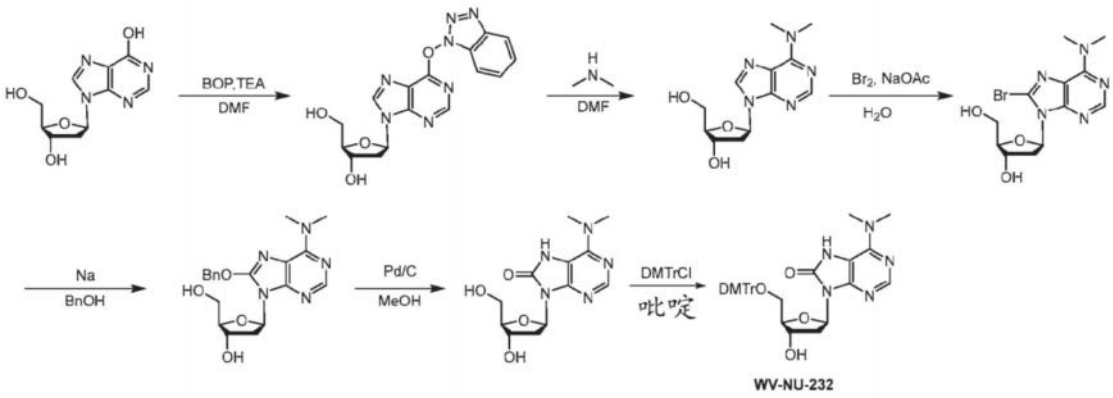


[1385] 步骤1.向(S)-环氧乙烷-2-基甲醇(20g,269.98mmol)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加DMTCl(91.48g,269.98mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成两个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的(R)-2-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(72g,70.84％产率)。TLC:石油醚:乙酸乙酯＝3:1,Rf＝0.3。

[1386] 步骤2.五个批次:向1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4.50g,29.22mmol)在DMF(50mL)中的溶液中添加NaH(223.08mg,5.58mmol,60％纯度)和(R)-2-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(10g,26.56mmol)。将混合物在110℃下搅拌12h。将五个批次混合。向混合物液体中添加$NH_3.H_2O$(364.04g,2.60mol,25％纯度)。将混合物在60℃下搅拌12h。LCMS显示有18％的中间体状态残留。LCMS上显示有几个新峰,并且检测到25％所期望的化合物WV-NU-240。将反应混合物减压浓缩以去除DMF。将残余物用H_2O(300mL)稀释并用乙酸乙酯(200mL＊2)萃取。将合并的有机层用NaCl(300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1,乙酸乙酯/甲醇＝1/0至50/1)纯化。获得呈白色固体的化合物WV-NU-240(2.5g,3.88％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.01(s,1H),7.42-7.35(m,3H),7.32-7.21(m,7H),6.91-6.83

(m,4H),5.54(d,J=7.6Hz,1H),4.95(d,J=5.7Hz,1H),4.01-3.94(m,1H),3.88-3.81(m,1H),3.74(s,7H),2.99(dd,J=5.7,9.4Hz,1H),2.86-2.79(m,1H);LCMS(M-H$^+$):487.2,99.36%纯度;TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.3。

[1387] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-(二甲基氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(WV-232)的合成



[1388] 步骤1.向9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮(45g,178.41mmol)在DMF(500mL)中的溶液中添加BOP(157.82g,356.82mmol)和TEA(36.11g,356.82mmol)。将混合物在15℃下搅拌1h。将混合物减压浓缩以给出残余物。混合物无需进一步纯化。获得呈白色固体的(2R,3S,5R)-5-(6-((1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)氧基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(65.89g,粗品)。TLC(二氯甲烷:甲醇=6:1),Rf=0.48。

[1389] 步骤2.向(2R,3S,5R)-5-(6-((1H-苯并[d][1,2,3]三唑-1-基)氧基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(64.65g,174.09mmol)在DMF(650mL)中的溶液中添加Cs_2CO_3(170.17g,522.28mmol)和N-甲基甲胺(23.54g,208.91mmol,40%纯度)。将混合物在15℃下搅拌3h。根据TLC,反应是干净的。将混合物过滤并真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=100/1至0/1)。获得呈白色固体的(2R,3S,5R)-5-(6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(30g,61.70%产率)。TLC(二氯甲烷:甲醇=5:1),Rf=0.55。

[1390] 步骤3.向(2R,3S,5R)-5-(6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(6.5g,23.27mmol)在乙酸钠(0.5M,260.00mL,5.59当量)和AcOH(0.5M)缓冲液(pH4.7)中的溶液中添加Br_2(4.46g,27.93mmol,1.44mL,1.2当量)。将混合物在15℃下搅拌12h。过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,DCM:MeOH=100/1至0/1)。获得呈黄色固体的(2R,3S,5R)-5-(8-溴-6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(11g,65.98%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d6,400MHz):δ=8.10-8.30(m,1H),6.32(t,J=7.2Hz,1H),4.40-4.61(m,1H),3.82-3.99(m,1H),3.67(br dd,J=11.9,4.5Hz,3H),3.49(br dd,J=11.8,4.8Hz,6H),3.23(ddd,J=13.4,7.5,6.3Hz,2H),2.19ppm(ddd,J=13.2,6.5,2.5Hz,1H);TLC(乙酸乙酯:二氯甲烷=10:1)Rf=0.43。

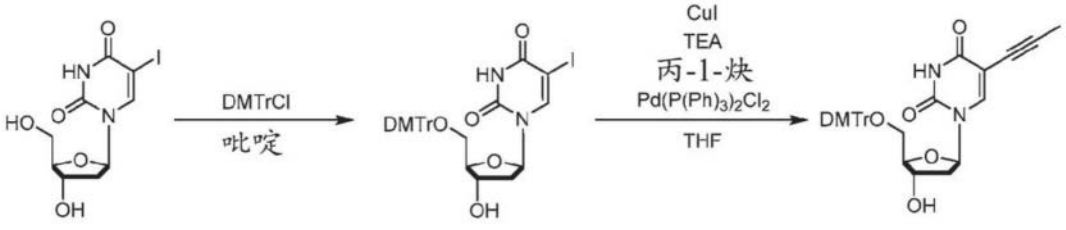
[1391] 步骤4.向Na(4.49g,195.43mmol)在BnOH(200mL)中的溶液中,将混合物在15℃下搅拌1h,并且然后在15℃下滴加在BnOH(100mL)中的(2R,3S,5R)-5-(8-溴-6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(7g,19.54mmol)。将所得的混合物在60

℃下搅拌2h。添加EtOH(10mL)淬灭反应混合物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷=100/0至0/1)纯化。获得呈黄色油状物的(2R,3S,5R)-5-(8-(苄氧基)-6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(7g,30.98%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d6,400MHz):δ=7.50-7.60(m,2H),7.36-7.48(m,3H),6.24(dd,J=7.9,6.8Hz,1H),5.48-5.58(m,2H),5.13-5.28(m,2H),4.31-4.44(m,1H),3.76-3.85(m,1H),3.56(dt,J=11.8,4.8Hz,1H),3.37-3.43(m,6H),2.89-3.07(m,1H),2.10ppm(ddd,J=13.1,6.5,2.7Hz,1H);TLC(乙酸乙酯:二氯甲烷=10:1,Rf=0.2)。

[1392] 步骤5.向(2R,3S,5R)-5-(8-(苄氧基)-6-(二甲基氨基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(7g,18.16mmol)在MeOH(200mL)中的溶液中添加在N_2气氛下的Pd/C(1g,18.16mmol,10%纯度)。将悬浮液脱气并用H_2吹扫3次。将混合物在H_2(15Psi)下在15℃搅拌12hr。将混合物过滤并减压浓缩,得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,DCM:MeOH=100/1至5/1)。获得呈白色固体的6-(二甲基氨基)-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(5.3g,98.82%产率)。LCMS(M+H+)=296;TLC(DCM:MeOH=10:1),Rf=0.2。

[1393] 步骤6.向6-(二甲基氨基)-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(5g,16.93mmol)在Py(100mL)中的溶液中添加DMTCl(5.74g,16.93mmol)。将混合物在15℃下搅拌2h。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物在H_2O(200mL)与EtOAc(300mL)之间分配。分离有机相,用盐水(100mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=100/1至0/1)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-232(7g,66.06%产率)。^{1}H NMR(DMSO-d6,400MHz):δ=10.90(s,1H),7.96(s,1H),7.36(d,J=7.3Hz,2H),7.15-7.30(m,7H),6.80(dd,J=19.9,8.8Hz,4H),6.21(t,J=6.7Hz,1H),5.22(brd,J=4.6Hz,1H),4.46-4.54(m,1H),3.88-3.96(m,1H),3.72(d,J=5.8Hz,6H),3.10-3.22(m,8H),3.05(dt,J=12.9,6.4Hz,1H),2.09ppm(ddd,J=12.9,7.7,4.9Hz,1H);LCMS(M-H+)=596,纯度=95.5%;TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1),Rf=0.6。

[1394] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-292)的合成



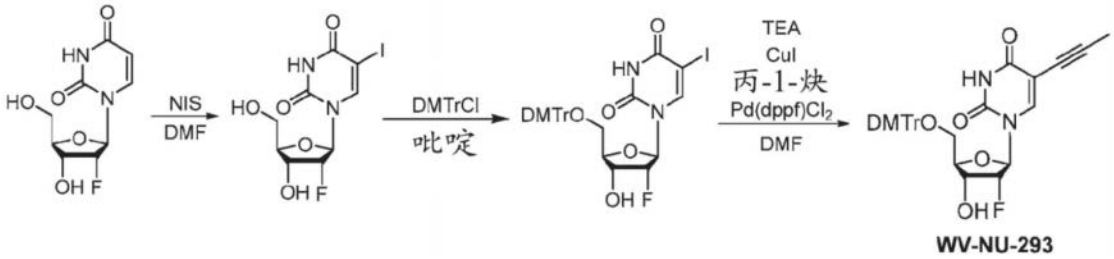
WV-NU-292

[1395] 步骤1.向1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(20g,56.48mmol)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加DMTCl(19.14g,56.48mmol)和DMAP(7.59g,62.13mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。通过添加饱和Na_2CO_3(200mL)来淬灭反应混合物,然后用水(300mL)稀释并用EtOAc(200mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的1-((2R,4S,5R)-5-

((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(16g,43.15%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=11.74(brs,1H),8.01(s,1H),7.42-7.37(m,2H),7.36-7.26(m,6H),7.23(d,J=7.1Hz,1H),6.90(d,J=8.8Hz,4H),6.10(t,J=6.8Hz,1H),5.30(d,J=4.3Hz,1H),4.22(brd,J=2.0Hz,1H),3.90(q,J=3.8Hz,1H),3.74(s,6H),3.23-3.12(m,2H),2.31-2.12(m,2H);LCMS(M-H+):655.3;TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1),Rf=0.35。

[1396] 步骤2.向1-((2R,4S,5R)-5-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(11.87g,18.08mmol)在THF(1000mL)中的溶液中添加在N_2中的碘化铜(1.72g,9.04mmol)和二氯钯;三苯基膦(1.27g,1.81mmol)和TEA(7.32g,72.33mmol)、丙-1-炔(1M,180.82mL)。将混合物在25℃下搅拌5h。LCMS显示检测到产物。通过添加饱和Na_2CO_3(200mL)来淬灭反应混合物,然后用水(300mL)稀释并用EtOAc(200mL*3)萃取。将合并的有机层用盐水(200mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-292(8.58g,63.87%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.65-11.56(m,1H),7.93-7.82(m,1H),7.41(d,J=7.6Hz,2H),7.35-7.27(m,6H),7.26-7.20(m,1H),6.89(d,J=8.5Hz,4H),6.13(t,J=6.8Hz,1H),5.33(d,J=4.4Hz,1H),4.35-4.24(m,1H),3.96-3.88(m,1H),3.74(s,6H),3.30-3.22(m,1H),3.10(dd,J=2.4,10.4Hz,1H),2.33-2.14(m,2H),1.79(s,3H);LCMS(M-H+):567.3,LCMS纯度:91.89%;TLC(石油醚:乙酸乙酯)=1:1,Rf=0.2。

[1397] 1-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-293)的合成



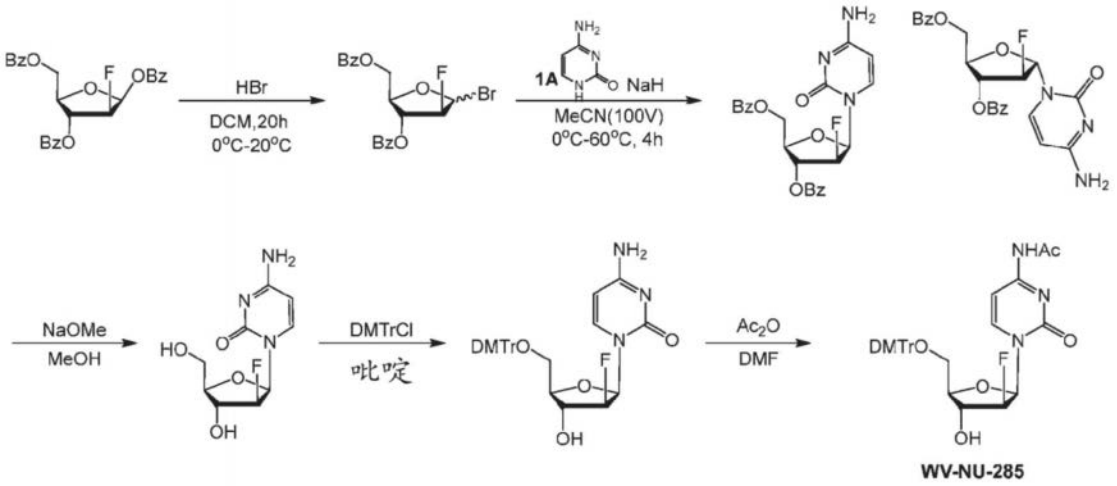
[1398] 步骤1.向1-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(24g,97.48mmol)在DMF(800mL)中的溶液中添加NIS(65.80g,292.45mmol)。将混合物在90℃下搅拌12h。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物减压浓缩以去除DMF。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的1-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(14g,38.60%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=1H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.72(s,1H),8.55-8.50(m,1H),5.85(dd,J=0.9,16.8Hz,1H),5.59(br s,1H),5.38(brs,1H),5.11-4.93(m,1H),4.23-4.09(m,1H),3.93-3.76(m,2H),3.65-3.54(m,1H);LCMS(M-H+):371.1.TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1),Rf=0.4。

[1399] 步骤2.向1-((2R,3R,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(12.6g,33.86mmol)在吡啶(250mL)中的溶液中添加DMTCl(12.62g,37.25mmol)。将混合物在20℃下搅拌12h。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物通

过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化。获得呈白色固体的14(2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(20g,87.57％产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.81(brs,1H),8.07(s,1H),7.41(d,J＝7.5Hz,2H),7.34-7.26(m,6H),7.25-7.19(m,1H),6.88(dd,J＝1.8,8.9Hz,4H),5.87-5.78(m,1H),5.60(d,J＝7.1Hz,1H),5.26-5.06(m,1H),4.39-4.24(m,1H),4.00-3.97(m,1H),3.74(s,6H),3.23(brd,J＝3.1Hz,2H);LCMS(M-H+):653.2;TLC(石油醚:乙酸乙酯＝1:1),Rf＝0.3。

[1400] 步骤3.在25℃下向1-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-5-碘嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(12g,17.79mmol)在THF(300mL)中的溶液中添加CuI(1.69g,8.90mmol)、Pd(dppf)Cl_2(2.60g,3.56mmol)、TEA(18.00g,177.92mmol)和丙-1-炔(1M,177.92mL),持续12h。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物用Na_2CO_3(200mL)稀释并用乙酸乙酯(200mL＊3)萃取。将合并的有机层用NaCl(500mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物。将残余物通过制备型HPLC(中性条件)纯化。获得呈棕色固体的化合物WV-NU-293(2.26g,23.95％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.68(brs,1H),7.89-7.83(m,1H),7.42(brd,J＝7.6Hz,2H),7.34-7.26(m,6H),7.25-7.19(m,1H),6.88(brd,J＝8.7Hz,4H),5.83(brd,J＝19.3Hz,1H),5.67(d,J＝7.0Hz,1H),5.23-5.04(m,1H),4.46-4.27(m,1H),3.74(s,6H),3.34(s,2H),3.21(brd,J＝10.1Hz,1H),1.74(s,3H);LCMS(M-H+):585.3,LCMS纯度:99.04％;TLC(石油醚:乙酸乙酯)＝1:1,Rf＝0.2。

[1401] N-(1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺(WV-285)的合成



[1402] 步骤1.在0℃下,向二苯甲酸(2S,3S,4R,5R)-5-((苯甲酰基氧基)甲基)-3-氟四氢呋喃-2,4-二基酯(50g,107.66mmol)在DCM(500mL)中的溶液中添加在N_2中的溴化氢(105.58g,430.63mmol)。将混合物在0℃-20℃下搅拌20h。将两批反应混合物倒入500mL的冰水中,并将有机相分离,用水(5x200mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥,并减压蒸发。然后将粗产物去除剩余的乙酸并真空干燥。获得呈黄色油状物的苯甲酸((2R,3R,4S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(45g,粗品)。TLC:石油醚:乙酸乙酯＝3:1,Rf＝0.37。

[1403] 步骤2.在0℃下向4-氨基嘧啶-2(1H)-酮(17.72g,159.49mmol)在ACN(2200mL)中

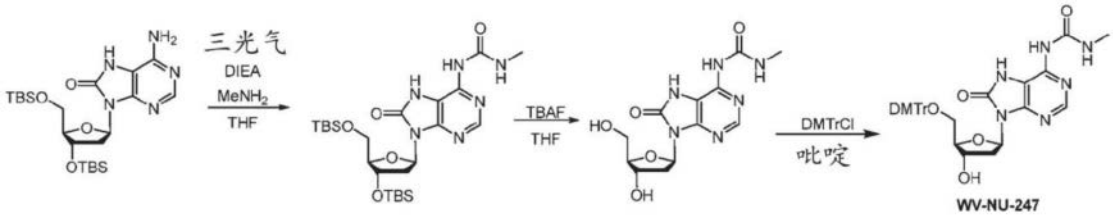
的溶液中添加NaH(8.51g,212.65mmol),持续0.5h。并且然后添加苯甲酸((2R,3R,4S)-3-(苯甲酰基氧基)-5-溴-4-氟四氢呋喃-2-基)甲基酯(45g,106.33mmol)。将混合物在0℃-60℃下搅拌3h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1),并且得到23g产物的混合物,将产物的混合物通过制备型HPLC纯化:(柱:Welch Xtimate C18 250*70mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:35%-65%,20min)。获得呈黄色固体的苯甲酸(2R,3R,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(5.7g,12.57mmol)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.10-7.95(m,4H),7.77-7.63(m,2H),7.61-7.50(m,5H),7.34(brs,1H),7.29(brs,1H),6.36-6.26(m,1H),5.76-5.60(m,2H),5.58-5.50(m,1H),5.55-5.40(m,1H),4.77-4.56(m,3H);LCMS(M+H$^+$):454.2;TLC:石油醚:乙酸乙酯=1:1.5,Rf=0.04。

[1404] 步骤3.向苯甲酸(2R,3R,4S,5R)-5-(4-氨基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-2-((苯甲酰基氧基)甲基)-4-氟四氢呋喃-3-基酯(5.6g,12.35mmol)在MeOH(100mL)中的溶液中添加在N_2中的NaOMe(1.47g,27.17mmol)。将混合物在25℃下搅拌3h。向反应中添加NH_4Cl(12g)并在室温下搅拌5min,然后真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=2:1)。获得呈白色固体的4-氨基-1-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(3g,99.06%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.64(dd,J=1.2,7.4Hz,1H),7.36(brs,1H),7.21(brs,1H),6.08(dd,J=3.7,18.6Hz,1H),5.88(br d,J=4.5Hz,1H),5.76(d,J=7.5Hz,1H),5.06(brs,1H),5.03-4.86(m,1H),4.17(brdd,J=1.7,18.8Hz,1H),3.89-3.71(m,1H),3.66-3.50(m,2H);LCMS(M+H+):246.1,纯度:100%;TLC:石油醚:乙酸乙酯=0:1,Rf=0.00。

[1405] 步骤4.向4-氨基-1-((2R,3S,4R,5R)-3-氟-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(3g,12.23mmol)在Py(10mL)中的溶液中添加在N_2中的DMT-Cl(4.15g,12.23mmol)。将混合物在25℃下搅拌6h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=5:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH=1:1)。获得呈黄色固体的4-氨基-1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-二酮(2.7g,40.30%产率)。LCMS(M-H+):546.4,纯度:92.76%;TLC:乙酸乙酯:甲醇=8:1,Rf=0.34。

[1406] 步骤5.向4-氨基-1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(2.7g,4.93mmol)在DMF(30mL)中的溶液中添加在N_2中的Ac_2O(1.11g,10.85mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=1:0至10:1,5%TEA)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-285(2.3g,79.11%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.95(s,1H),7.91(d,J=7.5Hz,1H),7.42-7.22(m,9H),7.14(d,J=7.5Hz,1H),6.91(d,J=8.5Hz,4H),6.17(dd,J=3.9,16.1Hz,1H),6.00(d,J=4.9Hz,1H),5.19-5.00(m,1H),4.29-4.20(m,1H),4.10-4.06(m,1H),3.74(s,6H),3.30-3.26(m,2H),2.10(s,3H);LCMS(M-H+):588.3,纯度:98.75%;TLC:二氯甲烷:甲醇=10:1,Rf=0.38。

[1407] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(WV-247)的合成



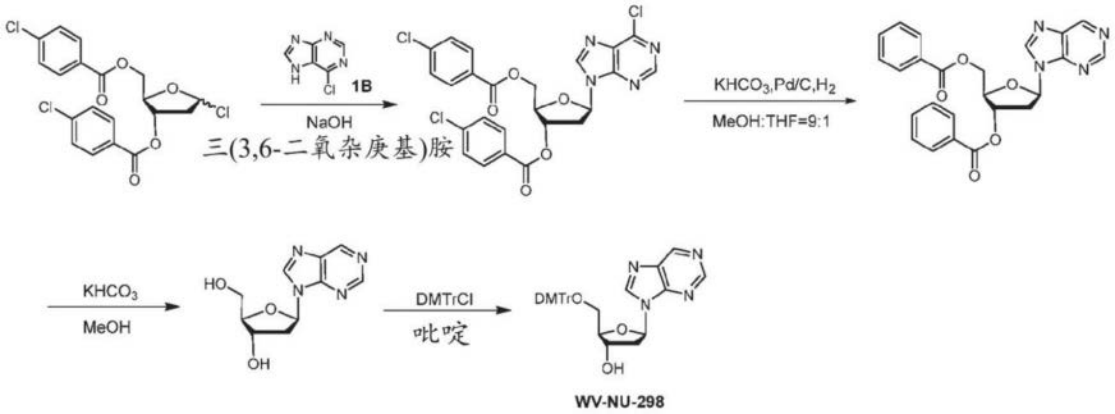
[1408] 步骤1.对于三批:在0℃下向6-氨基-9-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(10g,20.17mmol)、DIEA(6.52g,50.43mmol)在THF(100mL)和三光气(2.68g,9.03mmol)中的溶液中添加,将混合物在0℃下搅拌30min,并且然后添加$MeNH_2$(37.7g,364.13mmol,30%纯度)并将混合物在15℃下搅拌12h。将混合物倒入冰水(200mL)中并用EtOAc(200mL*2)萃取,将合并的有机物经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到粗品。将残余物通过MPLC(石油醚:乙酸乙酯=10:1,5:1)纯化,并且然后将混合物通过(石油醚:乙酸乙酯=10:1)研磨,过滤并且将滤饼浓缩以得到呈黄色固体回收的1-(9-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(6g,17.93%产率)和6-氨基-9-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮(7g,23.33%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.22-10.08(m,1H),9.32-9.11(m,1H),8.21-8.18(m,1H),8.17-8.10(m,1H),6.08-6.00(m,1H),4.65-4.56(m,1H),3.70-3.60(m,2H),3.51-3.46(m,1H),3.14-3.01(m,1H),2.70-2.64(m,3H),2.04-1.95(m,1H),0.82-0.78(m,9H),0.73-0.70(m,9H),0.00(s,6H),-0.10--0.18(m,6H);LCMS(M+H$^+$):553.2;TLC:石油醚:乙酸乙酯=3:1,Rf=0.61。

[1409] 步骤2.向1-(9-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(6g,10.85mmol,1当量)在THF(80mL)中的溶液中添加TBAF(1M,27.13mL,2.5当量)。将混合物在20℃下搅拌1h。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将粗产物通过MPLC(SiO_2,二氯甲烷:甲醇=5:1,10:1,8:1)纯化以得到呈黄色油状物的1-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(3.5g,粗品)。LCMS(M+H+):325.1;TLC(二氯甲烷:甲醇=8:1),Rf=0.15。

[1410] 步骤3.向1-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲(3.5g,10.79mmol)在吡啶(50mL)和DMTCl(3.66g,10.79mmol)中的溶液中添加,将混合物在25℃下搅拌1h。添加MeOH(5mL)并搅拌5min,并且将混合物浓缩以得到粗品。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,然后乙酸乙酯/甲醇=1/0至0/1,5%TEA)纯化,以获得呈黄色固体的WV-NU-247(4g,58.87%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=10.34-10.20(m,1H),9.39-9.22(m,1H),8.30-8.23(m,1H),8.16-8.13(m,1H),7.34(d,J=7.4Hz,2H),7.25-7.16(m,7H),6.85-6.72(m,4H),6.22-6.14(m,1H),5.29-5.18(m,1H),4.53-4.42(m,1H),3.96-3.89(m,1H),3.70(d,J=6.9Hz,6H),3.21-3.09(m,2H),3.06-2.97(m,1H),2.81-2.75(m,3H),2.17-2.04(m,1H);LCMS(M-H$^+$):625.3;纯度:98.6%纯度;TLC(二氯甲烷:甲醇=10:1),Rf=0.43。

[1411] (2R,3S,5R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(9H-嘌呤-9-基)四

氢呋喃-3-醇(WV-298)的合成



[1412] 步骤1.向6-氯-7H-嘌呤(10g,64.70mmol)在ACN(1000mL)中的溶液中添加NaOH(18.00g,450.03mmol)、2-(2-甲氧基乙氧基)-N,N-双7[2-(2-甲氧基乙氧基)乙基]乙胺(209.26mg,647.01umol)和4-氯苯甲酸(2R,3S)-5-氯-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(30.58g,71.17mmol)。将混合物在25℃下搅拌12h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)纯化。获得呈黄色固体的4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(29g,81.83%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=9.15(s,1H),8.84(s,1H),8.04(d,J=8.6Hz,2H),7.85(d,J=8.6Hz,2H),7.67-7.50(m,4H),6.88(t,J=6.5Hz,1H),5.79-5.73(m,1H),4.73-4.68(m,1H),4.65-4.54(m,2H),3.25-3.15(m,1H),2.98(ddd,J=3.5,6.2,14.5Hz,1H);LCMS(M-H+):569;TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1),Rf=0.6。

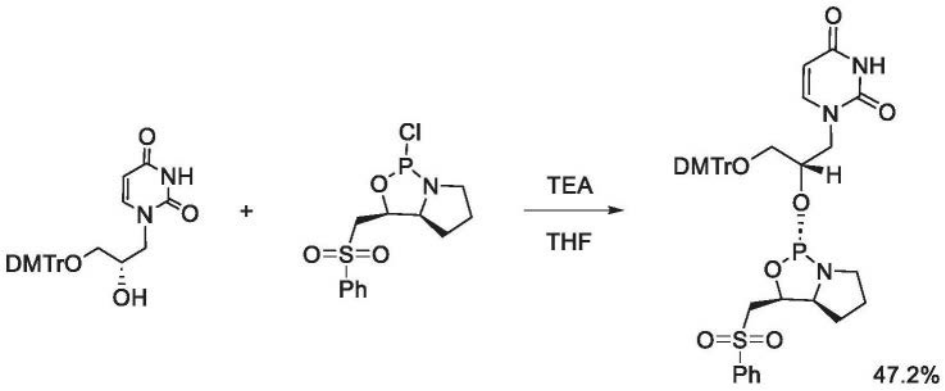
[1413] 步骤2.对于六个批次:向4-氯苯甲酸(2R,3S,5R)-5-(6-氯-9H-嘌呤-9-基)-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基酯(25g,45.64mmol)在MeOH(450mL)和THF(50mL)中的溶液中添加Pd/C(3g,45.64mmol,30%纯度)和$KHCO_3$(10.05g,100.41mmol)。将混合物在25℃下在H_2(15psi)下搅拌15h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将批次合并用于后处理。获得呈黄色固体的苯甲酸((2R,3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(80g,粗品)。LCMS(M-H^+):445.3。

[1414] 步骤3.对于三批:向苯甲酸((2R,3S,5R)-3-(苯甲酰基氧基)-5-(9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-2-基)甲基酯(40g,90.00mmol)在MeOH(500mL)中的溶液中添加$KHCO_3$(18.02g,180.00mmol)。将混合物在25℃下搅拌1h。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。根据TLC,反应是干净的。将反应混合物减压浓缩以给出残余物。将批次合并用于后处理。在25℃下,将粗产物通过以下纯化:由石油醚(500ml):乙酸乙酯(100mL)重结晶。获得呈白色固体的(2R,3S,5R)-2-(羟基甲基)-5-(9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-醇(60g,4.07%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=9.18(s,1H),8.95(s,1H),8.82(s,1H),6.49(brt,J=6.4Hz,1H),4.45(brs,1H),3.90(brs,1H),3.68-3.49(m,2H),2.79(td,J=6.3,12.7Hz,1H),2.42-2.32(m,1H);LCMS(M-H+):237.2;TLC(石油醚:乙酸乙酯)=1:1,Rf=0.3。

[1415] 步骤4.对于三批:向(2R,3S,5R)-2-(羟基甲基)-5-(9H-嘌呤-9-基)四氢呋喃-3-醇(20g,84.66mmol)在Py(700mL)中的溶液中添加DMTCl(28.69g,84.66mmol)。将混合物在25℃下搅拌15h。向反应混合物中添加甲醇(50ml)并减压浓缩,以给出残余物。将批次合并

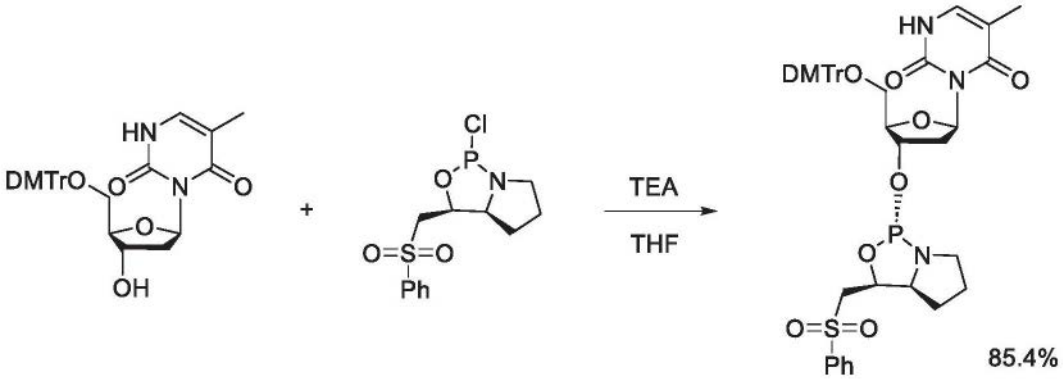
用于后处理。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1,至二氯甲烷:甲醇=1/0至0/1)。获得呈橘色固体的化合物WV-NU-298(30g,22.06%产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d_6)δ=9.18(s,1H),8.90-8.81(m,1H),8.77-8.68(m,1H),7.40-7.24(m,3H),7.21-7.10(m,7H),6.82-6.70(m,4H),6.55-6.46(m,1H),5.48-5.37(m,1H),4.61-4.47(m,1H),3.75-3.68(m,6H),3.23-3.14(m,2H),3.03-2.90(m,1H),2.44-2.33(m,1H);LCMS(M-H$^+$):537.3,LCMS纯度:90.13%;TLC(石油醚:乙酸乙酯)=0:1,Rf=0.3。

[1416] 1-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



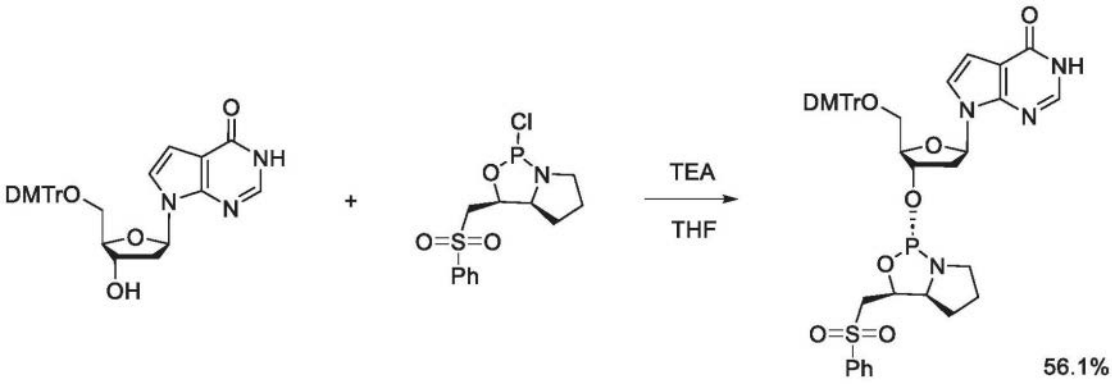
[1417] 向干燥的1-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]嘧啶-2,4-二酮(787mg,1.61mmol)在THF(6mL)中的溶液中添加三乙胺(0.56mL,4.03mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,3.87mL,2.90mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(15μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(193mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在已烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(0.587g,47.2%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.50(s,1H),7.98-7.93(m,2H),7.67-7.63(m,1H),7.58-7.53(m,2H),7.48-7.44(m,2H),7.36-7.32(m,4H),7.31-7.27(m,2H),7.24-7.20(m,1H),7.14(d,J=7.9Hz,1H),6.86-6.81(m,4H),5.61(d,J=7.9Hz,1H),5.12(q,J=6.2Hz,1H),4.44(tdd,J=10.4,8.8,7.3,4.4Hz,1H),4.08(dd,J=14.0,3.5Hz,1H),3.793(s,3H),3.791(s,3H),3.78-3.72(m,1H),3.53-3.44(m,3H),3.32(dd,J=14.2,6.9Hz,1H),3.19(dd,J=10.0,5.6Hz,1H),3.14(dd,J=10.0,4.6Hz,1H),3.09(tdd,J=10.6,8.7,4.2Hz,1H),1.85(ttd,J=13.9,9.5,8.8,4.6Hz,1H),1.78(td,J=12.2,10.5,6.9Hz,1H),1.69(dtd,J=12.1,7.1,6.6,2.6Hz,1H),1.13-1.05(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ155.42;MS(ESI),770.09[M-H]$^-$。

[1418] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1419] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-甲基-1H-嘧啶-2,4-二酮(4.80g,8.81mmol)在THF(36mL)中的溶液中添加三乙胺(3.07mL,22.0mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,21.2mL,15.9mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h 45min。TLC和LCMS显示反应完成。用水(79μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.06g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(6.23g,85.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.89(s,1H),7.88-7.84(m,2H),7.60(tt,J=7.4,1.3Hz,1H),7.52-7.46(m,4H),7.38-7.34(m,4H),7.22(t,J=7.7Hz,2H),7.15(tt,J=7.3,1.8Hz1H),6.79-6.75(m,4H),6.74(dd,J=8.6,4.8Hz,1H),6.56(s,1H),4.94-4.86(m,2H),3.91(td,J=6.1,3.5Hz,1H),3.751(s,3H),3.747(s,3H),3.65-3.57(m,1H),3.43-3.27(m,5H),2.95(tdd,J=10.3,8.8,4.0Hz,1H),2.88(ddd,J=13.2,8.2,4.8Hz,1H),2.25(ddd,J=13.8,8.7,5.6Hz,1H),1.83(tdd,J=11.5,5.7,2.9Hz,1H),1.76(d,J=1.2Hz,3H),1.70(dt,J=8.2,3.9Hz,1H),1.61(tdt,J=7.8,5.0,2.5Hz,1H),1.06(dtd,J=11.6,10.1,8.4Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.64;MS(ESI),866.01$[M+K]^+$。

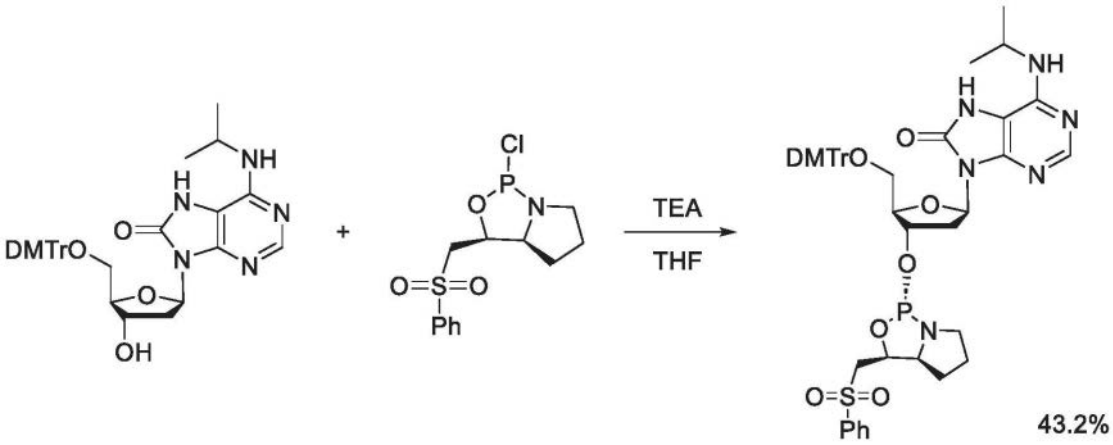
[1420] 7-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-3,7-二氢-4H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮的合成



[1421] 向干燥7-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-3H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-4-酮(3.00g,5.42mmol)在THF(22.5mL)中的溶液中添加三乙胺(1.89mL,13.5mmol)。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-

四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,13.0mL,9.75mmol)。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(49μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(650mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-50%ACN(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.55g,56.1%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ12.35(s,1H),7.92(s,1H),7.89(d,J=7.7Hz,2H),7.58-7.54(m,1H),7.47(t,J=7.7Hz,2H),7.43(d,J=7.8Hz,2H),7.34-7.29(m,4H),7.27(t,J=7.5Hz,2H),7.24-7.19(m,1H),7.12(d,J=3.6Hz,1H),6.84-6.79(m,4H),6.68(d,J=3.6Hz,1H),6.60(dd,J=8.1,5.8Hz,1H),4.99(q,J=6.0Hz,1H),4.87(ddt,J=9.0,5.9,2.7Hz,1H),4.08(q,J=3.7Hz,1H),3.78(s,6H),3.63(dq,J=11.9,6.0Hz,1H),3.54-3.43(m,2H),3.40-3.33(m,2H),3.26(dd,J=10.3,3.9Hz,1H),3.12(qd,J=10.0,4.0Hz,1H),2.61(ddd,J=13.9,8.2,6.2Hz,1H),2.47(ddd,J=13.6,5.8,2.5Hz,1H),1.89(ddq,J=11.7,7.6,3.5,3.0Hz,1H),1.82-1.74(m,1H),1.65(qd,J=7.5,2.5Hz,1H),1.16-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ152.69;MS(ESI),875.10[M+K]$^+$。

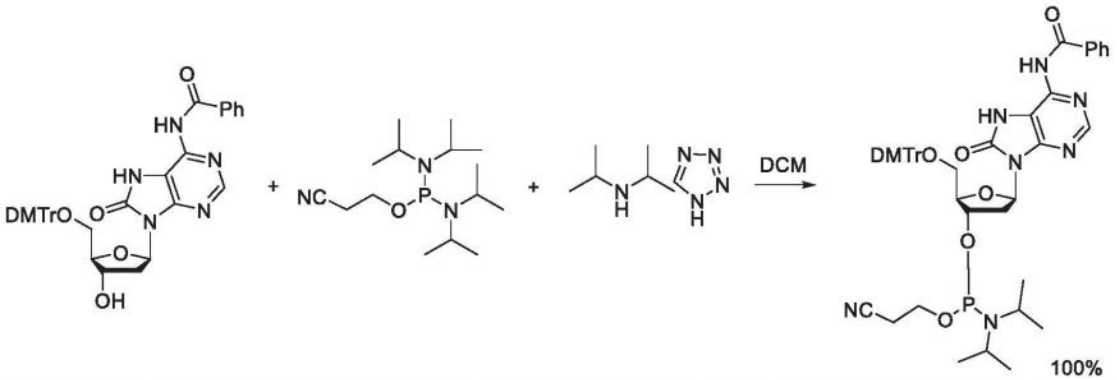
[1422] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-(异丙基氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮的合成



[1423] 向干燥的9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-(异丙基氨基)-7H-嘌呤-8-酮(2.00g,3.27mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加三乙胺(1.14mL,8.17mmol)。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.75M在THF中,6.98mL,5.23mmol)。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(29μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(392mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-15%ACN(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(1.26g,43.2%产率)。^{1}HNMR(600MHz,氯仿-d)δ8.06(s,1H),7.88(d,J=7.5Hz,2H),7.55(t,J=7.3Hz,1H),7.46(t,J=7.7Hz,2H),7.41(d,J=7.7Hz,2H),7.33-7.27(m,4H),7.19(t,J=7.7Hz,2H),7.14(t,J=7.2Hz,1H),6.79-6.71(m,4H),6.29(t,J=6.8Hz,1H),5.59-5.48(m,1H),5.11(p,J=6.2,5.3Hz,2H),4.35(dt,J=13.5,6.7Hz,1H),4.03(q,J=5.2Hz,1H),3.737(s,3H),3.735(s,3H),3.68(dt,J=11.8,5.7Hz,1H),3.45(dp,J=9.4,4.8,4.3Hz,2H),3.37(ddt,J=19.6,9.3,5.3Hz,3H),3.27(dd,J=

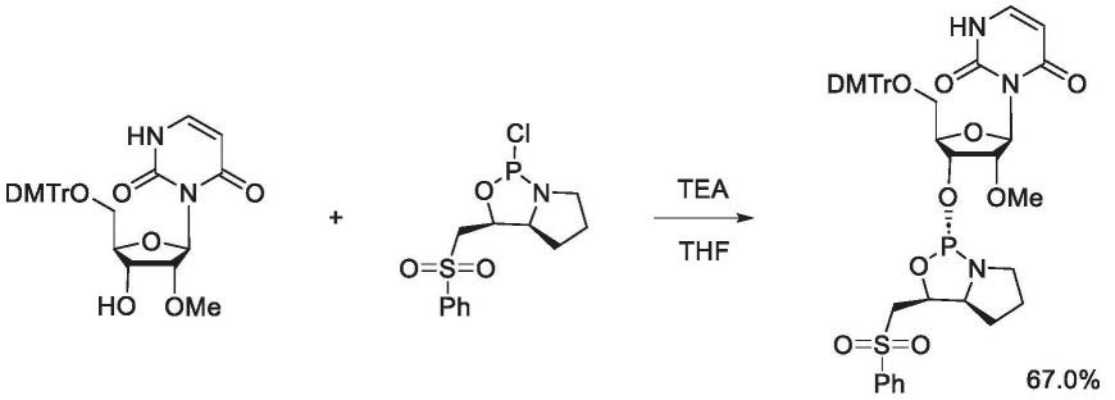
10.0,5.7Hz,1H),3.00(qd,J＝9.9,4.1Hz,1H),2.24(ddd,J＝13.3,7.3,4.2Hz,1H),1.87(dtt,J＝12.2,8.1,3.6Hz,1H),1.76(dddd,J＝14.6,11.7,8.1,4.8Hz,1H),1.64(h,J＝7.6,5.1Hz,1H),1.29-1.25(m,6H),1.12(td,J＝11.1,10.5,6.3Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.55;MS(ESI),895.34[M+H]$^{+}$。

[1424] (2R,3S,5R)-5-(6-苯甲酰胺基-8-氧代-7,8-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)四氢呋喃-3-基(2-氰乙基)二异丙基亚磷酰胺的合成



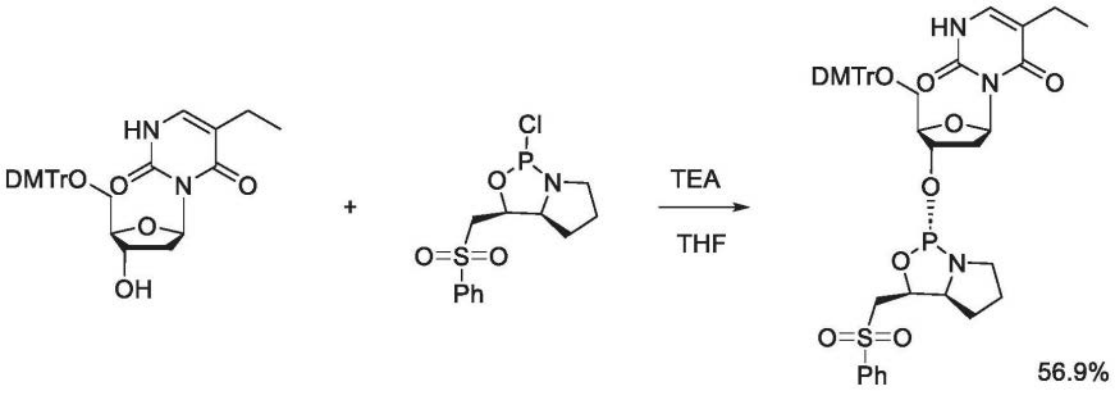
[1425] 在0℃下向干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]苯甲酰胺(30.0g,44.5mmol)在DCM(84mL)中的溶液中缓慢添加2-氰乙基N,N,N′,N′-四异丙基亚磷酰二胺(35.4mL,111mmol)。将溶液搅拌5min。一次性添加二异丙基铵盐四氮唑(2.29g,13.4mmol)。在0℃下继续搅拌5min。去除冰/水浴。将所得的反应溶液在rt下搅拌6h。TLC和LCMS显示反应完成。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在已烷中的30%-70%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(39.3g,100%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.46(s,1H),8.62(d,J＝3.8Hz,1H),8.22-8.18(m,1H),7.95-7.91(m,2H),7.64(t,J＝7.4Hz,1H),7.54(t,J＝7.6Hz,2H),7.43(dt,J＝7.7,3.4Hz,2H),7.34-7.28(m,4H),7.24-7.13(m,3H),6.75(q,J＝9.1,8.6Hz,4H),6.42(q,J＝6.5Hz,1H),4.94-4.80(m,1H),4.25-4.18(m,1H),3.89-3.77(m,1H),3.77-3.74(m,6H),3.71-3.64(m,1H),3.64-3.54(m,2H),3.45-3.37(m,1H),3.36-3.28(m,2H),2.61(td,J＝6.5,2.1Hz,1H),2.46(td,J＝6.5,4.5Hz,1H),2.40-2.28(m,1H),1.21-1.16(m,9H),1.12(d,J＝6.8Hz,3H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.49,148.30;MS(ESI),874.20[M+H]$^{+}$。

[1426] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-甲氧基-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1427] 向干燥的3-[(2R,3S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-3-甲氧基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(3.00g,5.35mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.72mL,12.3mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.51mL,8.56mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h 15min。TLC和LCMS显示反应完成。用水(48μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(642mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.02g,67.0%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.99(s,1H),7.88(d,J=7.8Hz,2H),7.59(t,J=7.5Hz,1H),7.51-7.44(m,4H),7.34(d,J=8.6Hz,4H),7.23(t,J=7.6Hz,2H),7.16(t,J=7.3Hz,1H),6.82-6.74(m,5H),6.35(d,J=3.0Hz,1H),5.57(d,J=7.7Hz,1H),5.08(q,J=6.1Hz,1H),4.87(dt,J=9.5,6.8Hz,1H),4.35(dd,J=6.2,3.1Hz,1H),4.09(dq,J=6.8,3.3Hz,1H),3.75(s,6H),3.66(dq,J=11.6,6.0Hz,1H),3.43(s,3H),3.41-3.31(m,4H),3.19(dd,J=10.4,6.0Hz,1H),2.88(qd,J=9.7,4.1Hz,1H),1.80(dtt,J=12.1,8.0,3.5Hz,1H),1.75-1.66(m,1H),1.61-1.54(m,1H),1.10-1.03(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.59;MS(ESI),844.34$[M+H]^+$。

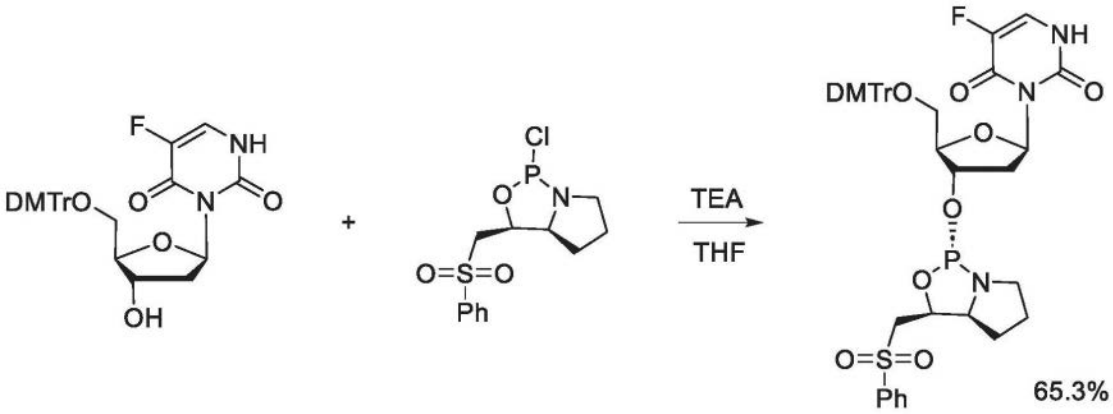
[1428] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-乙基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1429] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-乙基-1H-嘧啶-2,4-二酮(3.00g,5.37mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.72mL,12.4mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰

基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.55mL,8.59mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(48μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(644mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-90%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.57g,56.9%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.38(s,1H),7.89-7.84(m,2H),7.62-7.56(m,1H),7.52-7.44(m,4H),7.36(dd,J=7.8,1.4Hz,4H),7.22(dd,J=8.4,7.0Hz,2H),7.17-7.12(m,1H),6.79-6.75(m,4H),6.74(dd,J=8.5,5.1Hz,1H),6.46(s,1H),4.94-4.87(m,2H),3.91(td,J=6.0,3.2Hz,1H),3.745(s,3H),3.740(s,3H),3.60(dq,J=11.5,5.8Hz,1H),3.43-3.25(m,5H),2.99-2.93(m,1H),2.91(td,J=8.2,4.1Hz,1H),2.24(ddd,J=13.6,8.6,5.4Hz,1H),2.16(qt,J=7.4,1.4Hz,2H),1.86-1.79(m,1H),1.75-1.67(m,1H),1.61(dtd,J=12.2,7.3,6.7,2.6Hz,1H),1.10-1.03(m,1H),0.97(t,J=7.4Hz,3H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.81;MS(ESI),880.51[M+K]$^+$。

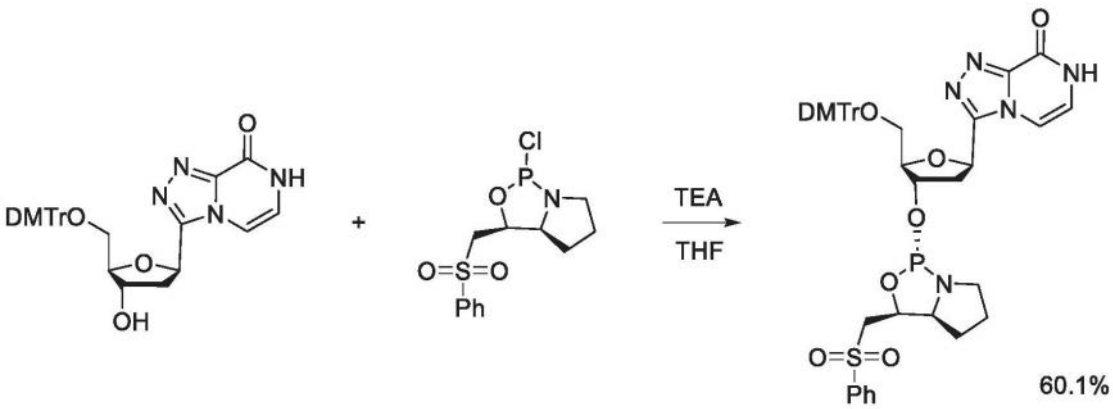
[1430] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-氟嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1431] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-氟-1H-嘧啶-2,4-二酮(5.00g,9.11mmol)在THF(30mL)中的溶液中添加三乙胺(2.92mL,21.0mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,16.2mL,14.6mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(82μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.09g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(4.95g,65.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.89-7.85(m,2H),7.62-7.58(m,1H),7.50(t,J=7.8Hz,2H),7.48-7.44(m,2H),7.37-7.31(m,4H),7.23(dd,J=8.4,7.0Hz,2H),7.18-7.14(m,1H),6.80-6.76(m,4H),6.71(d,J=4.2Hz,1H),6.66(dd,J=8.4,5.0Hz,1H),4.96(dt,J=7.1,5.5Hz,1H),4.90-4.84(m,1H),3.95(td,J=6.0,3.6Hz,1H),3.75(s,3H),3.74(s,3H),3.61(dq,J=9.9,5.9Hz,1H),3.43-3.26(m,5H),2.96-2.90(m,1H),2.88(ddd,J=13.2,8.0,5.0Hz,1H),2.62(q,J=7.0Hz,1H),2.26(ddd,J=13.7,8.5,5.5Hz,1H),1.86-1.79(m,1H),1.76-1.67

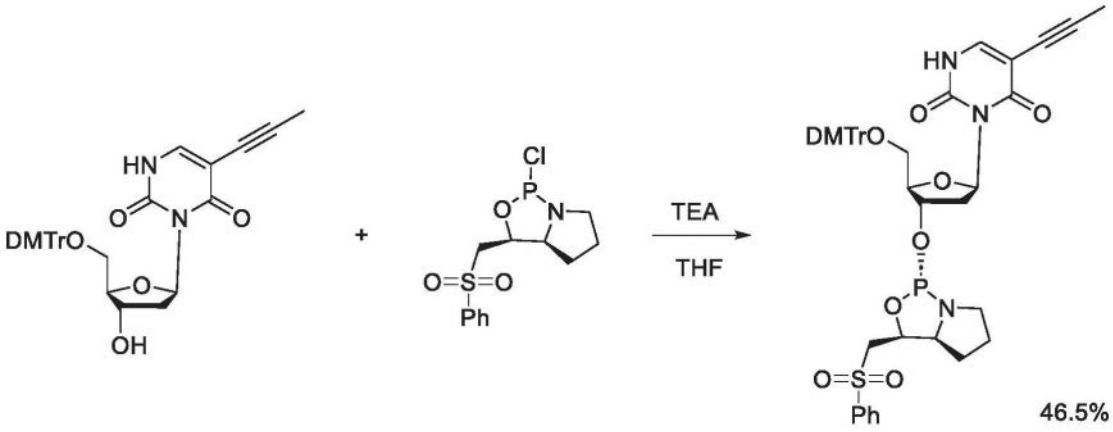
(m,1H),1.63-1.57(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.29;^{19}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-164.78;MS(ESI),870.18[M+K]$^{+}$。

[1432] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8(7H)-酮的合成



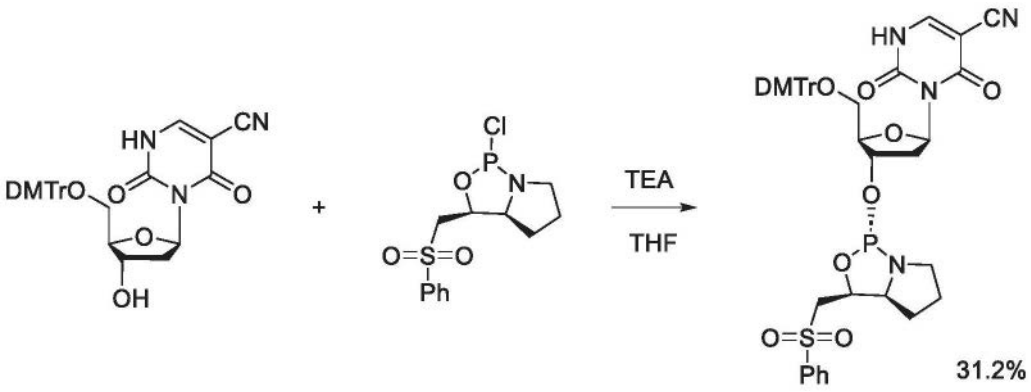
[1433] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-7H-[1,2,4]三唑并[4,3-a]吡嗪-8-酮(3.00g,5.41mmol)在THF(30mL)中的浆液中添加三乙胺(1.73mL,12.4mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.62mL,8.66mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌6h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(49μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(649mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-100%ACN(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(2.72g,60.1%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.92-7.87(m,2H),7.67(d,J=5.7Hz,1H),7.61-7.56(m,1H),7.51-7.46(m,2H),7.35-7.30(m,2H),7.24(dd,J=8.5,6.8Hz,2H),7.21(dt,J=8.9,2.2Hz,4H),7.20-7.16(m,1H),6.81-6.76(m,4H),6.46(d,J=5.7Hz,1H),5.56(dd,J=10.1,5.8Hz,1H),5.06(dt,J=7.1,5.5Hz,1H),4.90(tt,J=6.2,2.0Hz,1H),4.15(q,J=3.4Hz,1H),3.76(s,6H),3.63(ddd,J=12.1,10.1,5.9Hz,1H),3.56-3.46(m,2H),3.39(dd,J=14.6,5.2Hz,1H),3.29-3.21(m,2H),3.16(tdd,J=10.3,8.8,4.0Hz,1H),2.80(ddd,J=13.3,10.1,6.0Hz,1H),2.58(ddd,J=13.4,5.8,1.7Hz,1H),1.94-1.85(m,1H),1.83-1.75(m,1H),1.64(tdd,J=7.7,5.5,2.5Hz,1H),1.16-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ153.51;MS(ESI),836.43[M-H]$^{-}$。

[1434] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1435] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-丙-1-炔基-1H-嘧啶-2,4-二酮(3.00g,5.28mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.69mL,12.1mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.38mL,8.44mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌2h 45min。TLC和LCMS显示反应完成。用水(47μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(633mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(2.09g,46.5%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.89-7.84(m,2H),7.63-7.57(m,1H),7.50(t,J=7.8Hz,2H),7.47-7.43(m,2H),7.36-7.31(m,4H),7.23(t,J=7.7Hz,2H),7.18-7.13(m,1H),7.05(s,1H),6.81-6.74(m,4H),6.69(dd,J=8.8,4.5Hz,1H),4.90-4.81(m,2H),3.92(td,J=6.6,3.5Hz,1H),3.755(s,3H),3.750(s,3H),3.61(dq,J=9.9,6.0Hz,1H),3.43-3.33(m,3H),3.33-3.25(m,2H),2.95(tdd,J=10.4,8.8,4.2Hz,1H),2.79(ddd,J=13.1,8.3,4.5Hz,1H),2.25(ddd,J=13.5,8.9,5.9Hz,1H),2.02(s,3H),1.82(tp,J=10.9,3.9,3.3Hz,1H),1.76-1.68(m,1H),1.62(dddd,J=9.4,7.5,5.7,2.6Hz,1H),1.10-1.01(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ150.08;MS(ESI),890.17[M+K]$^+$。

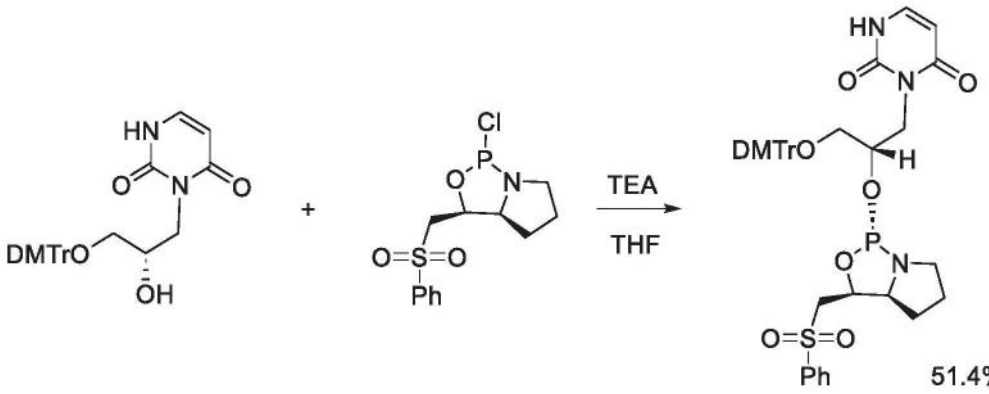
[1436] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2,4-二氧代-1,2,3,4-四氢嘧啶-5-甲腈的合成



[1437] 向干燥的3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-2,4-二氧代-1H-嘧啶-5-甲腈(4.50g,8.10mmol)在THF(27mL)中的溶液中

添加三乙胺(2.60mL,18.6mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,14.4mL,13.0mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌4.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(73μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(972mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0-50%ACN(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化。获得的产物不纯,所以将其通过正相柱色谱法使用在已烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度再次纯化,得到呈浅棕色泡沫状的标题化合物(2.12g,31.2%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.89-7.84(m,2H),7.60(t,J=7.4Hz,1H),7.49(t,J=7.7Hz,2H),7.46(d,J=7.6Hz,2H),7.37-7.31(m,4H),7.21(t,J=7.6Hz,2H),7.15(t,J=7.2Hz,1H),6.80-6.72(m,5H),5.88(s,1H),4.96-4.90(m,2H),3.92(td,J=6.6,3.7Hz,1H),3.76(s,6H),3.61(dq,J=11.6,5.9Hz,1H),3.40-3.31(m,3H),3.31-3.24(m,2H),2.89-2.82(m,1H),2.79(ddd,J=12.8,8.4,4.1Hz,1H),2.21(ddd,J=13.2,9.2,6.2Hz,1H),1.81(dtt,J=11.8,7.9,3.2Hz,1H),1.75-1.65(m,1H),1.62(ddt,J=12.1,9.6,3.8Hz,1H),1.10-1.01(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ147.53;MS(ESI),837.57[M-H]$^-$。

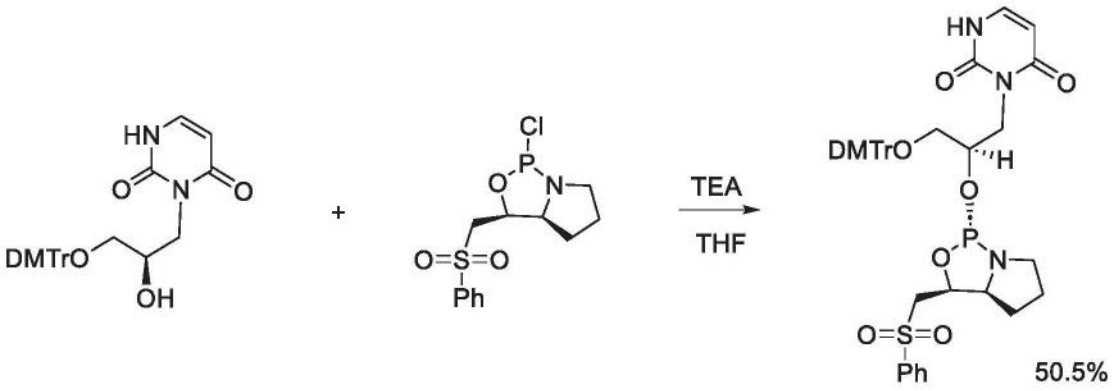
[1438] 3-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1439] 向干燥的3-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(2.50g,5.12mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加三乙胺(1.64mL,11.8mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.10mL,8.19mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌2.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(46uL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(614mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在已烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(2.03g,51.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.45(s,1H),7.86-7.83(m,2H),7.57(t,J=7.5Hz,1H),7.44(t,J=8.1Hz,4H),7.33(dt,J=9.8,2.6Hz,4H),7.28-7.24(m,2H),7.19(t,J=7.4Hz,1H),7.13(d,J=7.7Hz,1H),6.82(dt,J=8.9,2.9Hz,4H),5.68(d,J=7.7Hz,1H),5.12(q,J=6.2Hz,1H),4.54(tdd,J=11.2,7.8,4.7Hz,1H),4.24(dd,J=13.3,9.1Hz,1H),3.91(dd,J=13.3,4.0Hz,1H),3.80-3.76(m,6H),3.64

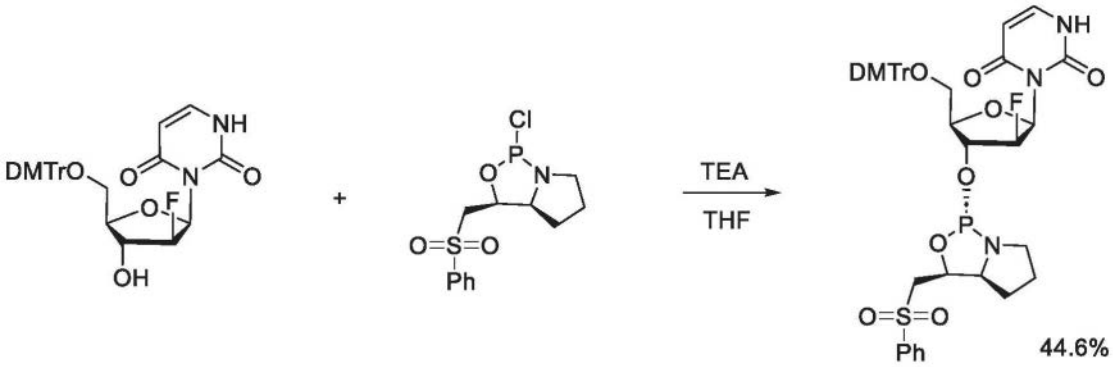
(dq,J＝9.4,5.9Hz,1H),3.43(dd,J＝14.4,6.7Hz,1H),3.41-3.35(m,1H),3.31(dd,J＝14.4,6.1Hz,1H),3.22(dd,J＝9.6,5.7Hz,1H),3.08(dd,J＝9.6,5.4Hz,1H),2.97(dtd,J＝14.6,10.2,9.4,4.5Hz,1H),1.77(dp,J＝12.2,4.1Hz,1H),1.73-1.67(m,1H),1.63(dtd,J＝12.1,6.1,3.2Hz,1H),1.12-1.05(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.28;MS(ESI),810.28[M+K]$^{+}$。

[1440] 3-((R)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



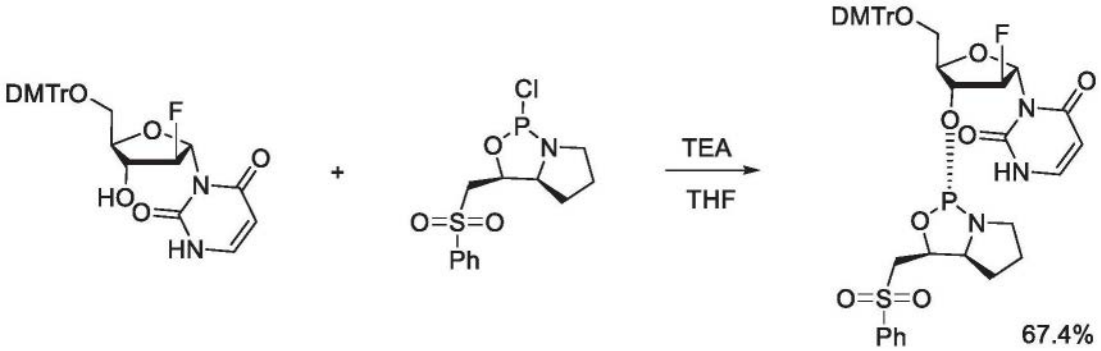
[1441] 向干燥的3-[(2R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(2.00g,4.09mmol)在THF(12mL)中的溶液中添加三乙胺(1.31mL,9.42mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,7.28mL,6.55mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌4h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(37μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(491mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(1.60g,50.5%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.98(s,1H),7.97(dd,J＝8.1,1.4Hz,2H),7.69-7.65(m,1H),7.58(t,J＝7.7Hz,2H),7.49-7.44(m,2H),7.34(ddd,J＝9.6,6.0,2.8Hz,4H),7.25(t,J＝7.6Hz,2H),7.21-7.16(m,2H),6.85-6.77(m,4H),5.59(d,J＝7.7Hz,1H),5.06(q,J＝6.1Hz,1H),4.61(ddq,J＝14.1,7.3,3.6Hz,1H),4.17(dd,J＝13.3,9.6Hz,1H),3.83-3.79(m,1H),3.78(s,6H),3.57(dq,J＝9.9,6.0Hz,1H),3.50-3.41(m,2H),3.38(dd,J＝14.5,5.8Hz,1H),3.24(dd,J＝9.7,7.1Hz,1H),3.11-3.04(m,2H),1.80(ddd,J＝11.7,7.8,3.4Hz,1H),1.73-1.65(m,1H),1.50(qd,J＝7.3,2.5Hz,1H),1.10-1.02(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ157.59;MS(ESIJ,770.18[M-H]$^{-}$。

[1442] 3-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1443] 向干燥的3-[(2R,4S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-氟-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(5.00g,9.11mmol)在THF(30mL)中的溶液中添加三乙胺(2.79mL,20.1mmol)。将反应溶液冷却至-20℃。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,16.2mL,14.6mmol)。使所得浆液缓慢升温至rt并在rt下继续搅拌3h。LCMS显示有次要核苷残留。再搅拌4h。用水(82μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.09g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.38g,44.6%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.16(s,1H),7.88-7.84(m,2H),7.62-7.57(m,1H),7.50-7.43(m,4H),7.37-7.31(m,4H),7.23(t,J=7.7Hz,2H),7.18-7.13(m,1H),6.83-6.72(m,6H),5.57(d,J=7.7Hz,1H),5.24(ddd,J=54.1,7.9,5.6Hz,1H),5.10-5.00(m,1H),4.97(q,J=6.2Hz,1H),3.88(ddd,J=9.3,7.6,2.2Hz,1H),3.75(s,3H),3.74(s,3H),3.62(dq,J=9.6,5.9Hz,1H),3.54(dd,J=10.2,7.8Hz,1H),3.36-3.26(m,4H),2.79(qd,J=9.4,4.0Hz,1H),1.80(pt,J=8.8,4.3Hz,1H),1.74-1.66(m,1H),1.66-1.60(m,1H),1.10-1.01(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.18(d,J=2.2Hz);^{19}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-199.71(d,J=2.7Hz);MS(ESI),830.56[M-H]$^-$。

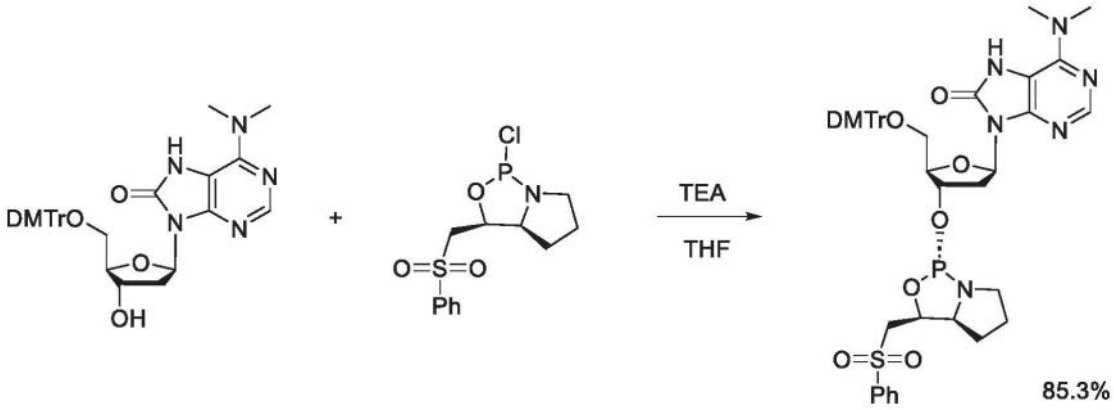
[1444] 3-((2S,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1445] 向干燥的3-[(2S,4S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-氟-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(10.0g,18.2mmol)在THF(60mL)中的溶液中添加三乙胺(5.59mL,40.1mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF

中,34.4mL,31.0mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌2.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(164μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(2.18g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化。将较不纯的产物级分合并、浓缩并使用相同的梯度再纯化一次。将来自两个柱纯化的合并的纯产物级分合并、浓缩并在高真空下进一步干燥,以得到呈白色泡沫状的标题化合物(10.2g,67.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.91-7.86(m,2H),7.62-7.56(m,1H),7.50(t,J=7.8Hz,2H),7.48-7.44(m,2H),7.37-7.31(m,4H),7.28(t,J=7.7Hz,2H),7.21-7.18(m,1H),7.17(d,J=7.9Hz,1H),6.84-6.79(m,4H),6.71(dd,J=21.1,4.2Hz,1H),5.82(dt,J=56.9,4.5Hz,1H),5.73(d,J=7.7Hz,1H),5.08-4.95(m,2H),4.50(dt,J=8.2,3.0Hz,1H),3.77(s,6H),3.62(dq,J=9.7,6.0Hz,1H),3.42-3.33(m,3H),3.30(dd,J=14.6,6.0Hz,1H),3.05(dd,J=10.8,3.9Hz,1H),2.93-2.84(m,1H),1.83(dtd,J=12.2,8.5,8.0,3.9Hz,1H),1.76-1.67(m,1H),1.66-1.59(m,1H),1.11-1.03(m,1H);^{31}pNMR(243MHz,氯仿-d)δ149.78;^{19}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-186.62;MS(ESI),830.46[M-H]$^-$。

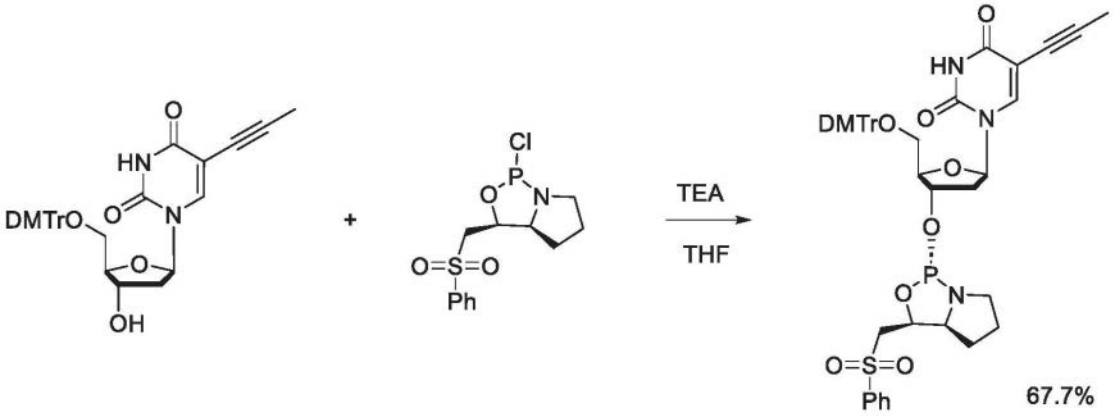
[1446] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-(二甲基氨基)-7,9-二氢-8H-嘌呤-8-酮的合成



[1447] 向干燥的9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-(二甲基氨基)-7H-嘌呤-8-酮(3.00g,5.02mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.54mL,11.0mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.48mL,8.53mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(45μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(602mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(流动相A含有1%的三乙胺,流动相B含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.77g,85.3%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ10.85(s,1H),8.05(s,1H),7.88(d,J=7.6Hz,2H),7.58-7.54(m,1H),7.48(t,J=7.6Hz,2H),7.41(d,J=7.8Hz,2H),7.29(dd,J=8.8,2.1Hz,4H),7.19(t,J=7.6Hz,2H),7.15-7.11(m,1H),6.73(t,J=8.5Hz,4H),6.35(t,J=6.9Hz,1H),5.06(p,J=5.9Hz,2H),4.04(q,J=5.1Hz,1H),3.72(s,3H),3.71(s,3H),3.72-3.67(m,1H),3.54-3.42(m,2H),3.41-3.33(m,3H),3.27(dd,J=10.0,5.7Hz,1H),

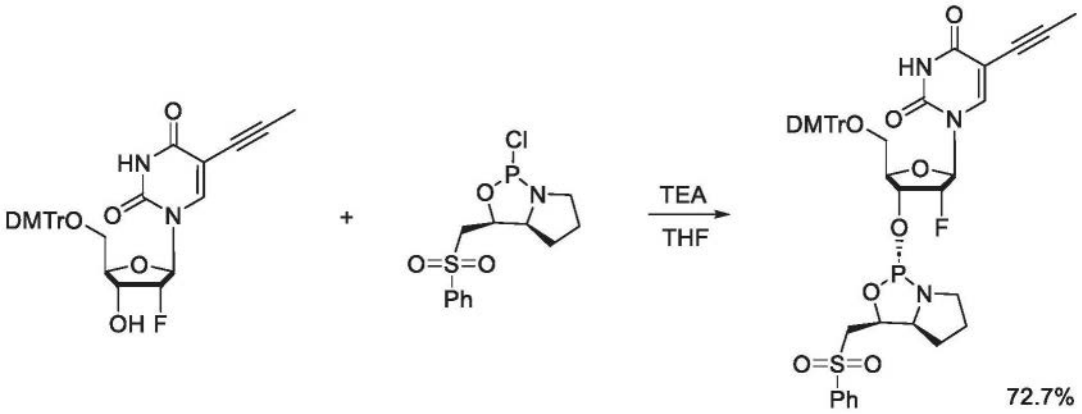
3.22(s,6H),3.10(qd,J＝9.8,3.9Hz,1H),2.30-2.23(m,1H),1.89(ddq,J＝12.4,8.7,4.7,3.8Hz,1H),1.82-1.74(m,1H),1.67(qd,J＝7.5,2.5Hz,1H),1.14(tq,J＝19.2,10.2,8.7Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.22;MS(ESI),881.26[M+H]$^{+}$。

[1448] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



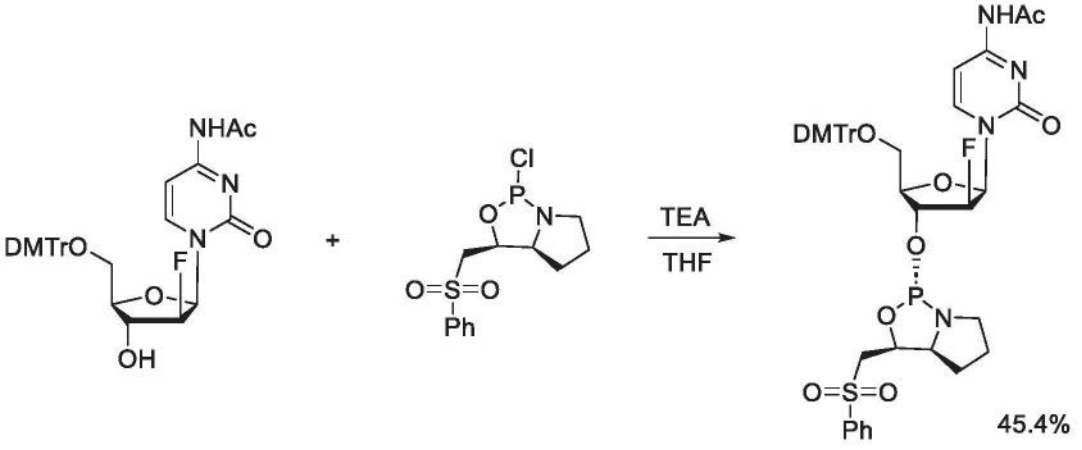
[1449] 向干燥的1-[(2R,4R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-丙-1-炔基-嘧啶-2,4-二酮(3.00g,5.28mmol)在THF(18mL)中的溶液中添加三乙胺(1.62mL,11.6mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,9.97mL,8.97mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(47μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(633mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(流动相A含有1%的三乙胺,流动相B含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.04g,67.7%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ8.24(s,1H),8.00(s,1H),7.90-7.85(m,2H),7.63-7.58(m,1H),7.49(t,J＝7.7Hz,2H),7.46-7.42(m,2H),7.37-7.33(m,4H),7.31(t,J＝7.6Hz,2H),7.24-7.20(m,1H),6.88-6.83(m,4H),6.29(dd,J＝8.2,5.6Hz,1H),4.96(dt,J＝7.1,5.4Hz,1H),4.77(ddd,J＝11.1,5.0,2.3Hz,1H),4.06(q,J＝2.7Hz,1H),3.79(s,6H),3.60(dq,J＝9.8,5.9Hz,1H),3.54-3.47(m,1H),3.46(dd,J＝14.4,7.2Hz,1H),3.39-3.29(m,3H),3.19-3.12(m,1H),2.54(ddd,J＝13.8,5.7,2.0Hz,1H),2.26(ddd,J＝13.9,8.2,6.0Hz,1H),1.89(tt,J＝8.3,4.0Hz,1H),1.83-1.75(m,1H),1.69(s,3H),1.64(dt,J＝12.1,7.4Hz,1H),1.15-1.06(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ153.88;MS(ESI),850.46[M-H]$^{-}$)。

[1450] 1-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-5-(丙-1-炔-1-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



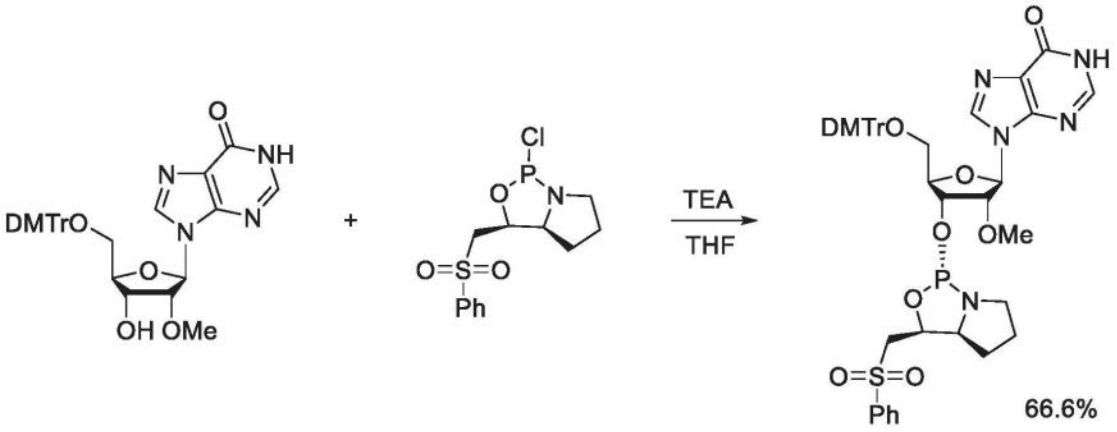
[1451] 向干燥的1-[(3S,4S)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-氟-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-5-丙-1-炔基-嘧啶-2,4-二酮(2.00g,3.41mmol)在THF(12mL)中的溶液中添加三乙胺(1.09mL,7.84mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,6.44mL,5.80mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(31μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(409mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(流动相A含有1%的三乙胺,流动相B含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(2.16g,72.7%产率)。^{1}HNMR(600MHz,氯仿-d)δ7.92(s,1H),7.90-7.86(m,2H),7.62(t,J=7.5Hz,1H),7.50(t,J=7.7Hz,2H),7.45-7.41(m,2H),7.34(dd,J=8.9,3.0Hz,4H),7.29(t,J=7.7Hz,2H),7.22(t,J=7.3Hz,1H),6.84(d,J=8.8Hz,4H),6.00(dd,J=15.5,2.9Hz,1H),5.15(ddd,J=52.0,4.6,2.8Hz,1H),5.06-5.01(m,1H),4.74(dddd,J=15.1,8.5,6.4,4.5Hz,1H),4.18-4.14(m,1H),3.783(s,3H),3.781(s,3H),3.71-3.65(m,1H),3.53-3.43(m,3H),3.41-3.34(m,2H),3.11(qd,J=10.2,4.1Hz,1H),1.86(dqt,J=11.0,7.6,3.4Hz,1H),1.82-1.73(m,1H),1.68-1.58(m,1H),1.64(s,3H),1.15-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ154.11(d,J=12.8Hz);^{19}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-201.92(d,J=12.6Hz);MS(ESI),868.37[M-H]$^-$)。

[1452] N-(1-((2R,3S,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-氟-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺的合成



[1453] 向干燥的N-[1-[(2R,3R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-氟-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-2-氧代-嘧啶-4-基]乙酰胺(2.00g,3.39mmol)在THF(12mL)中的溶液中添加三乙胺(1.09mL,7.80mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,6.41mL,5.77mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌4h。TLC和LCMS显示反应未完成。添加另外的三乙胺(0.31mL,2.2mmol)。快速滴加另外的(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,1.88mL,1.70mmol)。将浆液在rt下再搅拌2h。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的40%-100%EtOAc(流动相A含有1%的三乙胺,流动相B含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(1.35g,45.4%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.20(s,1H),7.93-7.88(m,2H),7.87(d,J=7.6Hz,1H),7.61(t,J=7.4Hz,1H),7.52(t,J=7.7Hz,2H),7.47-7.41(m,2H),7.36-7.28(m,7H),7.24(t,J=7.3Hz,1H),6.85(d,J=8.6Hz,4H),6.21(dd,J=19.2,3.2Hz,1H),5.14(dd,J=51.0,3.3Hz,1H),5.00(q,J=6.0Hz,1H),4.69(ddd,J=17.9,9.3,3.5Hz,1H),4.07(q,J=4.4Hz,1H),3.80(s,6H),3.63(dq,J=11.7,6.0Hz,1H),3.52-3.43(m,2H),3.41(dd,J=10.4,4.3Hz,1H),3.39-3.32(m,2H),3.04(qd,J=9.9,4.0Hz,1H),2.26(s,3H),1.89(pd,J=7.5,3.1Hz,1H),1.78(h,J=7.9Hz,1H),1.66(ddt,J=12.7,9.9,3.9Hz,1H),1.16-1.06(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ151.23;^{H}F NMR(565MHz,氯仿-d)δ-197.00;MS(ESI),873.21[M+H]$^{+}$。

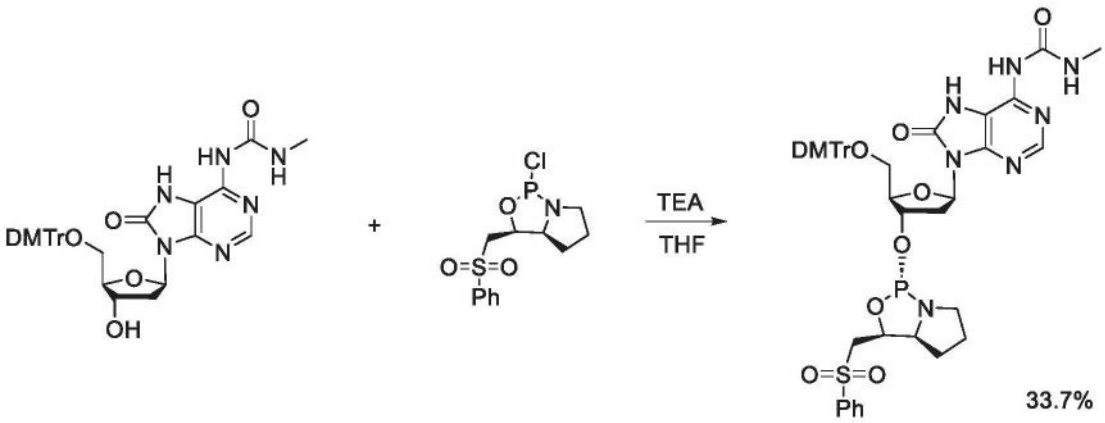
[1454] 9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-甲氧基-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-1,9-二氢-6H-嘌呤-6-酮的合成



[1455] 向干燥的5'-DMT-2'-O-甲基肌苷(5.00g,8.55mmol)在THF(37.5mL)中的浑浊溶液中添加三乙胺(2.86mL,20.5mmol)。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,17.1mL,15.4mmol)。将所得浆液在rt下搅拌3.5h。TLC和LCMS显示有次要核苷起始材料残留。将所得混合物再搅拌2.5hr。由于反应混合物变得更稠,添加另外的THF(75mL)。用水(77μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(1.03g)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在DCM中的0%-100%ACN(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(4.94g,66.6%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ12.62(s,1H),

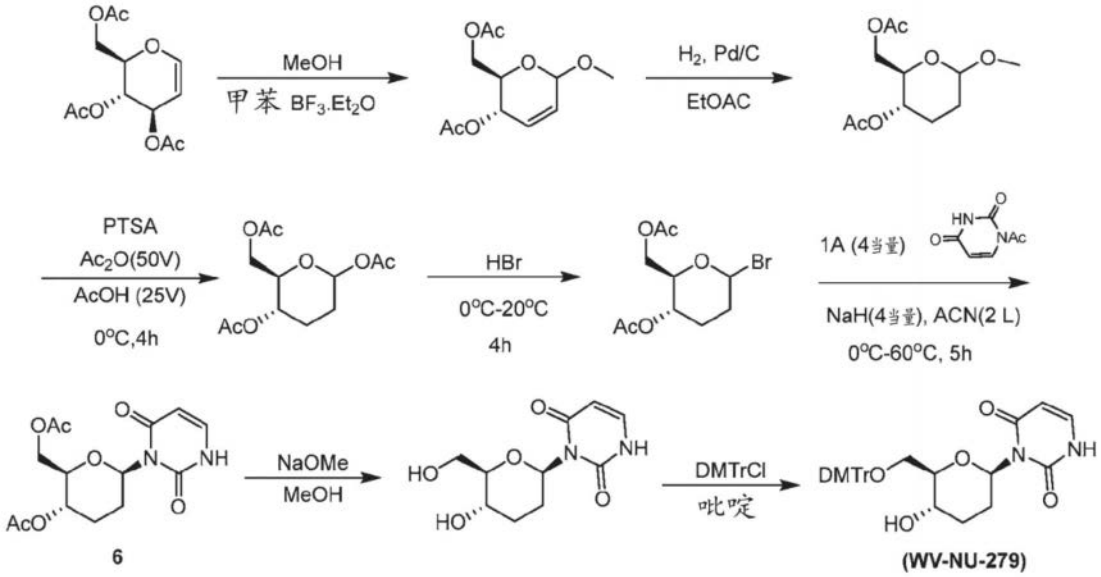
8.04(s,1H),7.96(s,1H),7.87(dd,J＝8.1,1.4Hz,2H),7.59-7.55(m,1H),7.46(t,J＝7.8Hz,2H),7.45-7.41(m,2H),7.32(dd,J＝8.9,2.3Hz,4H),7.27(t,J＝7.8Hz,2H),7.23-7.19(m,1H),6.81(dd,J＝8.9,3.1Hz,4H),6.05(d,J＝6.0Hz,1H),5.13-5.07(m,1H),4.75(dt,J＝9.2,4.0Hz,1H),4.57(t,J＝5.5Hz,1H),4.26(q,J＝3.7Hz,1H),3.77(s,3H),3.76(s,3H),3.65(dq,J＝11.6,6.0Hz,1H),3.53-3.45(m,3H),3.43(s,3H),3.42-3.39(m,1H),3.36(dd,J＝10.7,4.1Hz,1H),3.15-3.08(m,1H),1.88(ddq,J＝11.3,7.5,4.1,3.1Hz,1H),1.81-1.73(m,1H),1.66(ddt,J＝12.6,9.7,3.9Hz,1H),1.17-1.07(m,1H).;^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ154.61;MS(ESI),868.28[M+H]$^{+}$。

[1456] 1-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-3-甲基脲的合成



[1457] 向干燥的1-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]-3-甲基-脲(1.00g,1.60mmol)在THF(6mL)中的溶液中添加三乙胺(0.49mL,3.51mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,2.84mL,2.55mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌3h。TLC显示有次要核苷起始材料残留。将所得混合物再搅拌3h。用水(14μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(191mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在EtOAc中的0%-100%ACN(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(0.489g,33.7%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ10.55(s,1H),9.37(s,1H),8.17(s,1H),7.91-7.87(m,2H),7.61-7.57(m,1H),7.50(t,J＝7.8Hz,2H),7.45-7.41(m,2H),7.33-7.28(m,4H),7.21(dd,J＝8.5,6.7Hz,2H),7.15(dd,J＝8.4,5.9Hz,1H),6.77-6.72(m,4H),6.34(t,J＝6.8Hz,1H),5.12-5.03(m,2H),4.03(q,J＝4.9Hz,1H),3.75(s,3H),3.74(s,3H),3.68(dq,J＝10.0,6.0Hz,1H),3.50-3.43(m,2H),3.39-3.34(m,2H),3.32-3.23(m,2H),3.06(d,J＝4.6Hz,3H),3.02(td,J＝10.1,9.5,4.0Hz,1H),2.29(ddd,J＝13.4,7.3,4.3Hz,1H),1.87(dtt,J＝11.8,7.9,3.2Hz,1H),1.80-1.72(m,1H),1.66(ddt,J＝12.0,7.5,4.2Hz,1H),1.15-1.07(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ149.97;MS(ESI),908.47[M-H]$^{-}$)。

[1458] 3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羟基四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-279)的合成



[1459] 步骤1.在0℃下将三氟化硼乙醚(22.16g,156.11mmol)添加到二乙酸(2R,3S,4R)-2-(乙酰氧基甲基)-3,4-二氢-2H-吡喃-3,4-二基酯(50g,183.65mmol)在MeOH(12.95g,404.04mmol,16.35mL,2.2当量)和甲苯(600mL)中的溶液中。将混合物在20℃下搅拌6.5h。根据TLC,反应是干净的。将溶液冷却至0℃,并用Et_3N(20.45mL)淬灭,在0℃下维持10min后,将Na_2CO_3(19.45g)添加至溶液中。将滤液浓缩以给出残余物,将残余物通过硅胶柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1,含有1.0vol%Et_3N)纯化。获得呈无色油状物的乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-甲氧基-3,6-二氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(44g,98.09%产率)。^1H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=5.73-5.87(m,2H),5.25(dd,J=9.7,1.5Hz,1H),4.86(s,1H),4.13-4.25(m,2H),3.93-4.03(m,1H),3.39(s,3H),2.04(s,3H),2.02ppm(s,4H);TLC(石油醚:乙酸乙酯=5:1)Rf=0.23。

[1460] 步骤2.向乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-甲氧基-3,6-二氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(44g,180.15mmol)在EtOAc(400mL)中的溶液中添加Pd/C(0.07mg,180.15mmol,10%纯度)。将混合物在H_2(15Psi)气氛下在25℃搅拌18h。根据TLC,反应是干净的。通过硅藻土垫过滤去除不溶物质。将垫子用EtOAc(100mL)洗涤。浓缩滤液。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。获得呈无色油状物的乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(43g,96.93%产率)。^1H NMR(氯仿-d,400MHz):δ=4.67-4.80(m,2H),4.22-4.31(m,1H),4.11(dd,J=11.9,2.3Hz,1H),3.90(ddd,J=10.0,5.3,2.3Hz,1H),3.37(s,3H),2.09(s,3H),2.04-2.06(m,3H),1.81-2.02ppm(m,4H);TLC:(石油醚:乙酸乙酯=5:1)Rf=0.30。

[1461] 步骤3.对于两批:向乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-甲氧基四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(54g,219.28mmol)在AcOH(135mL)中的溶液中添加Ac_2O(294.30g,2.88mmol),并且然后添加PTSA(75.52g,438.57mmol)。将混合物在0℃下搅拌4h。TLC指示化合物3被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应倒入500mL的冰水中,并将有机相分离,用水(5x300mL)洗涤,经Na_2SO_4干燥,并减压蒸发。然后将粗产物去除剩余的乙酸并真空干燥。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=15:至0:1)。获得呈无色油状物的二乙酸(5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-2,5-二基酯(109.6g,84.31%产率)。^1H NMR

(400MHz,DMSO-d6)δ＝5.98(brs,1H),4.68(dt,J＝4.8,10.4Hz,1H),4.21-4.10(m,1H),4.06-3.89(m,2H),2.07(s,3H),2.01(s,3H),2.00-1.99(m,3H),1.97-1.93(m,1H),1.89-1.70(m,3H);TLC:石油醚:乙酸乙酯＝1:1.5,Rf＝0.39。

[1462] 步骤4.向二乙酸(5S,6R)-6-(乙酰氧基甲基)四氢-2H-吡喃-2,5-二基酯(23g,83.86mmol)在DCM(300mL)中的溶液中添加在N_2中的溴化氢(1M)。将混合物在0℃下搅拌4h。将反应混合物倒入300mL冰水中,并且分离有机相,用水(5x200mL)洗涤,经$MgSO_4$干燥并减压蒸发,然后将粗产物去除剩余的乙酸并真空干燥。获得呈黄色油状物的乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-溴四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(24g,96.97%产率)。TLC:石油醚:乙酸乙酯＝1:1),Rf＝0.26。

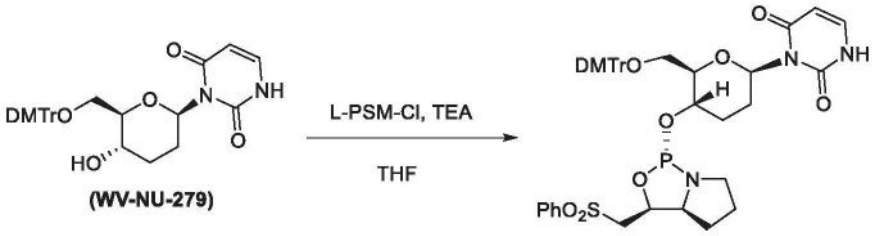
[1463] 步骤5.对于两批:在0℃下,向1-乙酰基-114-嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(25.07g,162.64mmol)在ACN(2000mL)中的溶液中添加NaH(6.51g,162.64mmol),持续0.5h,并且然后添加在N_2中的乙酸((2R,3S)-3-乙酰氧基-6-溴四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(12g,40.66mmol)。将混合物在0℃-60℃下搅拌3.5h。TLC指示化合物5被完全消耗,并且形成三个新斑点。将两批反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将粗产物通过以下纯化:制备型HPLC(柱:Welch Xtimate C18 250＊70mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:10%-40%,20min)。获得呈白色固体的乙酸((2R,3S,6R)-3-乙酰氧基-6-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(1.5g,11.5%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.00(brs,1H),7.42(d,J＝7.6Hz,1H),5.92(dd,J＝1.9,11.2Hz,1H),5.55(d,J＝7.6Hz,1H),4.59(dt,J＝4.6,10.4Hz,1H),4.11-3.99(m,2H),3.75(ddd,J＝2.8,5.1,9.7Hz,1H),2.99-2.85(m,1H),2.16-2.08(m,1H),2.00(d,J＝10.6Hz,6H),1.74-1.61(m,2H);LCMS($M+H^+$):349.1:TLC:石油醚:乙酸乙酯＝1:1,Rf＝0.07。

[1464] 步骤6.向乙酸((2R,3S,6R)-3-乙酰氧基-6-(2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢-2H-吡喃-2-基)甲基酯(1.5g,4.60mmol)在MeOH(50mL)中的溶液中添加NaOMe(745.04mg,13.79mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。TLC指示化合物6被完全消耗,并且形成一个新斑点。向反应中添加NH_4Cl(0.75g)并在室温下搅拌5min,然后真空浓缩。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯＝10:1至0:1,至乙酸乙酯:MeOH＝3:1)。获得呈白色固体的3-((2R,5S,6R)-5-羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(1g,89.81%产率)。LCMS($M+H^+$):507.1,纯度:92.82%:TLC:乙酸乙酯:甲醇＝9:1,Rf＝0.13。

[1465] 步骤7.向3-((2R,5S,6R)-5-羟基-6-(羟基甲基)四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(0.8g,3.30mmol)在Py(10mL)中的溶液中添加在N_2中的DMTCl(1.12g,3.30mmol)。将混合物在25℃下搅拌6h。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯＝10:1至0:1,至DCM:MeOH＝3:1,5%TEA)。获得呈黄色固体的化合物WV-NU-279(0.8g,44.48%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝11.14-11.03(m,1H),7.47-7.38(m,3H),7.30-7.16(m,7H),6.82(brd,J＝7.5Hz,4H),5.87(brd,J＝10.8Hz,1H),5.59(d,J＝7.6Hz,1H),4.73(d,J＝6.1Hz,1H),3.72(s,6H),3.47-3.39(m,1H),3.23(br d,J＝9.9Hz,1H),2.99(brdd,J＝6.3,9.9Hz,1H),2.91-2.77(m,1H),2.18(t,J＝8.0Hz,1H),1.90(quin,J＝7.6Hz,1H),1.58(br d,J＝11.1Hz,1H),1.52-1.41(m,1H);LCMS(M.H+):543.3,纯度:91.91%;TLC:二氯甲烷:甲醇＝9:1,Rf＝

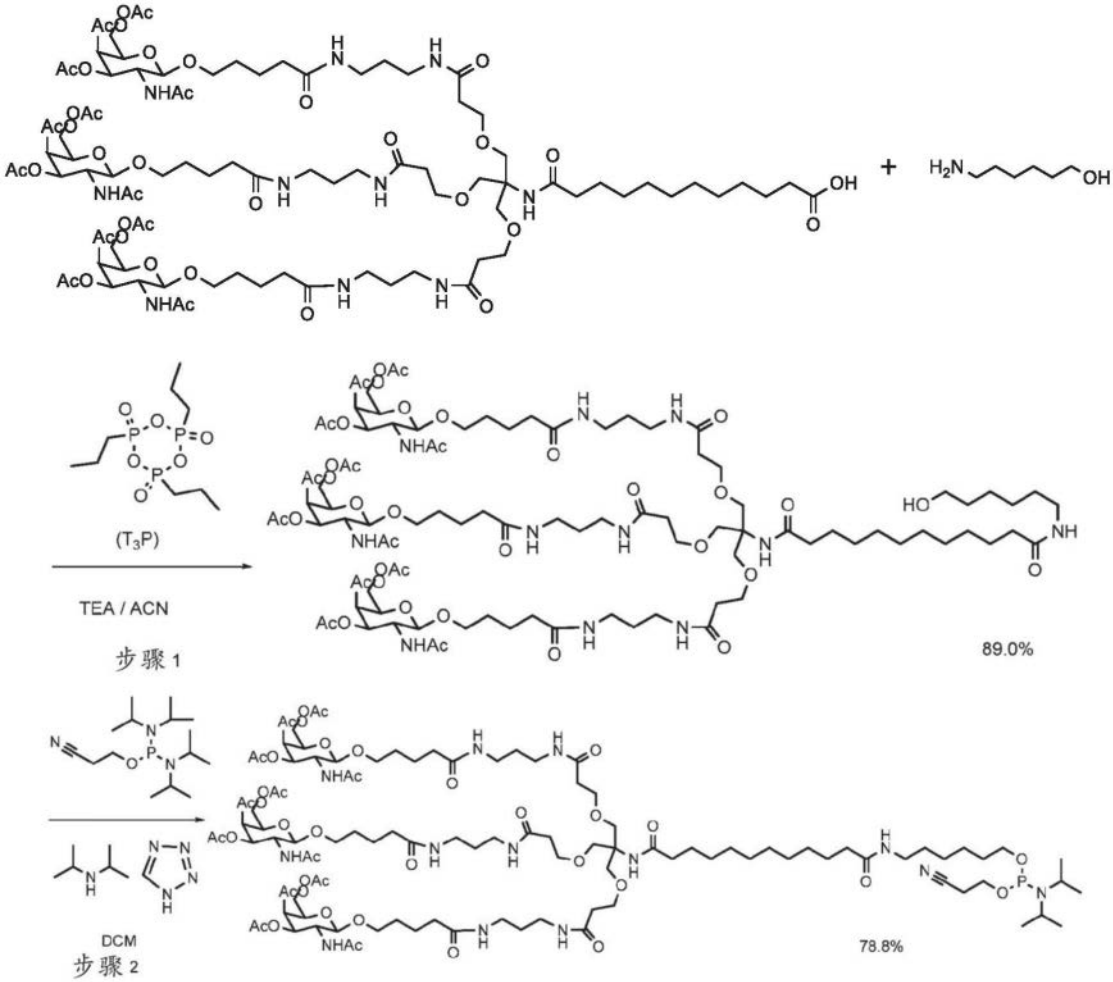
0.42。

[1466] 3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1467] 使用一般程序由WV-NU-279合成亚酰胺9(N568-374)。产率,38%。^{31}P NMR(243MHz,$CDCl_3$)δ150.41;$C_{43}H_{46}N_3O_{10}PS$[M+K]$^+$的MS(ES)m/z计算值:866.23,实验值:866.19[M+K]$^+$。

[1468] 离体随机C12接头三分支GalNAc亚磷酰胺的合成



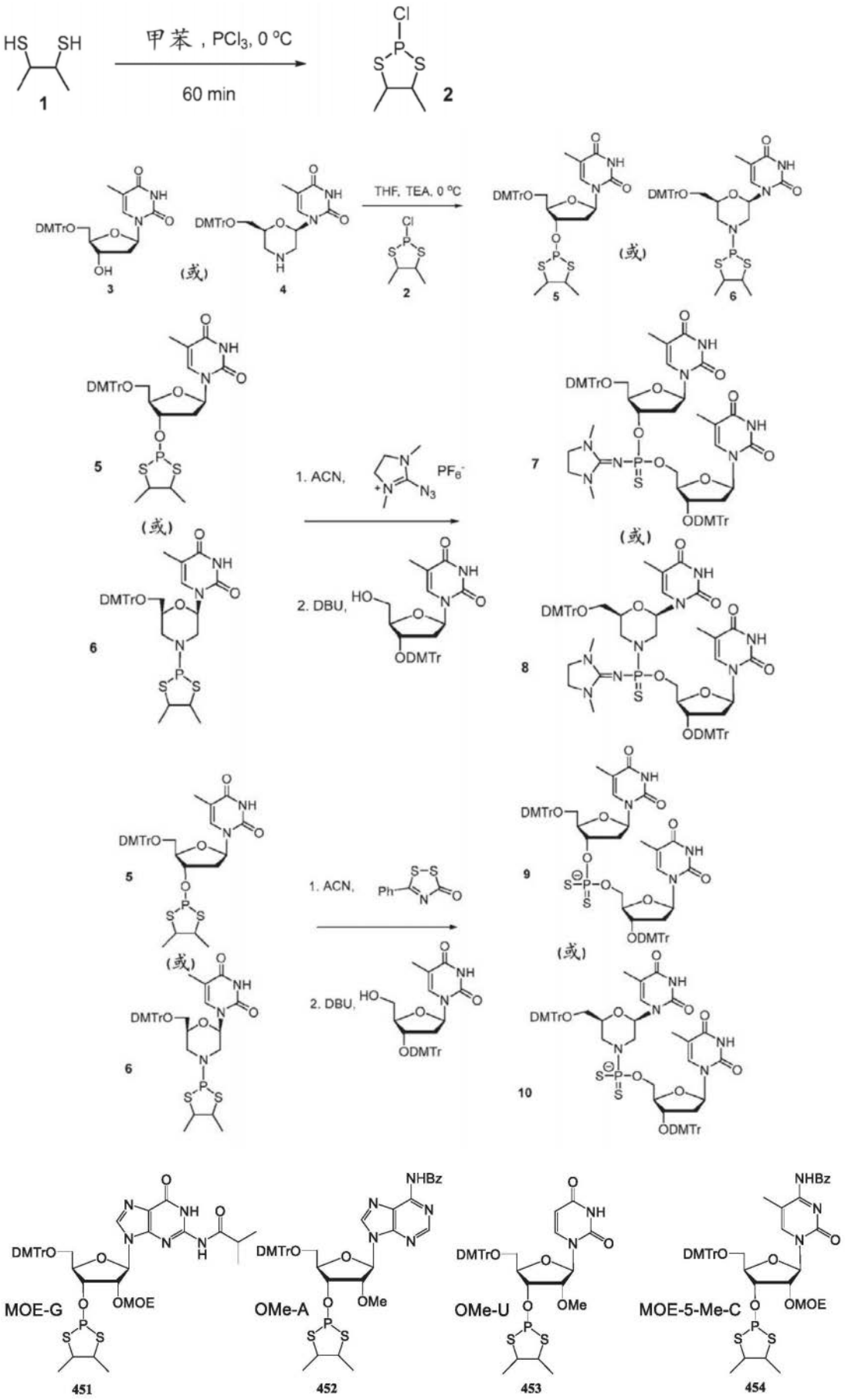
[1469] 步骤1.向6-氨基-1-己醇(8.76g,74.8mmol)在ACN(350mL)中的溶液中添加GalNAc乙酰基衍生物(50.0g,24.9mmol),接着添加三乙胺(10.4mL,74.8mmol)。经10min时间段缓慢添加T3P(31.7g,49.8mmol)(50wt%在ACN中)。在氩气气囊保护下,将反应溶液在rt下搅拌21h。TLC和LCMS显示反应完成。通过硅藻土过滤反应混合物,并浓缩滤液。将所得的粗产物重新溶解在DCM(375ml)中并用水(95mL)洗涤。将有机层与水层之间包括厚褐色层的水层用DCM(4x375ml)反萃取。将厚褐色层释放到有机层中。将所得的混浊有机物经无水硫酸钠

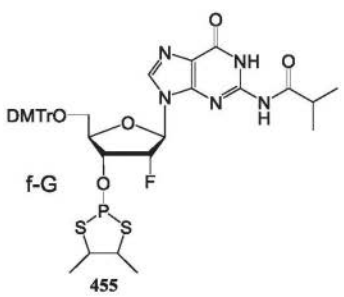
干燥并搅拌30min。有机物变成澄清溶液。将有机物通过塑料过滤漏斗过滤。将滤液浓缩以得到呈泡沫状的粗产物,将该粗产物通过正相柱色谱法(Silica RediSepRf Gold 330g HP柱)使用在DcM中的0-50%MeOH作为梯度纯化,得到呈泡沫状的乙酸[(3R,5S,6R)-5-乙酰胺基-6-[5-[3-[3-[3-[3-[3-[5-[(2R,3S,5R)-3-乙酰胺基-4,5-二乙酰氧基-6-(乙酰氧基甲基)四氢吡喃-2-基]氧基戊酰基氨基]丙基氨基]-3-氧代-丙氧基]-2-[[3-[3-[5-[(2R,3S,5R)-3-乙酰胺基-4,5-二乙酰氧基-6-(乙酰氧基甲基)四氢吡喃-2-基]氧基戊酰基氨基]丙基氨基]-3-氧代-丙氧基]甲基]-2-[[12-(6-羟基己基氨基)-12-氧代-十二酰基]氨基]丙氧基]丙酰基氨基]丙基氨基]-5-氧代-戊氧基]-3,4-二乙酰氧基-四氢吡喃-2-基]甲基酯(46.7g,89.0%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)67.30(t,J=6.3Hz,3H),7.08(t,J=6.1Hz,3H),6.95-6.87(m,3H),6.60(d,J=6.7Hz,1H),6.04(t,J=5.8Hz,1H),5.34(dd,J=3.5,1.1Hz,3H),5.18(dt,J=11.2,3.9Hz,3H),4.61(dd,J=8.3,4.2Hz,3H),4.16(dd,J=11.2,6.4Hz,3H),4.13-4.04(m,6H),3.96-3.87(m,6H),3.69-3.65(m,11H),3.61(t,J=6.6Hz,3H),3.49(ddd,J=9.7,7.4,4.8Hz,3H),3.34-3.20(m,14H),2.43(t,J=5.7Hz,6H),2.30-2.16(m,8H),2.14(s,9H),2.04(s,9H),1.98(s,9H),1.94(s,9H),1.74(dt,J=14.2,7.2Hz,3H),1.70-1.47(m,25H),1.41-1.32(m,5H),1.29-1.22(m,11H)。MS(ESI),2105.21[M+H]$^{+}$。

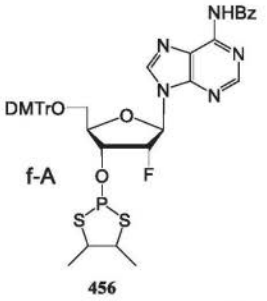
[1470] 步骤2.在35℃下,首先用无水甲苯(2x234mL),然后用1:1比率的无水甲苯/无水ACN(2x234mL),最后用无水ACN(4x234mL)将乙酸[(3R,5S,6R)-5-乙酰胺基-6-[5-[3-[3-[3-[3-[3-[5-[(2R,3S,5R)-3-乙酰胺基-4,5-二乙酰氧基-6-(乙酰氧基甲基)四氢吡喃-2-基]氧基戊酰基氨基]丙基氨基]-3-氧代-丙氧基]-2-[[3-[3-[5-[(2R,3S,5R)-3-乙酰胺基-4,5-二乙酰氧基-6-(乙酰氧基甲基)四氢吡喃-2-基]氧基戊酰基氨基]丙基氨基]-3-氧代-丙氧基]甲基]-2-[[12-(6-羟基己基氨基)-12-氧代-十二酰基]氨基]丙氧基]丙酰基氨基]丙基氨基]-5-氧代-戊氧基]-3,4-二乙酰氧基-四氢吡喃-2-基]甲基酯(46.7g,22.2mmol)共蒸发至干燥。在反应之前,将所得泡沫在高真空下进一步干燥过夜。在氩气气囊保护下,经5min时间段向干燥的GalNAc醇衍生物(46.7g,22.2mmol)在DCM(130mL)中的溶液中缓慢添加2-氰乙基N,N,N,N-四异丙基亚磷酰二胺(14.1mL,44.4mmol)。一次性添加二异丙基铵盐四氮唑(1.52g,8.87mmol)。将所得的反应溶液在rt下搅拌4h。TLC和LCMS显示反应完成。^{31}P NMR显示形成了所期望的主要产物。将反应溶液在rt下浓缩。将所得粗产物通过正相柱色谱法(Silica RediSepRf Gold 330g HP柱)使用在EtOAc中的0-100%ACN(流动相A含有1%的TEA;流动相B含有1%-5%的TEA)作为梯度纯化,得到呈泡沫状的标题化合物(39.8g,77.8%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.25(t,J=6.1Hz,3H),7.01(t,J=6.2Hz,3H),6.86-6.77(m,3H),6.56(d,J=9.7Hz,1H),5.82(t,J=5.7Hz,1H),5.38-5.32(m,3H),5.22-5.15(m,3H),4.61(dd,J=8.3,4.5Hz,3H),4.16(dd,J=11.3,6.5Hz,3H),4.14-4.04(m,6H),3.96-3.88(m,6H),3.87-3.83(m,1H),3.78(ddt,J=10.2,8.0,6.3Hz,1H),3.69-3.65(m,11H),3.58(ddt,J=14.3,7.6,3.6Hz,3H),3.50(ddd,J=9.7,7.4,4.8Hz,3H),3.33-3.19(m,14H),2.64(t,J=6.4Hz,2H),2.46-2.40(m,6H),2.29-2.16(m,8H),2.14(s,9H),2.04(s,9H),1.99(s,9H),1.94(s,9H),1.75(dt,J=14.2,7.2Hz,3H),1.70-1.47(m,25H),1.42-1.31(m,5H),1.30-1.22(m,13H),1.17(dd,J=6.8,5.7Hz,12H)。^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ147.23。MS(ESI),2343.06[M+K]$^{+}$。

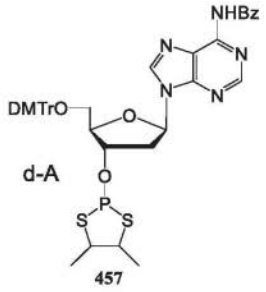
[1471] 下文描述了可用于寡核苷酸制备的另外的化合物的制备,在一些实施例中,以下

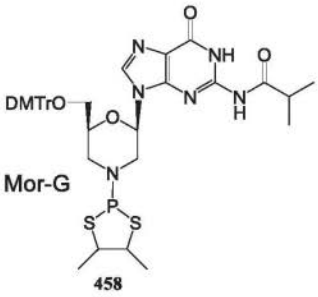
描述了WO 2022/099159中描述的制备：

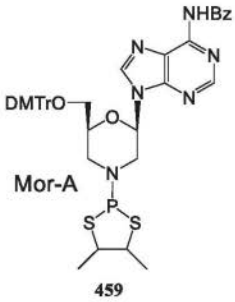


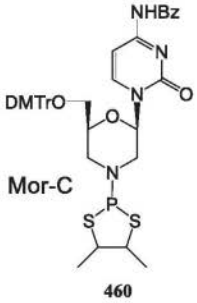

DMTrO
f-G
F
455

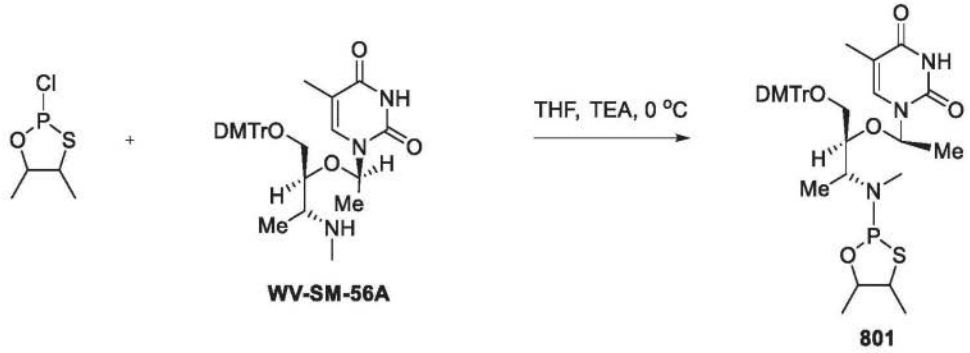

NHBz
DMTrO
f-A
F
456

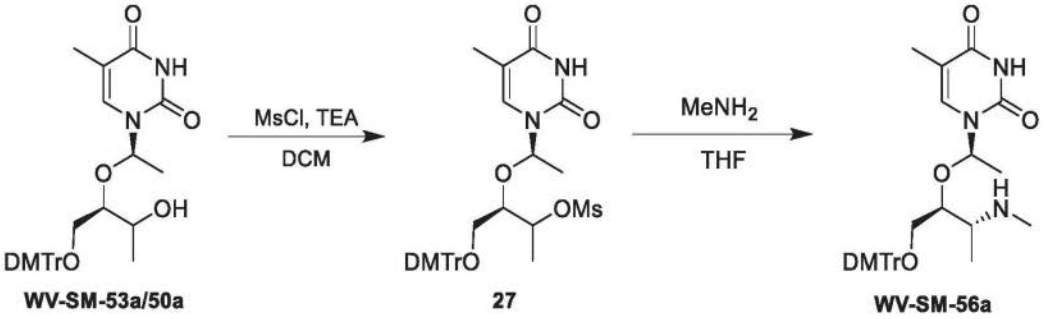

NHBz
DMTrO
d-A
457

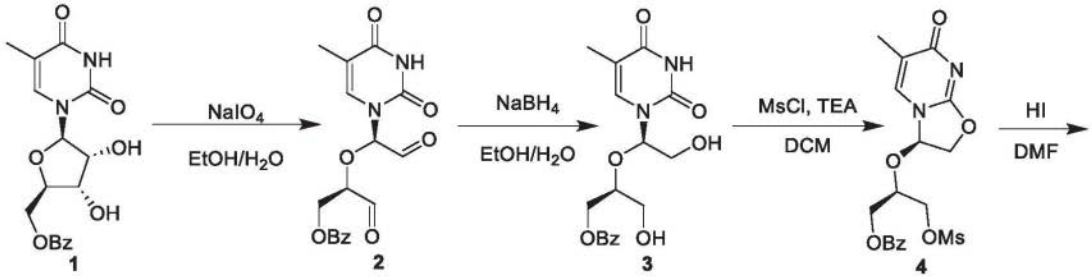

DMTrO
Mor-G
458

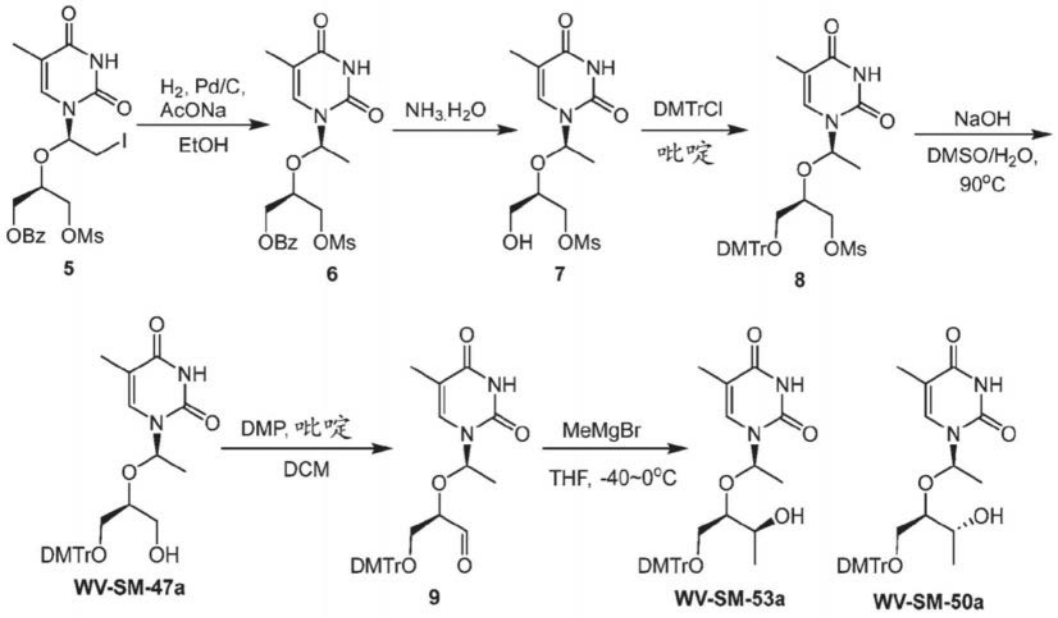

NHBz
DMTrO
Mor-A
459


NHBz
DMTrO
Mor-C
460

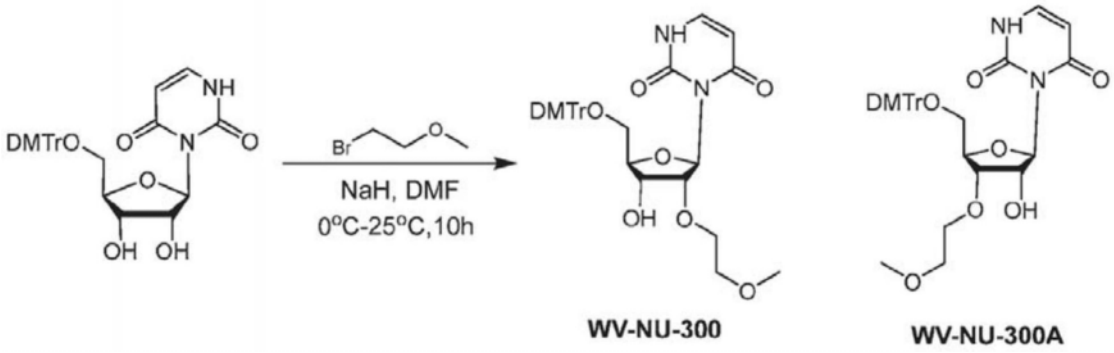

Cl
DMTrO
WV-SM-56A
THF, TEA, 0 °C
DMTrO
Me
801


DMTrO
WV-SM-53a/50a
MsCl, TEA
DCM
OMs
27
MeNH2
THF
WV-SM-56a


NaIO4
EtOH/H2O
NaBH4
EtOH/H2O
MsCl, TEA
DCM
HI
DMF
OBz
1
2
3
OMs
4



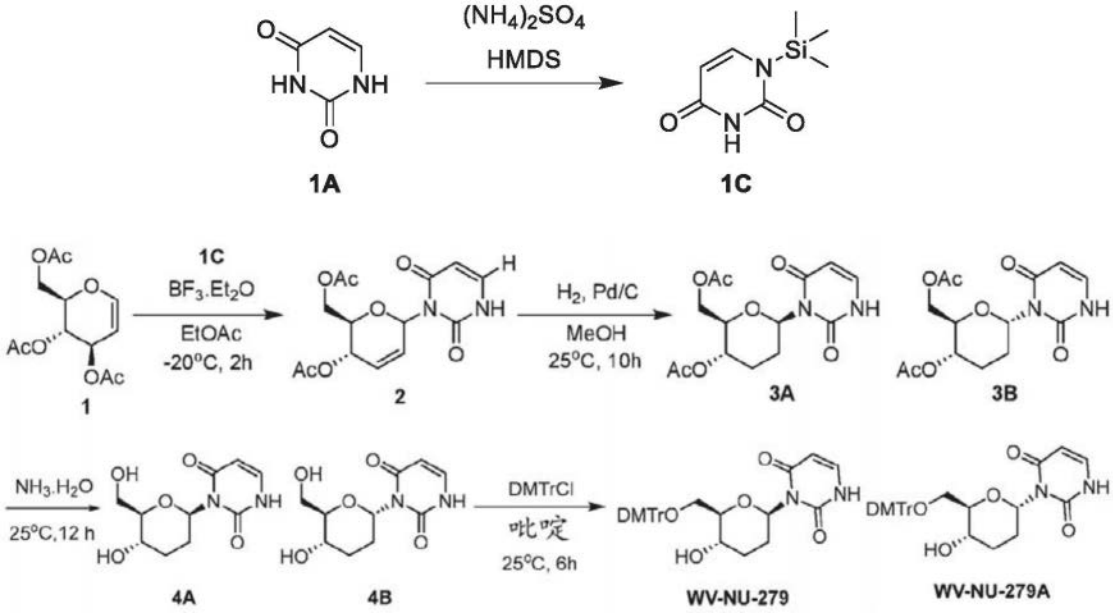
[1472] 3-((2R,3R,4R,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-(2-甲氧基乙氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-300)和3-((2R,3R,4S,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-羟基-4-(2-甲氧基乙氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-300A)的合成



[1473] 对于4批:在0℃下向3-((2R,3R,4S,5R)-54(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(5g,9.15mmol)在DMF(50mL)和NaH(475.65mg,11.89mmol,60%纯度)中的溶液中添加在N_2下的,持续0.5h,并且然后滴加1-溴-2-甲氧基-乙烷(1.27g,9.15mmol),并且将混合物在20℃下搅拌12h。在0℃下在N_2下将水(25mL)滴加到混合物中并用EtOAc(50mL*3)萃取,将合并的有机物经Na_2SO_4干燥,过滤并浓缩以得到粗品。将混合物通过以下纯化:制备型HPLC柱:Waters Xbridge BEH C18 250*50mm*10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:25%-55%,10min]以得到呈黄色固体的WV-NU-300(1.9g,8.52%产率),并且WV-NU-300A(7g,粗品)是黄色固体,将WV-NU-300A通过以下进一步纯化:MPLC:柱:Welch Xtimate C18 250*70mm#10um;流动相:[水(NH_4HCO_3)-ACN];B%:40%-70%,22min以得到呈白色固体的(4g,16%产率)。WV-NU-300:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.27-11.04(m,1H),7.51-7.47(m,1H),7.42-7.38(m,2H),7.31-7.24(m,6H),7.23-7.18(m,1H),6.86(dd,J=5.9,8.9Hz,4H),6.17-6.14(m,1H),5.63-5.58(m,1H),4.77-4.72(m,1H),4.30-4.22(m,2H),3.89-3.82(m,1H),3.76-3.72(m,6H),3.72-3.65(m,1H),3.59-3.52(m,1H),3.47-3.40(m,2H),3.23(s,3H),3.18-3.12(m,1H),3.11-

3.03(m,1H);LCMS:(M-H+):603.2,LCMS纯度:99.22%。WV-NU-300A:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.64(d,J=7.9Hz,1H),7.40(d,J=7.7Hz,2H),7.29-7.16(m,7H),6.89-6.80(m,4H),6.14(d,J=2.3Hz,1H),5.67(d,J=7.8Hz,1H),5.10(br d,J=4.4Hz,1H),4.86(br d,J=7.5Hz,1H),4.32(br d,J=2.0Hz,1H),4.19(q,J=7.1Hz,1H),3.91-3.81(m,3H),3.72(s,6H),3.46(br s,2H),3.20(s,3H),3.17-3.03(m,2H);LCMS:(M-H+):603.2,LCMS纯度:100.00%。

[1474] 3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羟基四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-279)和3-((2S,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羟基四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-279A)的合成



[1475] 步骤1.对于四批:向嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(25g,223.04mmol)在HMDS(192.50g,1.19mol)中的溶液中添加在N_2下的(NH4)2SO4(5.89g,44.61mmol)。将混合物在140℃下搅拌2h。将反应混合物过滤并减压浓缩,以给出呈黄色油状物的化合物1C(102.6g,92.60%产率)。

[1476] 步骤2.对于两批:在-20℃下向化合物1(50g,183.65mmol)在EtOAc(1000mL)中的溶液中添加化合物1C(51.32g,275.48mmol.),然后添加在N_2下的$BF_3.Et_2O$(338.86g,2.39mol.)。将混合物在-20℃下搅拌2h。TLC指示化合物1被完全消耗,并且形成一个新斑点。通过在0℃下添加$NaHCO_3$(500mL)淬灭反应混合物,并且然后用EtOAc(200mL*3)萃取。将合并的有机层经Na_2SO_4干燥,过滤并减压浓缩以给出残余物,以得到呈白色固体的化合物2(78g,粗品)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.23-11.02(m,1H),7.44(brs,1H),6.61-6.39(m,1H),5.99-5.90(m,1H),5.89-5.69(m,1H),5.58(br d,J=7.5Hz,1H),5.28-5.13(m,1H),4.15-3.99(m,3H),2.09-1.97(m,6H);LCMS:(M+H+):325.1。

[1477] 步骤3.向化合物2(78g,240.53mmol)在MeOH(1000mL)中的混合物溶液中添加在H_2(485.87mg,240.53mmol)15psi下的Pd/C(10g,10%纯度)。将混合物在25℃下搅拌10h。LCMS显示检测到所期望质量。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。将粗产物通过以下纯化:制备型HPLC:柱:Welch Xtimate C18 180*70mm#10um;流动相:[水(10mM NH_4HCO_3)-

ACN];梯度:0%-25%B,经17.0min。获得呈白色固体的化合物3A(18g,26.47%产率)。获得呈白色固体的化合物3B(18g,26.47%产率)。化合物3A:^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.10(br s,1H),7.42(d,J=7.6Hz,1H),5.92(dd,J=1.9,11.1Hz,1H),5.55(d,J=7.6Hz,1H),4.59(dt,J=4.6,10.3Hz,1H),4.12-3.97(m,2H),3.75(ddd,J=2.8,5.1,9.8Hz,1H),3.00-2.84(m,1H),2.16-2.08(m,1H),2.03-1.98(m,6H),1.74-1.60(m,2H)。化合物3B:^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.10(br s,1H),7.41(d,J=7.5Hz,1H),6.15(dd,J=4.6,10.8Hz,1H),5.56(d,J=7.6Hz,1H),4.82-4.75(m,1H),4.47-4.40(m,1H),4.16-4.09(m,2H),2.89-2.75(m,1H),2.04(s,3H),1.99(s,3H),1.90-1.80(m,2H),1.61-1.53(m,1H);LCMS:(M+H+):349.1。

[1478] 步骤4.在N_2下,向化合物3A(18g,55.16mmol)在氨水(7M,180mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC指示化合物3A被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩,以给出呈无色油状物的化合物4A(13g,97.29%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.39(d,J=7.5Hz,1H),5.78(dd,J=2.0,11.1Hz,1H),5.52(d,J=7.6Hz,1H),3.68(dd,J=1.6,11.7Hz,1H),3.37(br dd,J=6.3,11.7Hz,3H),3.22-3.15(m,3H),2.89-2.78(m,1H),2.04-1.97(m,1H),1.56-1.37(m,2H);LCMS:(M+H+):243.1,纯度:97.53%。

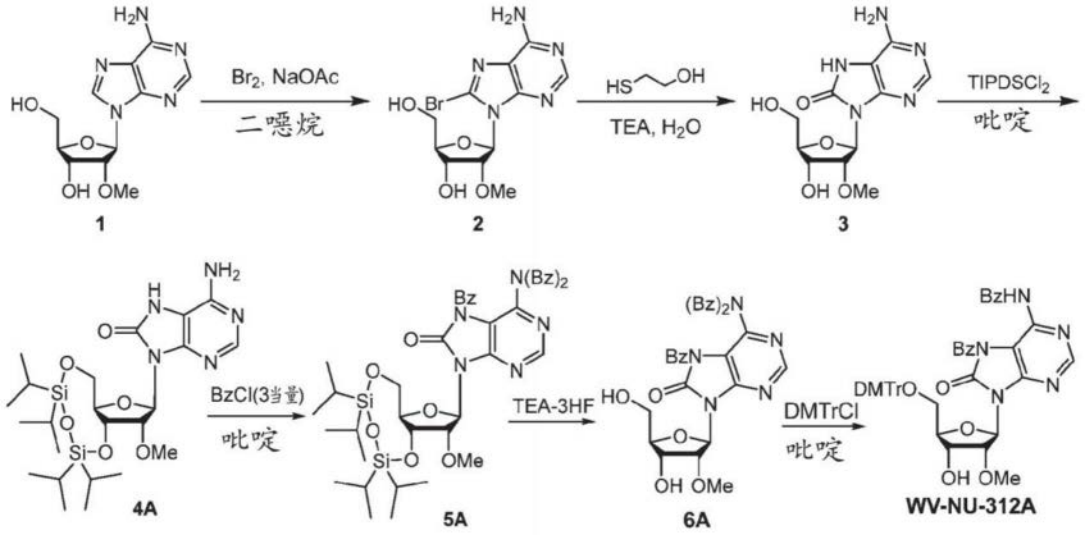
[1479] 步骤4b.在N_2下,向化合物3B(18.00g,55.16mmol)在氨水(7M,180mL)中的溶液中。将混合物在25℃下搅拌12h。TLC指示化合物3B被完全消耗,并且形成一个新斑点。将反应混合物过滤并减压浓缩得到残余物。获得呈无色油状物的化合物4B(13g,97.29%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=7.39(d,J=7.6Hz,1H),6.07(dd,J=4.6,10.8Hz,1H),5.52(d,J=7.5Hz,1H),4.01-3.94(m,1H),3.67-3.43(m,5H),2.83(dq,J=5.2,11.9Hz,1H),1.83-1.66(m,2H),1.48-1.39(m,1H);LCMS:(M+H$^+$):243.1。

[1480] 步骤5.向化合物4A(13g,53.67mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中添加在N_2下的DMT-Cl(18.18g,53.67mmol)。将混合物在15℃下搅拌6h。TLC指示化合物4A被完全消耗,并且形成两个新斑点。通过添加MeOH(20mL)淬灭反应混合物,然后过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=20:1至0:1,至乙酸乙酯:甲醇=5:1,5%TEA)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-279(21g,72.41%产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.11(br s,1H),7.48-7.38(m,3H),7.31-7.15(m,7H),6.83(dd,J=1.8,8.8Hz,4H),5.87(br d,J=10.0Hz,1H),5.59(d,J=7.6Hz,1H),4.73(d,J=6.1Hz,1H),3.72(s,6H),3.47-3.39(m,1H),3.32-3.20(m,2H),2.99(dd,J=6.2,9.9Hz,1H),2.90-2.79(m,1H),2.06-2.00(m,1H),1.58(br d,J=11.3Hz,1H),1.52-1.41(m,1H);LCMS:(M-H$^+$):543.1,纯度:98.8%。

步骤5b.向化合物4B(13g,53.67mmol)在吡啶(200mL)中的溶液中添加在N_2下的DMT-Cl(18.18g,53.67mmol)。将混合物在15℃下搅拌6h。TLC指示化合物4B被完全消耗,并且形成两个新斑点。通过添加MeOH(20mL)淬灭反应混合物,然后过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过以下纯化:柱色谱法(SiO_2,石油醚:乙酸乙酯=20:1至0:1,至乙酸乙酯:甲醇=5:1,5%TEA)。获得呈白色固体的化合物WV-NU-279A(8.8g,30.34%产率),并且8g粗品需要进一步纯化。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ=11.09(s,1H),7.47-7.35(m,3H),7.33-7.16(m,7H),6.91-6.82(m,4H),6.11(dd,J=4.8,10.6Hz,1H),5.58(d,J=7.5Hz,1H),4.73(d,J=5.4Hz,1H),4.31-4.24(m,1H),3.72(s,6H),3.58-3.51(m,1H),3.15-3.08

(m,1H),3.07-2.99(m,1H),2.94-2.81(m,1H),1.78-1.67(m,2H),1.54-1.44(m,1H);LCMS:(M-H$^+$):543.2,LCMS纯度:94.43%。

[1481] N-(7-苯甲酰基-9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基-3-甲氧基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(WV-NU-312A)的合成



[1482] 步骤1.将化合物1(10g,35.55mmol)、Br_2(11.36g,71.11mmol)、NaOAc(0.5M,142.92mL,HOAc缓冲液pH=4.7)在二e烷(300mL)中的混合物脱气并用N_2吹扫3次,并且然后将混合物在N_2气氛下在20℃下搅拌10h。LCMS显示化合物1被完全消耗,并检测到一个具有所期望质量的主峰。通过添加$Na_2S_2O_5$淬灭反应混合物,直至红色消失,并且然后向混合物中添加0.5M NaOH,直至pH=7,并且然后将混合物减压浓缩并减压浓缩,以给出呈白色固体的化合物2(12.8g,粗品)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=8.13(s,1H),7.78-7.41(m,2H),5.92(d,J=6.8Hz,1H),5.50(dd,J=4.0,8.3Hz,1H),5.36(d,J=5.3Hz,1H),4.89-4.81(m,1H),4.46-4.36(m,1H),4.04-3.96(m,1H),3.68(td,J=4.0,12.2Hz,1H),3.55-3.49(m,1H),3.28(s,3H);LCMS(M+H$^+$):362.0。

[1483] 步骤2.向化合物2(12.8g,35.54mmol)在水(130mL)中的溶液中添加TEA(35.96g,355.39mmol)和2-巯基乙醇(13.26g,169.69mmol)。将混合物在100℃下搅拌10h。LCMS显示有化合物2残留。LCMS上显示有几个新峰,并且检测到所期望的化合物。将反应混合物合并并减压浓缩以去除H2O,并且然后将混合物通过RP-MPLC(NH4HCO3,H2O/MeCN)纯化以得到呈黄色固体的化合物3(8g,80%)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ=10.45-10.33(m,1H),8.10-7.98(m,1H),6.66-6.55(m,2H),5.83-5.73(m,1H),5.24-5.14(m,2H),4.69-4.53(m,1H),4.37-4.29(m,1H),3.93-3.85(m,1H),3.64-3.58(m,1H),3.53-3.44(m,1H),3.30-3.27(m,3H);LCMS:(M+H$^+$):298.1。

[1484] 步骤3.向化合物3(10g,33.64mmol)在吡啶(100mL)中的溶液中添加氯-[氯(二异丙基)甲硅烷基]氧基-二异丙基-硅烷(15.92g,50.46mmol),并且将混合物在15℃下搅拌1h。LCMS显示化合物3被消耗,并且获得了所期望的质量。浓缩混合物以得到粗品。将残余物通过MPLC(石油醚:乙酸乙酯=10:1,5:1,1:1)纯化,得到呈黄色油状物的化合物4A(15g,82.61%产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ=10.58(br s,1H),8.11(s,1H),5.79(d,J=

1.1Hz,1H),5.66(br s,2H),5.25(dd,J＝5.4,8.9Hz,1H),4.58(d,J＝5.5Hz,1H),4.09-3.93(m,4H),3.60(s,3H),1.12-1.02(m,26H);LCMS:(M+H$^+$):540.3。

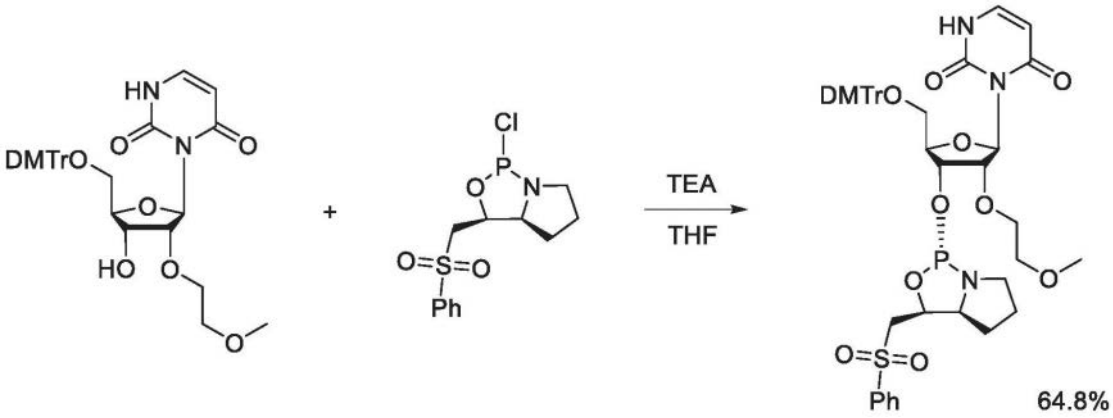
[1485] 步骤4.向化合物4A(13g,24.08mmol)在吡啶(200mL)和BzCl(11.85g,84.30mmol)中的溶液中添加,并且将混合物在15℃下搅拌12h。LCMS显示化合物4A被消耗,并且发现了所期望的质量。将反应混合物减压浓缩以去除吡啶。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化以得到呈黄色固体的化合物5A(13g,63.35％产率)。^{1}H NMR(400MHz,氯仿-d)δ＝8.31(s,1H),7.99(br d,J＝7.4Hz,2H),7.94(br d,J＝7.5Hz,2H),7.87(d,J＝7.3Hz,2H),7.57-7.45(m,3H),7.42-7.33(m,6H),5.91(d,J＝1.1Hz,1H),5.12(dd,J＝5.5,9.3Hz,1H),4.47(d,J＝5.5Hz,1H),4.15-4.05(m,1H),4.03-3.90(m,2H),3.82-3.75(m,1H),3.68-3.62(m,1H),3.60(s,3H),1.11-1.03(m,18H),1.00-0.92(m,8H);LCMS:(M+H+):853.6。

[1486] 步骤5.向化合物5A(13g,15.26mmol)在THF(130mL)中的溶液中添加三乙胺三氟化氢(7.38g,45.77mmol)。将混合物在25℃下搅拌2h。LCMS显示化合物5A被完全消耗,并且检测到所期望的质量。将反应混合物减压浓缩以去除THF。将残余物通过柱色谱法(SiO_2,石油醚/乙酸乙酯＝1/0至0/1)纯化以得到呈白色固体的化合物6A(9g,96.77％产率)。^{1}H NMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝8.54(s,1H),7.89(br s,2H),7.84(br d,J＝7.4Hz,3H),7.65-7.58(m,1H),7.58-7.53(m,2H),7.51-7.40(m,7H),5.82(d,J＝4.3Hz,1H),5.17(d,J＝6.5Hz,1H),4.72(t,J＝5.9Hz,1H),4.57(t,J＝4.9Hz,1H),4.37(q,J＝5.7Hz,1H),3.87-3.78(m,1H),3.61(td,J＝4.6,11.7Hz,1H),3.45(td,J＝6.2,12.0Hz,1H),3.40-3.36(m,3H);LCMS:(M+H+):610.1。

[1487] 步骤6.向化合物6A(9g,14.76mmol)在吡啶(100mL)和DMTCl(5.00g,14.76mmol)中的溶液中添加,并且将混合物在15℃下搅拌1h,TLC(石油醚:乙酸乙酯＝1:2,Rf＝0.63)显示化合物6A被消耗并且发现了新斑点。添加MeOH(10mL)并搅拌10min,并且将混合物浓缩以得到粗品。将残余物通过MPLC(石油醚:乙酸乙酯＝10:1,5:1,1:1)纯化,得到呈白色固体的WV-NU-312A(9g,75.46％产率)。^{1}HNMR(400MHz,DMSO-d6)δ＝8.40(s,1H),7.89(br s,3H),7.83(br d,J＝7.4Hz,2H),7.64-7.57(m,1H),7.54(br s,2H),7.45-7.38(m,6H),7.35(br d,J＝7.2Hz,2H),7.24-7.10(m,7H),6.80(dd,J＝2.9,8.9Hz,4H),5.85(d,J＝3.0Hz,1H),5.17(d,J＝6.8Hz,1H),4.54-4.42(m,2H),4.00-3.96(m,1H),3.70(s,6H),3.39(s,3H),3.17(br d,J＝4.2Hz,2H);LCMS:(M-H+):806.2,LCMS纯度:92.46％。

[1488]

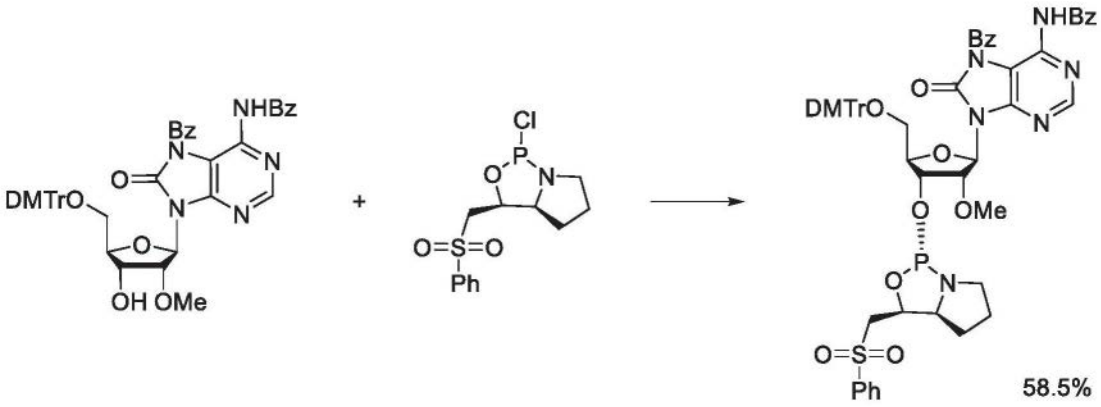
[1489] 3-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-(2-甲氧基乙氧基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基亚磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1490] 向干燥的3-[(2R,3S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-3-(2-甲氧基乙氧基)四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(1.83g,3.03mmol)在THF(14mL)中的溶液中添加三乙胺(0.97mL,6.96mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。经5min时间段滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(在THF中的0.9M溶液,5.38mL,4.84mmol)。去除冰/水浴。将所得的褐色反应浆液在rt下搅拌1.5h。TLC和LCMS显示反应完成。用水(27μL)淬灭反应。添加无水$MgSO_4$(360mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在己烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈褐色灰白色泡沫状的标题化合物(1.74g,64.8%产率)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ7.90-7.86(m,2H),7.61-7.57(m,1H),7.51-7.47(m,2H),7.47-7.44(m,2H),7.36-7.31(m,4H),7.23(dd,J=8.4,7.0Hz,2H),7.18-7.12(m,1H),6.81(d,J=7.7Hz,1H),6.80-6.75(m,4H),6.34(d,J=3.1Hz,1H),5.55(d,J=7.7Hz,1H),5.12-5.06(m,1H),4.85-4.78(m,1H),4.55(dd,J=6.1,3.3Hz,1H),4.10(dt,J=6.7,3.2Hz,1H),3.79-3.76(m,1H),3.744(s,3H),3.742(s,3H),3.66(ddt,J=9.8,5.8,2.9Hz,2H),3.59-3.50(m,2H),3.42-3.34(m,3H),3.33(s,3H),3.34-3.30(m,1H),3.19(dd,J=10.4,6.0Hz,1H),2.87(qd,J=9.7,4.2Hz,1H),1.80(dtt,J=12.2,7.9,3.7Hz,1H),1.74-1.65(m,1H),1.61-1.53(m,1H),1.11-1.05(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,氯仿-d)δ148.84;MS(ESI),886.68[M-H]$^-$。

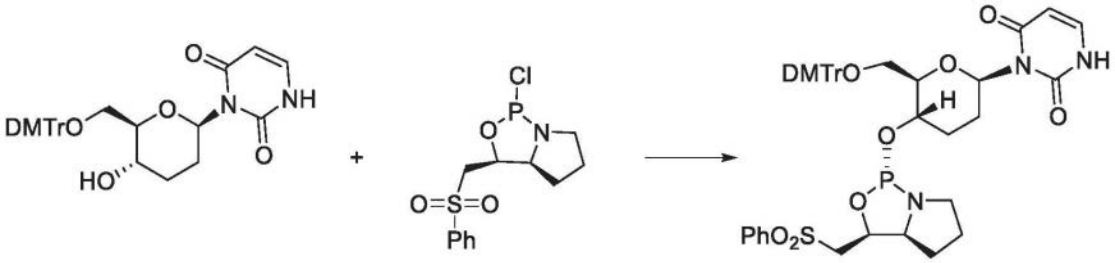
[1491]

[1492] N-(7-苯甲酰基-9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-甲氧基-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



向干燥的N-[7-苯甲酰基-9-[(2R,3S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-3-甲氧基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-嘌呤-6-基]苯甲酰胺(2.50g,3.09mmol)在THF(15mL)中的溶液中添加三乙胺(1.29mL,9.28mmol)。将反应烧瓶置于冰/水浴中。经5min时间段滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(在THF中的0.746M溶液,5.81mL,4.33mmol)。去除冰/水浴。将所得浆液在rt下搅拌1.5h。TLC和LCMS显示反应完成。将反应用水(28μL)淬灭。添加无水$MgSO_4$(372mg)。通过硅藻土过滤混合物,并浓缩滤液。将所得粗产物通过正相柱色谱法使用在已烷中的30%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)作为梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(1.97g,58.5%产率)。^{1}H NMR(600MHz,乙腈-d3)δ8.20(s,1H),7.91-7.88(m,2H),7.86-7.82(m,2H),7.62(tt,J=7.4,1.3Hz,1H),7.60-7.57(m,1H),7.48(t,J=7.8Hz,3H),7.45(t,J=7.9Hz,2H),7.41-7.36(m,4H),7.33(t,J=7.8Hz,2H),7.23(dq,J=8.3,3.3Hz,4H),7.19-7.15(m,2H),7.15-7.11(m,1H),6.79-6.73(m,4H),5.84(d,J=3.3Hz,1H),5.12(td,J=6.8,4.8Hz,1H),5.06(dt,J=9.6,6.0Hz,1H),4.60(dd,J=5.5,3.4Hz,1H),4.03(td,J=6.0,2.6Hz,1H),3.72(s,6H),3.60(dq,J=9.3,5.9Hz,1H),3.51-3.47(m,2H),3.44(s,3H),3.39-3.34(m,1H),3.32(dd,J=10.8,2.8Hz,1H),3.19-3.14(m,1H),2.78(ddq,J=14.2,9.7,4.4Hz,1H),1.78(dtt,J=12.2,8.0,3.8Hz,1H),1.64(tdd,J=15.6,10.8,7.5Hz,1H),1.54(qd,J=8.6,7.7,3.1Hz,1H),1.12(dq,J=11.9,9.3Hz,1H);^{31}P NMR(243MHz,乙腈-d3)δ147.42;MS(ESI),1089.03[M-H]$^-$。

[1493] 3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成。



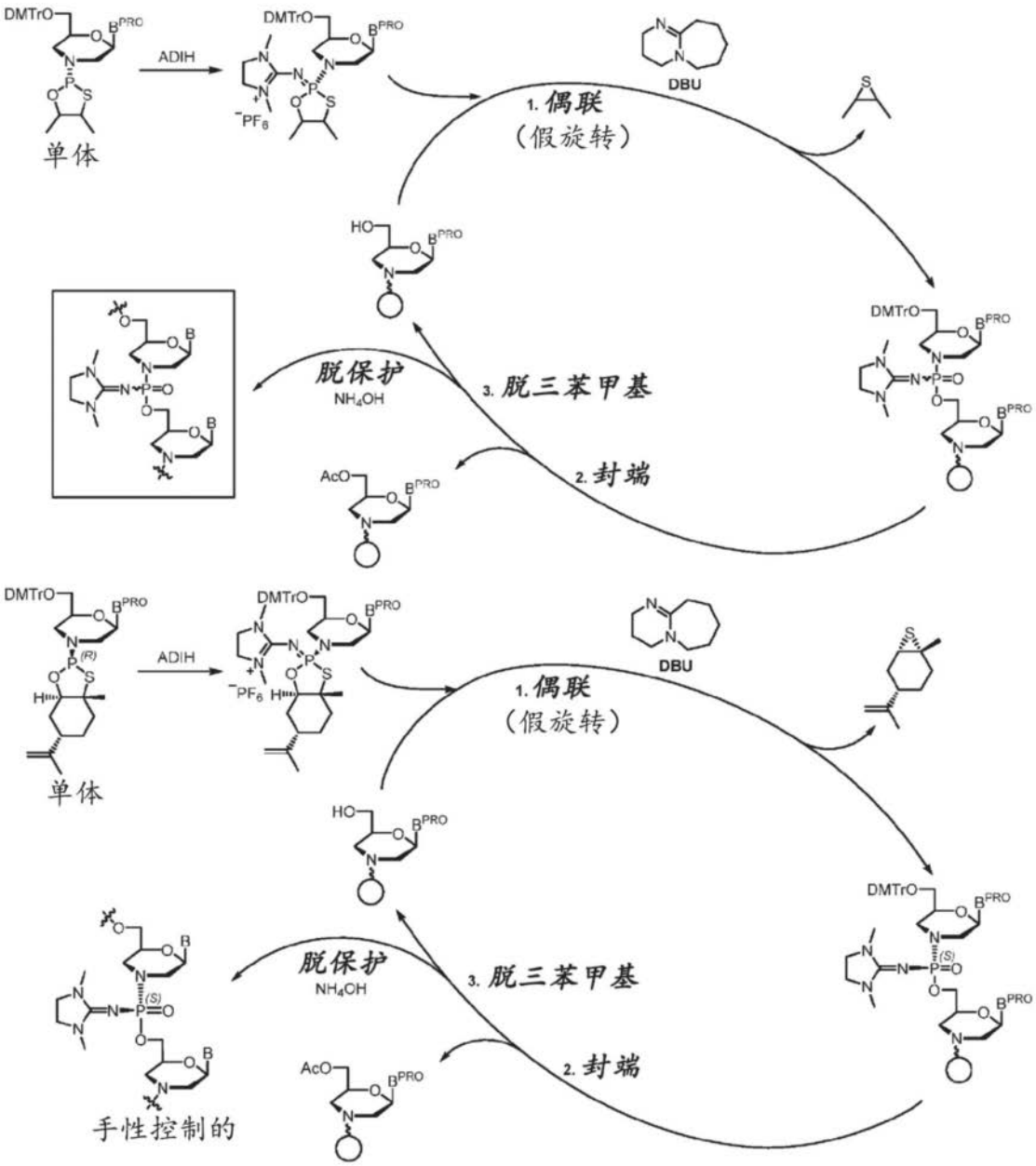
[1494] 根据以上所述的一般程序进行的在THF(40mL)中的3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-羟基四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(8.0g,14.69mmol)、三乙胺(6.14mL,44.06mmol)和(3S,3aS)-1-氯-3-((苯基磺酰基)甲基)

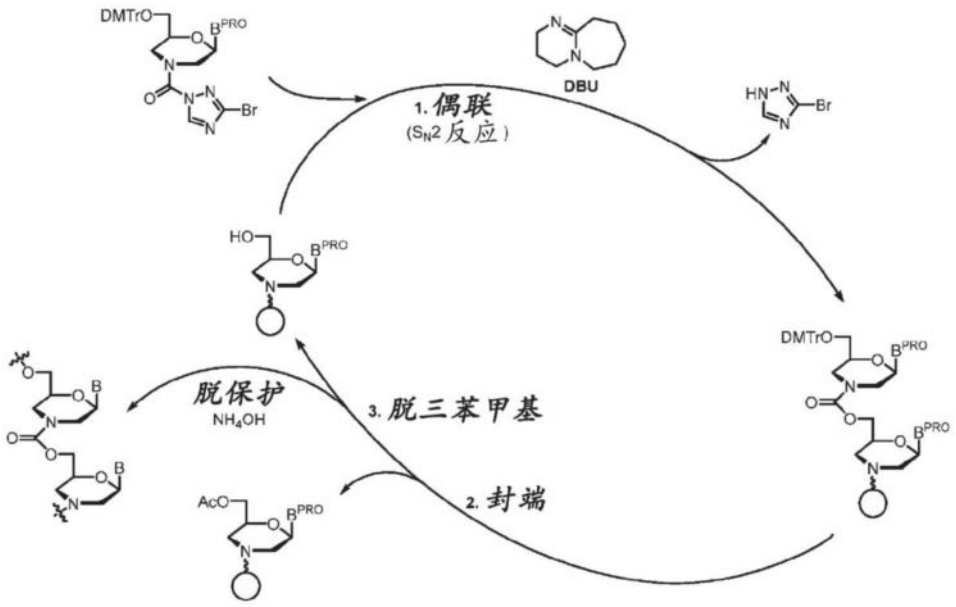
四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M在THF中,26.9mL,24.23mmol)的处理获得呈白色固体的3-((2R,5S,6R)-6-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢-2H-吡喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(7.86g,64.6%)。^{1}H NMR(600MHz,氯仿-d)δ9.93(s,1H),7.89-7.87(m,2H),7.66-7.63(td,J=7.3,1.4Hz,1H),7.56-7.52(m,4H),7.36(dd,J=8.88,6.36Hz,4H),7.26-7.22(m,2H),7.18-7.15(m,1H),6.81(m,4H),6.27(m,1H),6.03(d,J=11.1Hz,1H),5.36(d,J=7.6Hz,1H),4.74(q,J=6.2Hz,1H),4.15(m,1H),3.74(s,6H),3.61-3.56(m,1H),3.53-3.51(m,1H),3.37-3.25(m,4H),3.13(dd,J=10.5,4.8Hz,1H),2.98-2.89(m,2H),2.20(dt,J=9.3,5.3Hz,1H),1.82-1.78(tt,J=8.3,4.5Hz,1H),1.76-1.68(m,3H),1.62(td,J=7.1,2.9Hz,1H),1.08-1.01(m,1H);^{31}P NMR(243MHz,$CDCl_3$)δ150.41;MS(ESI)866.2$[M+K]^+$。

[1495] 实例3.寡核苷酸和组合物的制备。

[1496] 用于制备寡核苷酸和寡核苷酸组合物(立体随机的和手性控制的)的各种技术可以根据本披露使用,包括例如在以下文献中描述的方法和试剂:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858和/或WO 2022/099159,它们各自的方法和试剂通过援引并入本文。制备并评估了许多寡核苷酸及其组合物,例如表1中的各种寡核苷酸及其组合物,并证实其提供多种活性,例如腺苷编辑。

[1497] 下面描述了某些有用的循环作为制备寡核苷酸的实例。


DMTrO
B^PRO
ADIH
单体
DBU
1. 偶联
(假旋转)
脱保护
NH4OH
3. 脱三苯甲基
2. 封端
AcO
HO
手性控制的



每个B独立地是核碱基,诸如本文所述的BA(例如,A、C、G、T、U等)。每个B^{PRO}独立地是任选地被保护的核碱基,诸如本文所述的BA(例如,A^{bz}、C^{ac}、G^{ibu}、T、U等,适用于寡核苷酸合成)。如所示,可以构建各种键联以将单体连接到核苷或寡核苷酸,包括在固体支持物上的那些。如本领域技术人员所理解的,这些循环可以用于将单体偶联至各种其他类型糖的-OH。

[1498] 在一些实施例中,制备包括一个或多个DPSE和/或PSM循环。

[1499] 合成并评估了许多寡核苷酸组合物,包括例如图中的那些。

[1500] 如本文所述和证实的,本披露的技术可用于制备包含多种结构特征的寡核苷酸的多种组合物。在一些实施例中,如本文所证实的,所提供的技术,例如,利用包含吸电子基团的手性助剂(例如,包含吸电子基团(例如,$-SO_2R^{C1}$、$-C(O)R^{C1}$等)的R^{C11})的那些技术,尤其可用于制备包含2'-OH糖(例如,R^{2s}=OH的糖,诸如典型地在天然RNA中发现的糖)的寡核苷酸的手性控制的组合物,尤其当这样的糖键合到手性控制的核苷酸间键联时。

[1501] 下面以实例描述有用的GalNAc缀合方案。预缀合材料:WV-47595.01(.01表示批次号)。产物材料:WV-46312.01。对于寡核苷酸结构,参见例如WO 2022/099159。

试剂	现有方案的分子量	当量	体积(mL)
WV-47595	10050.80	1	-
三分支GalNAc酸	2006	1.8	-
HATU	382	1.4	-
DIEA	129	10	-
乙腈		-	4

水性寡核苷酸溶液			
寡核苷酸溶液	浓度 (mg/mL)	总体积 (mL)	总量 (mg)
WFI 水中的 WV-47595	50	8	400

[1502] 在50mL塑料管中称出三分支GalNAc酸(羟基基团作为-OAc被保护)和HATU,并将其溶解在无水乙腈中,然后将DIEA添加到管中。将所得混合物在37℃下搅拌10min。将冻干的WV-47595在单独的管中在水中重构,并将GalNAc混合物添加到寡核苷酸溶液中,并在37℃下搅拌60min。通过RP-UPLC监测反应。发现反应在1h内完成。将反应混合物真空浓缩以去除乙腈,并将所得的GalNAc缀合的寡核苷酸在37℃下用浓氨水处理2h。通过质谱法和RP-UPLC确认最终产物的形成。通过阴离子交换色谱法纯化缀合材料,并使用切向流过滤(TFF)脱盐,以获得最终产物(目标质量:12110.65;观察质量:12112.3)。使用类似的程序制造了各种寡核苷酸和组合物。

[1503] 还可以通过与包含这样的另外的化学部分(和任选的接头)的亚磷酰胺(例如,包含GalNAc的亚磷酰胺,诸如实例2中所述的那些)偶联来安装另外的化学部分。下面以实例说明用于制备寡核苷酸的另外的技术。

[1504] 用于制备寡核苷酸组合物的示例程序(50μmol规模)

[1505] 使用MerMade12合成器和标准CPG以50umol规模合成某些立体纯寡核苷酸。在一些实施例中,使用亚酰胺方法将GalNAc掺入5’末端。通常,氰基乙基亚酰胺用于制备PO键联,DPSE亚酰胺用于制备PS键联,并且PSM亚酰胺用于制备PN键联。下表概述了典型的MerMade12,50umol循环:

步骤	操作	试剂和溶剂	体积	大约总时间
1	脱三苯甲基	甲苯中的 3%二氯乙酸	4 x 4.5 mL	5 min
2	单一偶联	ACN/IBN 组合中的 0.15 M 亚磷酰胺和 ACN 中的 0.5 M CMIMT	2.25 mL / 1.5 mL	5.5 min
3	封端 1	80% THF / 10% 2,6-二甲基吡啶 / 10% 乙酸酐	5 mL	4 min
4	氧化(PO)	在 70% THF/20%吡啶/10%水中的 0.02 M 碘	6 mL	2 min
	硫化(PS)	在 50%吡啶/50% ACN 中的 0.1 M 氢化黄原素	5-6 mL	6.5 min
	PN	ACN 中的 0.3 M ADIH	6 mL	6.5 min
5	封端 2	80% THF/10% 2,6-二甲基吡啶/10%乙酸酐和 THF 中的 16% n-甲基咪唑	2.5 mL/2.5 mL	1.5 min

CMIMT:N-氰基甲基咪唑鎓三氟甲磺酸盐;ACN:乙腈;IBN:异丁腈;ADIH:2-叠氮基-

4,5-二氢-1,3-二甲基-1H-咪唑鎓六氟磷酸盐;THF:四氢呋喃。进行多次循环直至达到所需的长度。

[1506] GalNAc亚酰胺以单次10-15min或两次x10min的程序偶联。对于每次偶联,添加2.20-2.25mL的0.1M GalNAc亚酰胺和1.5mL的ACN中的CMIMT。

[1507] 脱保护的第一步是在合成器上进行的。将6mL的ACN中的20%二乙胺添加到柱上,持续15min,随后用ACN洗涤并干燥。将CPG转移至管中并添加5mL氟化物溶液。氟化物溶液由二甲亚砜、水、三乙胺三氢氟酸盐和三乙胺(体积比15.5/3.1/1.0/1.8)组成。室温下约1小时后,添加大约10mL的30%氢氧化铵,并将反应在37℃下孵育过夜。滤出CPG并用水洗涤,并收集滤液。

[1508] 在室温下通过阴离子交换纯化来纯化寡核苷酸。用20mM基于氢氧化钠的流动相平衡后,将寡核苷酸加载到装有Source Q15树脂的柱上。用20mM氢氧化钠和2.5M氯化钠的流动相通过梯度洗脱将纯化的寡核苷酸作为级分洗脱。分析级分,合并至所需纯度,并使用G-25Sephadex柱进行脱盐,置换到注射用水中。在进行最终分析(包括UPLC、LC-MS和UV-Vis)之前,对脱盐样品进行干燥、重构和无菌过滤。

[1509] 实例4.所提供的技术可以提供具有改善的特性和/或活性的产品。

[1510] 如本文所述,在一些实施例中,所提供的技术可以校正突变并提供各种产物(诸如蛋白质)的改善或恢复的水平、特性和/或活性。例如,在一些实施例中,所提供的技术校正突变并提供蛋白质,例如具有改善或恢复的水平、特性和/或活性的野生型蛋白。在一些实施例中,与施用所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物等)之前的相应蛋白质相比,所提供的技术提供增加水平的所需蛋白质,例如具有改善的特性和/或活性的蛋白质。在一些实施例中,所提供的技术提供增加水平的野生型蛋白。在一些实施例中,所提供的技术提供增加水平的正确折叠的蛋白质。尤其是,本披露使用SERPINA1中的1024G>A的编辑作为实例,提供了证实各种这样的益处的数据。

[1511] 在一些实施例中,利用包含人SERPINA1中的1024G>A突变的细胞、组织或动物来评估所提供的技术。在一些实施例中,动物是NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1*E342K)#Slcw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1 Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植物和基因组编辑的肝细胞治疗α-1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优点]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015.Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors.[用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝]Mol Ther[分子疗法]23(12):1867-76PubMed:26403887MGI:J:230567)。在一些实施例中,利用来自这样的动物的细胞、组织或器官来评估所提供的技术。

[1512] 在一些实施例中,将原代鼠肝细胞铺板到96孔板的孔中,询问每个时间点的一个板。在合适的时间段(例如,24小时)之后,施用寡核苷酸组合物,例如,在一些实施例中,使

用合适的技术(例如,RNAiMAX)作为制造商的说明书,用25nM最终寡核苷酸浓度的寡核苷酸组合物来转染细胞。收集培养基用于蛋白质分析(例如,使用ELISA),并且在合适的时间点(例如,120小时)收集细胞用于RNA编辑分析(例如,在RNA裂解缓冲液(普洛麦格公司(Promega))中用于稍后测序)。

ELISA.在一些实施例中,根据制造商的说明书使用A1AT ELISA测定,例如Abcam-ab108799测定评估A1AT蛋白浓度。在一些实施例中,使用在稀释剂中稀释至25ng/ml并连续稀释2倍持续7点的重组A1AT蛋白生成标准品。在3000g下离心10分钟使细胞培养基澄清,然后在稀释剂中稀释1至400。将制备的标准品和稀释的培养基添加到包被并封闭的96孔板的SERPINA1抗体孔中,并在室温下孵育2小时。用所提供的ELISA洗涤缓冲液洗涤板6次(300uL/孔),然后将生物素化的SERPINA1抗体在稀释剂中稀释至1X,并添加到每个孔中,在室温下持续1小时。如先前所述洗涤孔,并且将在稀释剂中稀释至1X的链霉亲和素-过氧化物酶复合物添加到每个孔中,在室温下持续30分钟。在将3,3′,5,5′-四甲基联苯胺(TMB)添加到每个孔之前最后一次洗涤孔,并且将板显影20分钟,之后添加终止溶液。然后在450nm和570nm处读取板。从450nm的读数中减去570nm的读数以说明光学不完整性,并对板进行定量。

[1513] 实例5.所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用。

[1514] 如本文所证实的,尤其是,所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用,例如通过mRNA中的腺苷编辑和改变由其编码的多肽中的氨基酸残基的身份。在一些实施例中,所提供的技术通过例如编辑一种或多种蛋白质的一个或多个氨基酸残基来调节蛋白质-蛋白质相互作用、活性和/或功能。如本文所展示的,Keap1或Nrf2的各种残基的编辑可以调节它们的相互作用、活性和/或功能。例如,在一些实施例中,Keap1或Nrf2的残基的编辑增加Nrf2的水平、可以被Nrf2激活的核酸的转录和/或Nrf2调节的基因的表达。据报道,Keap1与NRF2相互作用并介导NRF2蛋白酶体降解。在一些实施例中,破坏Keap1与NRF2之间的相互作用允许NRF2的转录后上调和NRF2易位至细胞核,在其中它可以激活NRF2调节的基因的转录。如本文所展示的,设计各种寡核苷酸以靶向Keap1或Nrf2转录物中的特异性编辑位点。

[1515] 证实所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质活性和/或表达水平的额外数据在图8、9和10中呈现。如本文所展示的,设计各种寡核苷酸以靶向NRF2转录物中的特异性编辑位点。如图10(a)所示,各种寡核苷酸组合物可以在原代小鼠肝细胞中的NRF2转录物中的多个位点处提供编辑。经由裸摄取以指定浓度(例如,5、1、0.2、0.04、0.008、0.0016uM)对原代小鼠肝细胞给药靶向NRF2的指定寡核苷酸组合物,持续48小时。所有寡核苷酸都是GalNAc缀合的。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,NRF2转录物的编辑可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的调节,这可以提供由Nrf2调节的下游基因(例如,NQO1、SLC17a)的表达水平的调节。如图10(b)和(c)所示,各种寡核苷酸组合物可以提供Nrf2调节的基因(例如,NQO1、SLC17a)的基因表达的调节。通过qPCR定量Nrf2调节的基因(例如,NQO1、SLC17a)表达的倍数变化。在一些实施例中,各种寡核苷酸组合物展示出NRF2转录物的剂量依赖性编辑。在一些实施例中,NRF2转录物的剂量依赖性编辑提供由Nrf2调节的下游基因(例如,NQO1、SLC17a,如图10所示)的表达水平的剂量依赖性改变。在一些实施例中,在某些腺苷/氨基酸残基处的编辑比其他腺苷/氨基酸残基更多地调节Nrf2-Keap1相互作用和/或表达。

[1516] 如本文所展示的,各种寡核苷酸可以提供蛋白质-蛋白质相互作用的体内调节,例如通过mRNA的体内编辑和改变由其编码的多肽中的氨基酸残基的身份。在第0、2和4天,以10mg/kg对小鼠皮下给药指定的寡核苷酸组合物或PBS对照。所有寡核苷酸都是GalNAc缀合的。在第7天,将动物处死并收获肝脏和肾。经由Sanger测序分析样品的编辑,并且通过qPCR分析由Nrf2调节的下游基因(例如,NQO1)的表达。经由单向方差分析与图基多重比较测试分析数据。如图8所示,各种寡核苷酸组合物可以在体内提供NRF2转录物的编辑。进一步,如图9(a)和(b)所示,各种寡核苷酸组合物可以提供由Nrf2调节的下游基因(例如,NQO1、GSTM1)的表达水平的调节。在一些实施例中,NRF2转录物的编辑在体内提供Nrf2的上调和Nrf2调节的基因(例如,NQO1、GSTM1)的转录的激活。在一些实施例中,对来自小鼠的肝脏样品进行RNAseq转录组分析,这证实了寡核苷酸组合物(诸如本文所述的那些)可以提供Nrf2蛋白质-蛋白质相互作用的调节和各种基因(例如,Cyp4v3、Igf1、Tsc22d1、Nudt7、Cipc、Abcg5、Gstm4、Ugdh、Akr1a1、Abcc3、Ces1g、Ppfibp2、Slc35d1、Ubap1、Ikbkg、Htatip2、Cds2、Gstm3、Txnrd1、Gsr、Nqo1、Slc48a1、Hexa、Cd36、Srxn1、Cbr3、Gstm2、Pgd)的表达的调节。本领域技术人员理解,本文所述的各种寡核苷酸设计可以应用于调节多肽之间的相互作用并调节其功能和活性。

[1517] 证实所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质活性和/或表达水平的额外数据在图46中呈现。如图46(a)所示,各种寡核苷酸组合物可以提供原代人肝细胞中的靶NRF2转录物的编辑。在裸条件下,对原代人肝细胞给药增加浓度(例如,0.0016、0.008、0.04、0.2、1、5uM)的靶向NRF2转录物的指定寡核苷酸(AIMer)(每组N=2)。48h后收集RNA,并且通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,各种寡核苷酸组合物展示出NRF2转录物的剂量依赖性编辑。如图46(b)所示,各种寡核苷酸组合物可以提供Nrf2调节的基因(例如,SLC17A11)的基因表达的调节。通过qPCR定量SLC17A11mRNA表达的倍数变化。在一些实施例中,NRF2转录物的剂量依赖性编辑提供由Nrf2调节的下游基因(例如,SLC17A11)的mRNA表达水平的剂量依赖性改变。

[1518] 实例6.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1519] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,并且证实了其能够提供各种活性和优点。

[1520] 例如,所提供的技术尤其提供了关于寡核苷酸长度的灵活性。如图1中所证实的,不同长度(例如约26、27、28、29或30个核苷)的寡核苷酸组合物可以提供不同水平的编辑。在一些实施例中,在核苷的与靶腺苷相反的3'侧存在约4、5、6或更多个核苷,并且/或者在核苷的与靶腺苷相反的5'侧存在约19、20、21、22、23或更多个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b008U及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式,可以提供编辑活性

[1521] 实例7.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1522] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。如图2中所证实的,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰

的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)、LNA糖等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b008U及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在表达人ADARp110和人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中通过裸摄取以多剂量浓度测试寡核苷酸。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,如图2所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。尤其是,双环糖(诸如LNA糖)可以在所提供的技术中使用,包括与靶腺苷相反的核苷和附近的核碱基处。在一些实施例中,与靶腺苷相反的N_0的糖是双环糖。在一些实施例中,N_1的糖是双环糖。在一些实施例中,N_{-1}的糖是双环糖。在一些实施例中,双环糖是LNA糖。在一些实施例中,双环糖是cEt糖。在一些实施例中,双环糖是(S)-cEt糖。

[1523] 实例8.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1524] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。如图3中所证实的,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b001rA、b006A、b008U、b008Usm15、b014U、Csm15、Usm15、zdnp等及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在表达人ADARp110和人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中通过裸摄取以多剂量浓度测试寡核苷酸。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,如图3所示,当与靶标杂交时,包含经修饰的核碱基和/或经修饰的糖的经修饰的核苷与靶标腺苷相反。在一些实施例中,在其他位置(例如,N_1、N_{-1}等)处利用经修饰的核碱基。

[1525] 实例9.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1526] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。如图4中所证实的,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b001rA、b005A、b008C、b008U、Csm15等及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在表达人ADARp110和人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中通过裸摄取以多剂量浓度测试寡核苷酸。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,如图4所示,当与靶标杂交时,包含经修饰的核碱基和/或经修饰的糖的经修饰的核苷与靶标腺苷相反。在一些实施例中,在其他位置(例如,N_1、N_{-1}等)处利用经修饰的核碱基。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的两个独立地包含经修饰的核碱基。在一些实施例中,N_1、N_0和N_{-1}中的每个独立地包含经修饰的核碱基。

[1527] 实例10.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1528] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的

寡核苷酸。如图5中所证实的,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b004A、b008U等及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在表达人ADARp110和人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中通过裸摄取以多剂量浓度测试寡核苷酸。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,如图5所示,可以在不同的位置处利用经修饰的核碱基(例如,b004)。在一些实施例中,与在其他位置(例如,WV-50320(在N_0处))利用时相比,经修饰的核碱基(例如,b004)在某些位置(例如,WV-50329)处利用时可以提供更高水平的活性。

[1529] 实例11.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1530] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。如图6中所证实的,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR^{ak}修饰的糖(其中R^{ak}是任选地经取代的c_{1-6}脂肪族基;例如,2'-OMe修饰的糖)等及其模式)、核碱基(例如,未修饰和经修饰的碱基,例如b008U、Csm19等及其模式)、核苷酸间键联(例如,PO键联(例如,天然磷酸酯键联)、不带负电荷的核苷酸间键联、PN键联(例如,磷酰基胍键联)、PS键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)等及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在表达人ADARp110和人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中通过裸摄取以多剂量浓度测试寡核苷酸。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,如图6所示,某些糖(例如,sm19)可以提供更高水平的活性(例如,当与参考糖(诸如DNA糖)相比时)。在一些实施例中,N_0包含经修饰的糖。在一些实施例中,N_0的糖包含6元环。在一些实施例中,N_0的糖是sm19。

[1531] 实例12.所提供的技术可以在体内提供编辑并增加AAT蛋白水平。

[1532] 尤其是,所提供的技术可以在体内提供编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以编辑来自SERPINA1PiZ等位基因的转录物以校正1024G>A(E342K)突变。如本文所证实的,在一些实施例中,所提供的技术可以增加血清AAT水平,包括达到可用于治疗的水平。

[1533] 例如,在一些实施例中,在NSG-PiZ小鼠中评估寡核苷酸WV-46312、WV-49090和WV-49092(在一些小鼠中,PBS作为参考)。证实了M-AAT蛋白的有效编辑和产生。对7周龄NSG-PiZ小鼠(每组n=5),每两周皮下施用10mg/kg寡核苷酸。对于一些小鼠,施用3x 10mg负荷剂量(第0周的第0、2、4天)。数据证实,在第13周,在肝脏活检中观察到(在具有或无负荷剂量情况下)约50%或更多的编辑(通过Sanger测序对SERPINA1编辑进行定量;针对多重比较(图基)进行调整的单向方差分析)。每周通过ELISA定量总血清AAT蛋白。与PBS相比,在评估血清AAT蛋白水平的每个时间点(长达至少约13周),血清AAT蛋白水平增加。在一些实施例中,观察到在奇数周(给药后1周,例如第1周、第3周、第5周等)评估的血清AAT水平高于随后在偶数周(给药后两周,例如第2周、第4周、第6周等)评估的血清AAT水平。随着负荷剂量的增加,血清AAT水平在每个时间点增加到约600ug/mL或更高(例如,在一些实施例中,约600、800、1000、1200、1400或1600ug/mL或更高)(总血清AAT蛋白通过ELISA定量;针对多重比较(图基)进行调整的双向方差分析)。在一些实施例中,在例如第13周观察到血清AAT蛋白水平增加约4-7倍或更多。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情

况下提供有效的编辑。在一些实施例中,观察到负荷剂量在早期时间点(例如,第1-3周)提供更高水平的编辑,而在几周后,例如第4周,没有观察到血清AAT水平的显著差异(在具有或不具有负荷剂量的情况下),证实例如根据所期望的效果,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情况下使用。

[1534] 在另一种动物模型(hADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因小鼠)中评估了某些寡核苷酸。尤其是,还证实了编辑和血清AAT蛋白水平增加。例如,每两周向8-10周龄小鼠皮下施用10mg/kg Wv-46312(也可在第0、2和4天作为负荷剂量)。每周或每两周通过ELISA定量总血清AAT蛋白。与施用PBS的小鼠相比,施用WV-46312的小鼠的血清AAT蛋白水平在所有评估时间点均增加。在一些实施例中,观察到在奇数周(给药后1周,例如第1周、第3周、第5周等)评估的血清AAT水平高于随后在偶数周(给药后两周,例如第2周、第4周、第6周等)评估的血清AAT水平。在研究中,在几周内,并且在第9周之后一直到第19周(分析的最后一周,第18周给药后一周),血清AAT水平持续增加至约600ug/mL或更高(在一些实施例中,约800ug/mL或更高)。在一些实施例中,在第19周观察到血清AAT蛋白水平增加约5倍或更多。在一些实施例中,在第19周时观察到约60%RNA编辑(通过对来自肝脏活检样品进行Sanger测序来评估;PBS处理未观察到编辑)。如先前所展示并再次证实的,产生了M-AAT:在一些实施例中,观察到约70%的血清AAT是M-AAT(通过对来自肝脏活检样品进行质谱法来评估)。使用可用嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制测定和小鼠血清样品,还证实与PBS相比,嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制显著增加(例如,对于PBS,给药前平均相对弹性蛋白酶抑制百分比为约25%,第19周时低于20%;对于WV-46312,给药前平均相对弹性蛋白酶抑制百分比为约25%,第19周时超过60%;混合效应分析,第19周时$p<0.001$)。证实了,与PBS相比,%PAS-D阳性面积可以显著降低(例如,对于PBS,在第4、8和19周时,平均%PAS-D阳性面积超过5%;对于WV-46312,在这些时间点均低于5%;双向方差分析,$p<0.01$)。数据证实小叶炎症减少:例如,在第19周,对于WV-46312,小叶炎症等级为约1或更低,而对于PBS,小叶炎症等级为约3或更高(等级基于小叶中炎症病灶的数目:等级0:0个;等级1:1-5个;等级2:6-10个;等级3:11-15个;以及G4≥16个;使用HALO图像分析软件;Wilcox秩和检验,$p=0.03$)并且平均小球直径减小(PAS-D小球大小,每只动物40个最大的小球;使用HALO图像分析软件;Wilcox秩和检验,$p<0.0001$)。在另一项使用WV-46312、WV-49090和WV-49092的研究中观察到类似的血清AAT蛋白增加和模式,其中观察到从第10周到第11周血清AAT蛋白显著增加至约600ug/mL。

[1535] 评估了各种寡核苷酸的毒性,包括在小鼠和NHP中的毒性。例如,WV-49090在包括小鼠和NHP在内的各种测定中进行了评估,并且具有良好的耐受性并展示出良好的安全性。PK数据证实了GalNAc缀合可以递送寡核苷酸。下文以实例呈现某些数据。

ID	质量(观察到的)	质量(Tgt)
WV-46312	10315.4	10315.42
WV-49088	10665.77	10665.78
WV-49090	10616.76	10616.78
WV-49092	10712.77	10712.78

[1536] 实例13.所提供的技术可以在包含PiZ等位基因的人肝细胞中提供编辑。

[1537] 尤其是,证实了所提供的技术可以有效地编辑原代人肝细胞中PiZ等位基因的转录物。在研究中,在多个浓度下评估了WV-46312、WV-49090和WV-49092:0.33、0.11、

0.03667、0.01222、0.00407、0.00136、0.00045和0.00015uM,并且在每个浓度下均证实了编辑(包括在0.00015uM下(对于所有三种寡核苷酸,约55%或更多%的M-AAT RNA,相比之下对于靶向SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变但没有GalNAc的寡核苷酸,观察到约47%,该寡核苷酸在所有浓度下提供约47%至约74%的M-AAT RNA))。对于所有三种寡核苷酸,在约0.01222uM或更高浓度下观察到约80%或更多%的M-AAT RNA。下文以实例呈现某些评估的EC75:

ID	绝对EC75(nM)	95%CI(nM)
WV-46312	3.75	1.41-6.08
WV-49090	2.47	1.05-3.89
WV-49092	2.58	1.11-4.04

如本文所证实的,所提供的技术可以提供对包含SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变的RNA的有效编辑。

[1538] 实例14.所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1539] 如本文所述,所提供的技术可以用于在体内编辑各种系统(例如,各种细胞、组织和/或器官)中的各种核酸中的靶腺苷。例如,如图7所示,包含各种修饰及其模式的寡核苷酸可以提供对各种细胞、组织和/或器官中的UGP2转录物中的靶腺苷的体内编辑。对小鼠(N=5/组)皮下给药100mg/kg的WV-50168或PBS(对照)。在7天之后,将动物安乐死并收集指定组织。另外,将肝脏消化成单细胞悬浮液,并且使用市售试剂盒分离指定的细胞。使用市售试剂盒从小鼠肝脏中分离CD3+、EpCAM+、LSEC+和M0(巨噬细胞/库普弗细胞)以特异性分离这些细胞类型。CD3+细胞主要包含T细胞(部分适应性免疫反应)和自然杀伤细胞亚群。EpCAM+(上皮细胞粘附分子)细胞包含肝脏内的胆管细胞,其可以是位于胆管内的上皮层的一部分。使用CD146分离试剂盒分离LSEC细胞(肝窦内皮细胞)。这个细胞层可以代表血液与肝细胞之间的屏障,并且可以充当先天免疫细胞的种类。M0细胞是巨噬细胞,或者在肝脏的环境下,可以是库普弗细胞并使用标记F4/80分离。这些细胞也可以在先天免疫中发挥重要作用。在各种组织类型(例如,心脏、肾、肺、脾、白色脂肪组织(WAT)、棕色脂肪组织(BAT)、肝脏)和各种细胞类型(例如,肝脏相关细胞,例如CD3+(例如,T细胞和NK细胞亚群)、EpCAM+(例如,胆管细胞)、CD146+(肝窦内皮细胞(LSEC))、F4/80+(M0,例如巨噬细胞,例如库普弗细胞)细胞)中证实了小鼠中UGP2转录物的编辑。通过Sanger测序定量RNA编辑。

[1540] 实例15.所提供的技术可以上调靶转录物的表达。

[1541] 如本文所证实的,所提供的技术尤其可以上调靶转录物的表达,例如通过mRNA中的腺苷编辑和RNA基序的编辑。在一些实施例中,所提供的技术通过例如编辑一个或多个RNA序列基序(例如,ARE(AU富集元件)基序)上调靶转录物(例如,mRNA)的表达。如本文所展示的,对靶转录物中的各种核碱基的编辑可以通过例如调节RNA半衰期来上调mRNA表达。例如,在一些实施例中,对靶转录物(例如,LDLR、FGF21、Klotho或CTLA4转录物)的编辑增加靶转录物(例如,mRNA)的水平。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供对RNA序列基序(例如,ARE(AU富集元件)基序)的编辑。在一些实施例中,对RNA序列基序的编辑提供对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏。在一些实施例中,对RNA序列基序的编辑提供RNA半衰期的改变。在一些实施例中,对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏和/或RNA半衰期的改变提供RNA表达的上调。

[1542] 各种RNA序列基序是本领域已知的。在一些实施例中,RNA序列基序位于mRNA编码区或5’和/或3’非翻译区(UTR)中。在一些实施例中,RNA序列基序调节RNA稳定性和/或RNA半衰期。在一些实施例中,RNA序列基序包含ARE(AU富集元件)基序(例如,AUUUA)。用于预测、确定和/或鉴定各种转录物中的RNA序列基序的各种方法是本领域已知的。据报道,各种RNA结合蛋白识别、相互作用和/或结合各种RNA序列基序。参见例如,Van Nostrand等人,Nature[自然]583,711-719(2020)。在一些实施例中,测序数据可以用于预测、确定和/或鉴定RNA序列基序。在一些实施例中,所提供的技术靶向预测的、确定的和/或鉴定的RNA序列基序。

[1543] 经由裸摄取将原代人CD4+T细胞用10uM的靶向CTLA4转录物的指定寡核苷酸组合物处理48h。在一些实施例中,寡核苷酸组合物靶向CTLA4转录物中的ARE基序。通过qPCR定量靶基因表达。如图11所示,各种寡核苷酸组合物可以上调CTLA4mRNA的表达。经由裸摄取将原代人肝细胞用10uM的靶向LDLR、FGF21或Klotho的指定寡核苷酸组合物处理48h。在一些实施例中,寡核苷酸组合物靶向LDLR、FGF21或Klotho转录物中的ARE基序。通过qPCR定量靶基因表达。如图12、图13和图14所示,各种寡核苷酸组合物可以上调LDLR、FGF12或Klotho mRNA的表达。在一些实施例中,在某些腺苷/RNA序列基序处的编辑比其他腺苷/RNA序列基序更多地上调靶转录物的表达。本领域技术人员理解,本文所述的各种寡核苷酸设计可以用于上调靶转录物(例如,mRNA)的表达。

[1544] 实例16.所提供的技术可以提供靶转录物的编辑。

[1545] 尤其是,证实了所提供的技术可以有效地编辑来自人患者诱导多能干细胞(iPSC)衍生的肝细胞中的SERPINA1PiZ等位基因的转录物。在第0天铺板具有ZZ基因型的人患者iPSC衍生的肝细胞,并在第2天用不同浓度(例如5、1.25、0.31、0.08uM)的指定寡核苷酸(例如WV-46312、WV-49090、WV-49092)处理。培养基每2天更新一次(例如,在第2、4、6、8天)。在第10天收集RNA,并通过Sanger测序定量RNA编辑。如图15所证实的,各种寡核苷酸(例如,WV-46312、WV-49090、WV-49092)提供了SERPINA1转录物的编辑(例如,在用5uM的指定寡核苷酸处理的细胞中提供了约50%-60%的编辑)。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物在特定浓度下提供比其他组合物更高的编辑。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物提供靶转录物的剂量依赖性编辑。

[1546] 实例17.所提供的技术可以提供靶转录物的编辑。

[1547] 尤其是,证实了所提供的技术可以有效地编辑来自人患者诱导多能干细胞(iPSC)衍生的肝细胞中的SERPINA1PiZ等位基因的转录物。在第0天铺板具有ZZ基因型的人患者iPSC衍生的肝细胞,并在第2天用不同浓度(例如5、1.25、0.31、0.08uM)的指定寡核苷酸(例如WV-46312、WV-44515)处理。每2天更换一次培养基(例如,在第4、6、8天),并且每2天重新添加寡核苷酸(例如,在第4、6、8天)。在第10天收集RNA,并通过Sanger测序定量RNA编辑。如图16所证实的,各种寡核苷酸(例如,WV-46312、WV-44515)提供了SERPINA1转录物的编辑(例如,在用5uM的指定寡核苷酸处理的细胞中提供了约80%-85%或更多%的编辑)。具有和不具有GalNAc缀合的寡核苷酸组合物提供了SERPINA1转录物的编辑。据报道,患者iPSC衍生的肝细胞具有脱唾液酸糖蛋白受体(ASGPR)的低表达,无意受任何特定理论的限制,这可能影响该系统中GalNAc缀合的效果。在一些实施例中,所提供的技术在具有或不具有GalNAc缀合的情况下提供编辑。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物在特定浓度下提供

比其他组合物更高的编辑。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物提供靶转录物的剂量依赖性编辑。

[1548] 实例18.所提供的技术可以在体内提供编辑并增加AAT蛋白水平。

[1549] 尤其是,所提供的技术可以在体内提供编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以编辑来自SERPINA1PiZ等位基因的转录物,以校正1024G>A(E342K)突变。如本文所证实的,在一些实施例中,所提供的技术可以增加血清M-AAT水平,包括达到可用于治疗的水平。

[1550] 例如,在一些实施例中,在NSG-PiZ小鼠中评估寡核苷酸WV-49090。在一些小鼠中,PBS被用作参考。有效的编辑、M-AAT的产生和野生型(M)AAT蛋白的功能得到了证实。对7周龄NSG-PiZ小鼠(JAX货号028842;每个治疗组N=5),每两周皮下施用10mg/kg寡核苷酸。一组小鼠在第1周(第0、2、4天)接受负荷剂量,而其他组在第1周(第0天)接受单一剂量。这些组随后每2周接受一次额外剂量(例如,在第2、4、6、8、10、12周期间)。对照组小鼠接受PBS。在给药前和治疗后第13周从小鼠收集血清。在第0周(用于基线测量)或治疗后第13周收集小鼠肝脏活检。从肝脏活检中收集RNA。通过qPCR确定SERPINA1mRNA的相对水平。SERPINA1的编辑通过Sanger测序进行定量。z(突变型)与M(野生型)AAT同种型的相对丰度通过液相色谱-质谱法(LC-MS)确定。使用市售试剂盒在体外反应中确定血清中的相对弹性蛋白酶抑制活性。

[1551] 如图17所证实的,在第13周,在施用WV-49090(具有或不具有负荷剂量)的小鼠中证实了SERPINA1转录物的编辑,例如约45%至50%的编辑,相比之下在施用PBS的小鼠中,观察到约0%的编辑。进一步,如图18所示,与第0周的基线相对SERPINA1mRNA水平相比,在施用WV-49090(负荷剂量和无负荷剂量)的小鼠中,观察到相对SERPINA1mRNA水平在第13周保持不变。相反,在施用PBS的小鼠中观察到相对SERPINA1mRNA水平显著降低(例如,约50%)。如图19所证实的,在第13周,在施用WV-49090(负荷剂量和无负荷剂量)的小鼠中,约50%的总血清AAT蛋白是M-AAT同种型,相比之下在施用PBS的小鼠中,100%的总血清AAT蛋白是Z-AAT同种型。另外,如图20所示,在第13周,证实了与PBS相比,施用WV-49090(负荷剂量和无负荷剂量)的小鼠中嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制显著增加。例如,对于PBS,相对弹性蛋白酶抑制百分比在给药前为约20%,在第13周为约25%,而对于WV-49090(负荷剂量和无负荷剂量),相对弹性蛋白酶抑制百分比在给药前为约20%,在第13周为约80%。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情况下提供靶转录物(例如SERPINA1RNA)的编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情况下增加SERPINA1mRNA水平。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情况下增加血清M-AAT水平。在一些实施例中,所提供的技术可以在具有或不具有负荷剂量的情况下增加血清嗜中性粒细胞弹性蛋白酶抑制活性。

[1552] 实例19.所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1553] 尤其是,所提供的技术可以在体内提供编辑并增加血清AAT水平。例如,在一些实施例中,寡核苷酸(例如,WV-46312、WV-49090、WV-49092)被证实提供来自SERPINA1PiZ等位基因的转录物的编辑,并增加人ADAR(huADAR)转基因小鼠的血清AAT蛋白水平。在第0天,在huADAR/SA-1Tg小鼠中以单一剂量(例如,10mg/kg、30mg/kg或100mg/kg)皮下施用寡核苷酸,随后在第0天(给药前)、第7天、第14天、第21天和第28天收集血清,并在第7天(对于30mg/kg)和第30天(对于10mg/kg、30mg/kg、100mg/kg)收集肝脏活检(每组N=8)。在一些小

鼠中,PBS作为参考施用。从肝脏活检中收集RNA。还检查了肝脏活检中寡核苷酸的存在,以确定ug寡核苷酸/g组织。SERPINA1的编辑通过Sanger测序进行定量。血清AAT水平通过ELISA定量。对于所有三种寡核苷酸,当以30mg/kg的寡核苷酸组合物给药时,在第7天观察到约45%或更多的编辑。进一步,对于所有三种寡核苷酸,当以100mg/kg的寡核苷酸组合物给药时,在第7天观察到血清AAT蛋白水平约2.1倍或更高倍的变化。

[1554] 第0天的平均%RNA编辑单一剂量在下表中以实例显示:

剂量	评估的天数	WV-46312	WV-49090	WV-49092
10 mg/kg	28	2.5%（sem：0.5）	4.0%（sem：0.9）	7.0%（sem：1.2）
30 mg/kg	7	60.1%（sem：4.8）	46.3%（sem：6.8）	61.6%（sem：3.9）
30 mg/kg	28	3.8%（sem：0.7）	7.1%（sem：1.2）	11.8%（sem：3.1）
100 mg/kg	28	10.0%（sem：1.5）	16.5%（sem：4.1）	18.0%（sem：2.7）

sem:平均值标准误差。

[1555] 第0天单一剂量后血清AAT相对于给药前水平的倍数变化在下表中以实例显示:

剂量	评估的天数	WV-46312	WV-49090	WV-49092
10mg/kg	7	1.6(sem:0.1)	1.5(sem:0.1)	1.8(sem:0.1)
30mg/kg	7	1.8(sem:0.1)	2.0(sem:0.2)	2.4(sem:0.1)
100mg/kg	7	2.3(sem:0.2)	2.7(sem:0.3)	2.1(sem:0.2)

sem:平均值标准误差。

[1556] 某些药代动力学(PK)/药效学(PD)数据在下表中以实例显示:

化合物	$t_{1/2}$(天)	EC50(μg/g)	EC50[a](μM)	V(mL/kg)	a[b]
WV-46312	4.00	7.04	0.682	143	1.01
WV-49090	7.10	19.6	1.85	229	-0.083
WV-49092	7.54	7.96	0.743	248	0.249

$t_{1/2}$:肝脏组织中的半衰期。a:用于转化为μM的平均基础重量。b:剂量与生物利用度之间幂函数的指数。

[1557] 如本文所证实的,所提供的技术可以提供来自SERPINA1PiZ等位基因的转录物的有效编辑。如本文所证实的,所提供的技术可以提供血清AAT蛋白的增加。

[1558] 实例20.所提供的技术可以提供编辑。

[1559] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图21、图22、图23和图39呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。将Hep3B细胞铺板在96孔板中,并且经由裸摄取用不同浓度的靶向UGP2、ACTB或SRSF1转录物的不同寡核苷酸处

理48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含立体随机核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1560] 实例21.所提供的技术可以提供编辑。

[1561] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图24、图25、图26和图40呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。将Hep3B细胞铺板在96孔板中。在第二天,将细胞用不同浓度的靶向UGP2、ACTB或SRSF1转录物的不同寡核苷酸转染48小时。分离RNA并且使用Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含立体随机核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1562] 实例22.所提供的技术可以提供编辑。

[1563] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图27、图28、图29和图41呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液(Tris pH 7.5 15mM、KCL 150mM、MgCl2 3mM、EDTA 1.5mM、3%甘油、0.003%Nonidet P-40、160U/ml RNaseIN(普洛麦格公司)、1ug/ml Yeast tRNA、0.05mM DTT)中。将所得的裂解液超声处理(5分钟,包括交替的20秒开和40秒关,振幅为20%,使用120W、20KHz超声发生器),并且通过离心(在4℃下在4000G下10分钟并且在4℃下在16000G下20分钟)澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且添加不同浓度的靶向UGP2、ACTB或SRSF1转录物的不同寡核苷酸。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并使用Sanger测序定量编辑。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含立体随机核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含某

些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1564] 实例23.所提供的技术可以提供编辑。

[1565] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图30、图31图42呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2或SRSF1转录物的不同寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在添加寡核苷酸后的不同时间(例如,6、24、48、72、96小时)收集细胞并提取RNA。通过Sanger测序定量RNA编辑。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含立体随机核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含手性控制的核苷酸间键联和PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1566] 实例24.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。

[1567] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、控制的立体化学、其模式等的那些。图32、图33、图34和图43呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸摄取。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2、ACTB或SRSF1的不同寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸浓度。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸表现出比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更大的细胞摄取。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学控制的寡核苷酸表现出比其他寡核苷酸更大的细胞摄取。

[1568] 实例25.所提供的技术可以提供有效的寡核苷酸递送。

[1569] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、控制的立体化学、其模式等的那些。图35、图36、图37和图44呈现了某些数据,从而证实了细胞摄取。将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。在第二天,将细胞用3μM的靶向UGP2、ACTB或SRSF1的不同寡核苷酸处理6小时。然后将细胞用PBS彻底洗涤,之后用维持培养基更新。在处理后96小时,将细胞在RIPA缓冲液中裂解。使用杂交ELISA定量所得裂解液中的寡核苷酸(AIMer)浓度。与处理之后直接收集的细胞(例如,如实例24中所述)相比,剩余的寡核苷酸的比例。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸表现出比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更大的稳定性。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-

F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸表现出比其他寡核苷酸更大的稳定性。

[1570] 实例26.所提供的技术可以提供编辑。

[1571] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、控制的立体化学、其模式等的那些。图38呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。

[1572] 为了检查裸递送后的编辑,将衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞铺板到96孔板中。将细胞用6μM的靶向UGP2的指定寡核苷酸处理48小时。收集RNA并且使用Sanger测序定量编辑。为了检查无细胞系统中的编辑,将HEK293T细胞用编码ADARp110的质粒转染并孵育48小时。将细胞从烧瓶中解离并沉淀,之后重悬浮在等体积的RNA编辑缓冲液(Tris pH 7.515mM、KCL 150mM、MgCl23mM、EDTA 1.5mM、3%甘油、0.003%Nonidet P-40、160U/ml RNaseIN(普洛麦格公司)、1ug/ml Yeast tRNA、0.05mM DTT)中。将所得的裂解液超声处理(5分钟,包括交替的20秒开和40秒关,振幅为20%,使用120W、20KHz超声发生器),并且通过离心(在4℃下在4000G下10分钟并且在4℃下在16000G下20分钟)澄清。将裂解液铺板到96孔热循环仪板中,并且添加不同浓度的靶向UGP2转录物的不同寡核苷酸。将反应混合物在30℃下孵育1小时,之后提取RNA并通过Sanger测序定量编辑。在一些实施例中,评估了在位置1、14、16、26和29中的一个或多个处包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比不包含PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含2个或更多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含1个或更少PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含3个或更多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含2个或更少PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含4个或更多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含3个或更少PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含5个或更多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含4个或更少PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含特定模式的PS和PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供比包含其他模式的PS和PN核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。

[1573] 实例27.所提供的技术可以上调体内靶转录物的表达。

[1574] 如本文所证实的,所提供的技术尤其可以上调体内靶转录物的表达,例如通过mRNA中的腺苷编辑和RNA基序的编辑。在一些实施例中,所提供的技术通过例如编辑一个或多个RNA序列基序(例如,ARE基序)上调体内靶转录物(例如,mRNA)的表达。如本文所展示的,对靶转录物中的各种核碱基的编辑可以通过例如调节RNA半衰期来上调体内mRNA表达。例如,在一些实施例中,对靶转录物(例如,FGF21转录物)的编辑增加体内靶转录物(例如,mRNA)的水平。在一些实施例中,对靶转录物(例如,FGF21转录物)的编辑增加体内蛋白质的水平,例如血清中FGF21蛋白水平。在一些实施例中,对靶转录物的编辑提供对体内RNA序列基序(例如,ARE基序)的编辑。在一些实施例中,对序列基序的编辑提供对体内RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏。在一些实施例中,对RNA序列基序的编辑提供体内RNA半衰期的改变。在一些实施例中,对RNA与RNA结合蛋白之间的相互作用的破坏和/或RNA半衰期的改变提供体内RNA表达的上调。

[1575] 在第0、2和4天,对转基因hADAR小鼠皮下给药10mgk的靶向FGF21转录物的3'UTR中

的ARE位点的寡核苷酸(例如,ADR-0106361、ADR-0106362、ADR-0106363、ADR-0106365、ADR-0106368和ADR-0106370)(每个治疗组N=5)。参考组的小鼠接受PBS。在第0天(给药前)和第7天(给药后)收集血清。在第7天收集小鼠肝脏活检。通过Sanger测序定量肝脏活检中的FGF21mRNA编辑。通过qPCR定量肝脏活检中的FGF21mRNA水平,并相对于相应的HPRT mRNA水平归一化。相对于PBS处理的小鼠中的平均归一化FGF21mRNA水平,确定归一化FGF21mRNA水平的倍数变化。通过ELISA定量血清中的FGF21蛋白水平。如图45所证实的,各种寡核苷酸(例如,ADR-0106361、ADR-0106362、ADR-0106363、ADR-0106365、ADR-0106368和ADR-0106370)提供了对体内FGF21转录物的编辑(例如,约30%-60%或更多%的编辑)。进一步,如图45所示,各种寡核苷酸可以上调体内FGF21mRNA的表达并增加血清中的FGF21蛋白水平。在一些实施例中,在某些腺苷/RNA序列基序处的编辑比其他腺苷/RNA序列基序更多地上调靶转录物的表达。在一些实施例中,在某些腺苷/RNA序列基序处的编辑比其他腺苷/RNA序列基序更多地增加血清中的蛋白质水平。本领域技术人员理解,本文所述的各种寡核苷酸设计可以用于上调体内靶转录物(例如,mRNA)的表达。

[1576] 实例28.所提供的技术可以提供编辑。

[1577] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、各种类型的核碱基(例如,天然核碱基、b003U、b004U、b005U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b002I、b003I、b004I、b001G、b002G等)、各种类型的糖(例如,2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、sm11、sm12、sm15、sm17、天然DNA糖等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图47、图48、图49和图50呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术尤其可以利用各种类型的糖和核碱基(例如,在N_0和/或N_{-1}处)来提供编辑。在一些实施例中,与其他相比,例如当在N_{-1}位置处使用时,某些糖和/或核碱基可以提供更高的编辑效率。参见例如,图47中例示的G、b006C、b007C、b004A、b007A、b002I、b003I、b004I、天然DNA糖、sm11、sm12等(N_{-1}与C相反);图48中例示的C、b008U、b005U、b009U、b012U、b005C、b008C、b001A、b004A、b007A、b002I、b004I、b001G、无碱基、天然DNA糖、sm11、sm12、sm15等(N_{-1}与G相反);图49中例示的A、b004U、b009U、b010U、b011U、b012U、b006C、b008C、b009C、b001A、b003A、b004A、b006A、b007A、b003I、b004I、b001G、无碱基、天然DNA糖、sm11、sm12、sm15等(N_{-1}与U/T相反);以及图50中例示的各种核碱基和糖(N_{-1}与A相反)。在一些实施例中,某些核碱基(例如,b008U)可以提供更高的编辑效率。在一些实施例中,某些核碱基(例如,b008U)可以提供更高的选择性。在一些实施例中,N_0处的b008U可以提供更高的选择性。如图50中所证实的,所提供的技术可以利用在N_{-1}位置处的各种核碱基和/或糖,以在相邻腺苷(例如,5'相邻腺苷)的存在下实现靶腺苷的编辑和/或选择性(参见例如图50)。在一些实施例中,如图50中所证实的,与其他相比,N_{-1}位置(与5'相邻腺苷相反)处的某些结构元件提供更高的编辑效率和/或选择性。为了评估各种寡核苷酸,将HEK293T细胞用具有5'-CAG'3'(图47)、5'-GAG-3'(图48)、5'-TAG-3'(图49)或5'-AAG-3'(图50)的编码ADARp110的质粒和编码ACTB的质粒转染并孵育48小时。在24h之后,将细胞用靶向ACTB的各种寡核苷酸转染。在48h后收获细胞,并且收集RNA并逆转录成cDNA。通过Sanger测序评估编辑。用生物学重复样进行实验。

[1578] 实例29.所提供的技术可以提供编辑。

[1579] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、碱基修饰(例如,3nU)、各种类型的糖(例如,2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、天然DNA糖等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图51呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑,并且在各种实施例中,与靶腺苷相反的3nU可以提供比C更高的编辑水平。以裸方式对衍生自hADAR小鼠的原代小鼠肝细胞给药3uM或0.3uM的靶向UGP2的各种寡核苷酸。在72h后收获细胞,并且收集RNA并逆转录成cDNA。通过Sanger测序评估编辑。在一些实施例中,各种寡核苷酸可以提供编辑。尤其是,碱基修饰(诸如3nU)可以在所提供的技术中使用,包括与靶腺苷相反的核苷(位置N_0)处。在一些实施例中,位置N_0处的碱基是3nU。在一些实施例中,包含3nU的寡核苷酸提供比不包含3nU的寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在位置N_0处包含经修饰的碱基(例如,3nU)的寡核苷酸提供与在位置N_0处不包含经修饰的碱基的寡核苷酸相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在位置N_0处包含3nU的寡核苷酸提供与在位置N_0处不包含3nU的寡核苷酸相当或更高的编辑水平。如本文所证实的,与胞嘧啶相比时,与靶腺苷相对的3nU实现对各种最近的邻居(例如,UAU、GAU、AAU、CAC、GAG、GAA、AAA、AAC、UAA、CAG等,其中中间的A是靶腺苷)的更高编辑。在一些实施例中,如图51中所证实的,与靶腺苷相反的b008U可以提供与C相比明显增加的编辑水平,例如,在5'-GAU-3'、5'-GAA-3'等的环境下,其中中间的A是靶腺苷。

[1580] 实例30.所提供的技术可以提供编辑。

[1581] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、各种类型的糖(例如,2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、天然DNA糖等)、控制的立体化学、其模式等的那些。图52呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑。将靶向KEAP1或NRF2转录物的各种寡核苷酸以25nM转染到iPSC衍生的星形胶质细胞中,或以25nM转染到SF8628人胶质瘤细胞中,或以10uM裸引入原代人肝细胞中。包括靶向ACTB转录物的WV-37317作为对照。在孵育48h之后收集RNA。通过Sanger测序评估RNA编辑。在一些实施例中,各种寡核苷酸可以提供编辑。在一些实施例中,包含某些模式的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)和立体化学的寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1582] 实例31.所提供的技术可以提供编辑。

[1583] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、各种类型的糖(例如,2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、天然DNA糖等)、控制的立体化学、其模式等的那些。以下呈现了某些数据,从而证实了所提供的技术可以提供编辑,并且在各种实施例中,与靶腺苷相反的3nU可以提供比C更高的编辑水平。以裸方式对原代人肝细胞给药3uM或0.3uM的靶向UGP2的各种寡核苷酸。在48h后收获细胞,并且收集RNA并逆转录成cDNA。通过Sanger测序评估编辑。如所证实的,包含各种PN键联(例如,n001、n006、n006sp等)(包括在N_{-1}与N_{-2}之间)的各种寡核苷酸可以提供有效的编辑。在一些实施例中,位置N_0处的碱基是C。在一些实施例中,N_0处的核苷是C。

寡核苷酸	相对EC50(nM)

ADR-0102506	231.5
ADR-0104502	351.1
ADR-0104503	422.1

[1584] 实例32.所提供的技术可以提供编辑。

[1585] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括包含如本文所述的PO核苷酸间键联、PS核苷酸间键联、PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联、各种类型的核碱基(例如,在N_0位置处,诸如3nU、3nT、b001A、b013U、b014U、b015U、C等)、各种类型的糖(例如,2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、天然DNA糖、阿拉伯糖等)、控制的立体化学、其模式(例如,对于糖,2'-F嵌段和2'-OR(例如,其中R是任选地经取代的C_{1-6}脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等))嵌段或其模式,在编辑区的5'-侧(例如,第一结构域和/或第二结构域的第一子结构域)和/或3'-侧或第二结构域的第二子结构域或5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'处)等的那些。制备并评估了各种寡核苷酸,从而证实了所提供的技术的各种益处和优点,诸如编辑效率、稳定性、灵活性(例如,用于容纳各种类型的核碱基、糖、核苷酸间键联等)等。

[1586] 在一些实施例中,进一步证实了具有各种结构模式的寡核苷酸(包括包含各种数量的PN键的那些)可以提供有效的编辑。在一些实施例中,包含约1-15个(例如,约3-15、4-15个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个)PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供有效的编辑。在一些实施例中,所有核苷酸间键联中的约10%-50%(例如,约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%等)是PN核苷酸间键联。在一些实施例中,所有经修饰的核苷酸间键联中的约10%-60%(例如,约15%-50%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%等)是PN核苷酸间键联。在一些实施例中,PN核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,PN核苷酸间键联是分开的。在一些实施例中,PN核苷酸间键联的嵌段各自独立地含有不超过2、3、4或5个连续PN核苷酸间键联。在一些实施例中,PN核苷酸间键联嵌段含有不超过2个PN核苷酸间键联。在一些实施例中,PN核苷酸间键联嵌段含有不超过3个PN核苷酸间键联。在一些实施例中,PN核苷酸间键联嵌段含有不超过4个PN核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中不存在连续的PN核苷酸间键联。在一些实施例中,与其他数量和/或百分比相比,具有某些数量和/或百分比的PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供更高的编辑效率。在一些实施例中,寡核苷酸中PN核苷酸间键联的数量不超过约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15个。在一些实施例中,其不超过约15个。在一些实施例中,其不超过约10个。在一些实施例中,其不超过约9个。在一些实施例中,其不超过约8个。在一些实施例中,其不超过约7个。在一些实施例中,其不超过约6个。在一些实施例中,其不超过约5个。在一些实施例中,寡核苷酸中PN核苷酸间键联的百分比不超过所有核苷酸间键联的约15%、20%、25%、30%、35%、40%或45%。在一些实施例中,寡核苷酸中PN核苷酸间键联的百分比不超过所有核苷酸间键联的约15%、20%、25%、30%、35%、40%或45%。在一些实施例中,寡核苷酸中PN核苷酸间键联的百分比不超过所有经修饰的核苷酸间键联的约15%、20%、25%、30%、35%、40%或45%。在一些实施例中,百分比不超过约15%。在一些实施例中,百分比不超过约20%。在一些实施例中,百分比不超过约25%。在一些实施例中,百分比不超过约30%。在一些实施例中,百分比不超过约35%。在一些实施例中,百分比不超过约40%。在一些实施例中,百分比不超过约45%。在一些实施例中,百分比不超过约

50％。例如,在评估中,评估了包含4至多达12个PN键的30聚体寡核苷酸。全部提供编辑,并且一些寡核苷酸提供比其他寡核苷酸更高水平的编辑(例如,包含超过10个PN核苷酸间键联的寡核苷酸)。

[1587] 如先前所展示和本文证实的,在N_0处包含各种核碱基,例如具有式BA-III-e或BA-VI的那些(例如,3nU、3nT、3nm6U、b001A等)的所提供的技术可以提供高水平的编辑。例如,证实了在N_0处包含3nm6U、2nT、3nU、b001A等的各种寡核苷酸可以提供与在N_0处包含C的参考寡核苷酸相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_{-1}处具有G的情况下,所提供的技术可以提供高编辑水平。例如,评估证实与在N_{-1}处的次黄嘌呤,在N_0处包含各种核碱基,例如具有式BA-III-e或BA-VI的那些(例如,3nU、3nT、3nm6U、b001A等)的所提供的技术可以提供与在N_{-1}处的G相当的编辑水平。在一些实施例中,展示了在N_0处具有这样的核碱基的情况下,N_{-1}与N_{-2}之间的Rp和Sp核苷酸间键联(例如,PN核苷酸间键联)可以提供高水平的编辑。应注意,第三方报道了对于他们的技术,包括在N_0处具有C的那些,N_{-1}处的G可以产生与I相比显著更低的编辑水平。在一些实施例中,在N_0处具有这样的核碱基的情况下,各种经修饰的糖,例如2'-OR^{ak}修饰的糖,可以在N_1、N_0和/或N_{-1}处使用。在一些实施例中,所提供的技术在N_0处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_1处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_{-1}处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_0和N_1处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_0和N_{-1}处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_1和N_{-1}处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,所提供的技术在N_1、N_0和N_{-1}处包含2'-OR^{ak}修饰的糖。在一些实施例中,2'-OR^{ak}修饰的糖是2'-OMe糖。在一些实施例中,不是2'-OR^{ak}修饰的糖的5'-$N_1N_0N_{-1}$-3'的糖是天然DNA糖。例如,在评估中,证实了在N_1、N_0和/或N_{-1}处包含2'-OMe的寡核苷酸全部可以提供编辑。在一些实施例中,证实了与例如仅N_0处的2'-OMe相比,N_1和N_{-1}处的2'-OMe或N_1、N_0和N_{-1}处的2'-OMe提供更低的编辑。应注意,第三方报道了对于它们的技术,N_0处的2'-OMe可以阻止编辑。在一些实施例中,在N_1、N_0和N_{-1}中的一个、两个或三个处使用2'OMe,并且在N_{-1}处使用G。在一些实施例中,证实了在具有本文所述的糖和核苷酸间键联技术(例如,类型、模式等)的情况下,也可以在N_0处使用C以及各种糖,例如2'-OMe修饰的糖、天然DNA糖、[thpyr]等,任选地与N_{-1}处与G或次黄嘌呤一起,以提供编辑,尽管与在N_0处具有例如3nU的寡核苷酸相比,可以处于降低的水平。

[1588] 如所展示的,根据本披露可以使用各种类型的糖,包括在N_0处。在一些实施例中,N_0处的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,其是经修饰的糖。在一些实施例中,其是同源-DNA糖。在一些实施例中,其是sm15。在一些实施例中,其是FANA糖。在一些实施例中,其是2'-OR^{ak}(例如,2'-OMe、2'-MOE等)修饰的糖。在一些实施例中,证实了在N_0处包含同源-DNA糖、sm15、阿拉伯糖、2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖的寡核苷酸可以提供有效的编辑,在一些情况下,与在N_0处包含天然DNA糖的参考寡核苷酸相当或更多的编辑。例如,在评估中,证实了包含同源-DNA糖的寡核苷酸可以与各种核碱基(例如,C、3nU等)组合,以提供与包含天然DNA糖的参考寡核苷酸相当的有效编辑。在一些实施例中,N_0处的核碱基是3nU。

[1589] 各种类型的核苷酸间键联可以在编辑区和周围区域中使用以提供编辑。例如,在评估中,在N_1与N_0之间包含硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸、在N_1与N_0之间包含天然磷酸酯键联的寡核苷酸以及在N_1与N_0之间包含PN核苷酸间键联(例如,n001)的寡核苷酸提供

有效的编辑;在N_{-1}与N_0之间包含硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸和在N_{-1}与N_0之间包含天然磷酸酯键联的寡核苷酸提供有效的编辑;并且在N_{-1}与N_{-2}之间包含硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸、在N_{-1}与N_{-2}之间包含天然磷酸酯键联的寡核苷酸以及在N_{-2}与N_{-2}之间包含PN核苷酸间键联(例如,n001)的寡核苷酸提供有效的编辑。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性控制的。在一些实施例中,其是Rp。在一些实施例中,其是Sp。在一些实施例中,证实了N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联的Rp和Sp均可以提供有效的编辑,在一些情况下水平相当。在一些实施例中,证实了PS和PN核苷酸间键联均可以用于N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联,以提供有效的编辑。在一些实施例中,证实了在N_1与N_0、N_0与N_{-1}和/或N_{-1}与N_{-2}之间包含一个或多个PN核苷酸间键联(例如,n001)(其中的每个独立地是Rp或Sp)的寡核苷酸可以提供有效的编辑。在一些实施例中,手性核苷酸间键联不是手性控制的。在评估中,证实了在N_1与N_0、N_0与N_{-1}、N_{-1}与N_{-2}和/或N_{-2}与N_{-3}之间包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联(例如,PS核苷酸间键联、PN核苷酸间键联等)的寡核苷酸可以提供与在这些位置处全部具有天然磷酸酯键联的寡核苷酸相比更高的编辑水平。在一些实施例中,观察到与例如天然磷酸酯键联相比,N_{-2}与N_{-3}之间的PN核苷酸间键联(例如,n001)可以提供相对较低的编辑。在一些实施例中,观察到与例如天然磷酸酯键联相比,N_{-3}与N_{-4}之间的PN核苷酸间键联(例如,n001)提供相对较低的编辑。在一些实施例中,观察到与例如天然磷酸酯键联相比,N_{-2}与N_{-3}之间的Rp PN核苷酸间键联(例如,n001)可以提供相对较低的编辑。在一些实施例中,观察到与例如天然磷酸酯键联相比,N_{-3}与N_{-4}之间的Rp PN核苷酸间键联(例如,n001)提供相对较低的编辑。在一些实施例中,N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,N_{-2}与N_{-3}之间的核苷酸间键联是PS核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-3}与N_{-4}之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,N_{-3}与N_{-4}之间的核苷酸间键联是PS核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-3}与N_{-4}之间的核苷酸间键联是Sp PS核苷酸间键联。在一些实施例中,PS核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是PN核苷酸间键联。在一些实施例中,N_{-1}与N_{-2}之间的核苷酸间键联是Rp PN核苷酸间键联。在一些实施例中,PN核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,在N_1与N_0、N_0与N_{-1}和/或N_{-1}与N_{-2}之间的一个或多个Sp PN核苷酸间键联(例如,n001)提供一个或多个相应Rp PN核苷酸间键联的更高编辑水平。

[1590] 在一些实施例中,包含一个或多个经修饰的糖(例如,[thpyr]、[25r]、sm11、sm12、2'-OMe修饰的糖等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0处或附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)包含一个或多个2'-OMe修饰的糖的寡核苷酸提供编辑,并且可以提供与其他寡核苷酸(例如,没有2'-OMe的那些)相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0处包含一个或多个2'-OMe修饰的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1591] 在一些实施例中,包含一个或多个核碱基(例如,[3nU]、[napth6o8A]、[3nT]、[ipr6o8A]、[3ne5U]、[3nf15U]、[3npry5U]、[3ncn5U]、[c7In]、[c39z48In]、[z2c3In]、[z5C]等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1592] 在一些实施例中,包含某些模式的PN(例如,磷酰基胍键联诸如n001)核苷酸间键联的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个PN核苷酸间

键联的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比在相关位置处不包含一个或多个PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)不包含一个或多个PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比包含位于这样的寡核苷酸的中间(例如,在5'侧的5-50个核苷和3'侧的1-50个核苷内)的一个或多个PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1593] 在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PN核苷酸间键联并且在N_0处包含某些碱基(例如,C,具有式BA-III-e或BA-VI的碱基,例如3nU、b001A等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联并且在N_{-1}处包含某些碱基(例如,G、I)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联、在N_{-1}处包含特定碱基(例如,G、I)并且在N_0处包含某些核碱基(例如,[n3U]、[o8A])的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联、在N_{-1}处包含某些碱基(例如,G、I)、在N_0处包含某些碱基(例如,[n3U]、[o8A]等)并且包含某些糖修饰(例如,2'-OMe)的寡核苷酸可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联、在N_0处包含某些碱基(例如,C、[n3U]等)并且包含糖修饰(例如,2'-OMe、DNA糖、[thpyr]等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1594] 在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PN核苷酸间键联并且在N_{-1}处包含特定碱基(例如,G、I)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PN核苷酸间键联、在N_{-1}处包含某些碱基(例如,G、I)、在N0处包含某些碱基(例如,[n3U]、[o8A]等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PN核苷酸间键联、在N_{-1}处包含某些碱基(例如,G、I)、在N0处包含某些经修饰的核碱基(例如,[n3U]、[o8A]等)并且包含某些糖修饰(例如,[o8A])的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1595] 在一些实施例中,包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供比不包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供比在一个或多个相同位置处不包含一个或多个Sp PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,包含一

个或多个Sp PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供比在一个或多个相同位置处包含一个或多个Rp PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸更高的编辑水平。

[1596] 在一些实施例中,包含多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供与包含更少PN核苷酸间键联的其他寡核苷酸相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,包含位于这样的寡核苷酸的中间(例如,在5'侧的5-50个核苷和3'侧的1-50个核苷内)的多个PN核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供与具有更少PN核苷酸间键联的寡核苷酸相当或更高的编辑水平。

[1597] 在一些实施例中,在N_0处包含糖修饰(例如,2'-OMe)和碱基修饰(例如,[n3U])的寡核苷酸可以提供与没有这样的修饰的寡核苷酸相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_{-1}处包含G的寡核苷酸可以提供与参考寡核苷酸(例如,在N_{-1}处包含I)相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_{-1}处包含I的寡核苷酸可以提供与其他寡核苷酸(例如,在N_{-1}处包含G)相当或更高的编辑水平。

[1598] 在一些实施例中,在N_0处包含经修饰的糖(例如,2'-阿拉伯糖、[thpyr]、[fana]、2'-MOE修饰的糖等)和某些核碱基(例如,C、n3U等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供与其他寡核苷酸相当或更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0处包含经修饰的糖和某些核碱基(例如,C、n3U等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供与在N_0处不包含这样的糖修饰和/或碱基的其他寡核苷酸相当或更高的编辑水平。

[1599] 在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个PO核苷酸间键联(例如,1、2、3、4、5、6个等)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)具有更少PO核苷酸间键联的寡核苷酸更低的编辑水平。

[1600] 在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PS核苷酸间键联并且在N_{-1}处包含某些碱基(例如,I)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比其他寡核苷酸更高的编辑水平。在一些实施例中,在N_0附近(例如,N_2、N_1、N_0、N_{-1}、N_{-2}等)的核苷之间包含一个或多个Rp PS核苷酸间键联并且在N_{-1}处包含某些碱基(例如,I)的寡核苷酸提供编辑,并且在一些情况下可以提供比在一个或多个相同位置处具有一个或多个Sp PS核苷酸间键联的寡核苷酸更高的编辑水平。

[1601] 虽然本文中已描述且展示了多种实施例,但本领域普通技术人员将容易想到,用于执行本披露中所描述的功能和/或获得本披露中所描述的结果和/或一个或多个有点的多种其他方法和/或结构,并且这样的变化和/或修改中的每一者均被视为包括在内。更一般而言,本领域普通技术人员将容易理解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和构型意在作为实例,并且实际参数、尺寸、材料和/或构型可取决于使用本披露的教导的一个或多个特定应用。本领域技术人员将认知到、或不使用过度常规实验就能够确定本披露的实施例的许多等效物。因此,应理解,前述实施例仅通过实例方式呈现,且在所附权利要求书及其等效物的范围内,可以与具体描述和要求的不同的方式实践所要求的技术。另外,如果特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法不是相互不兼容的,则在本披露的范围内包括两个或更多个这样的特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法的任何组合。

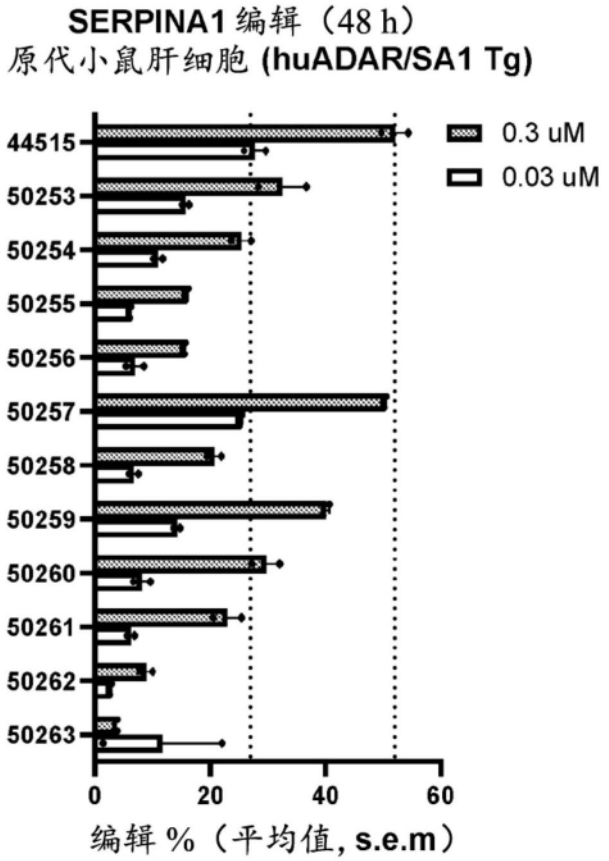

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
44515
50253
50254
50255
50256
50257
50258
50259
50260
50261
50262
50263
0
20
40
60
编辑 %（平均值, s.e.m）

图1

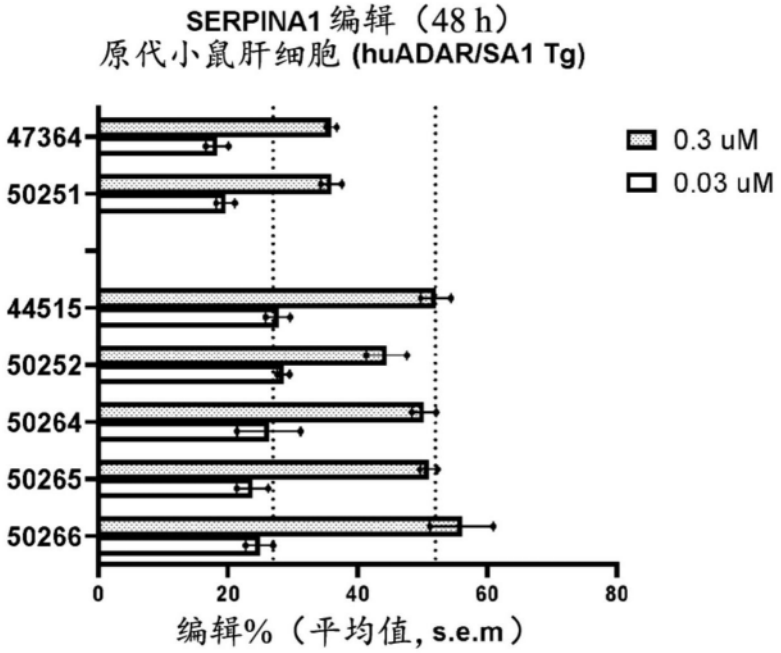

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
47364
50251
44515
50252
50264
50265
50266
0
20
40
60
80
编辑%（平均值, s.e.m）

图2

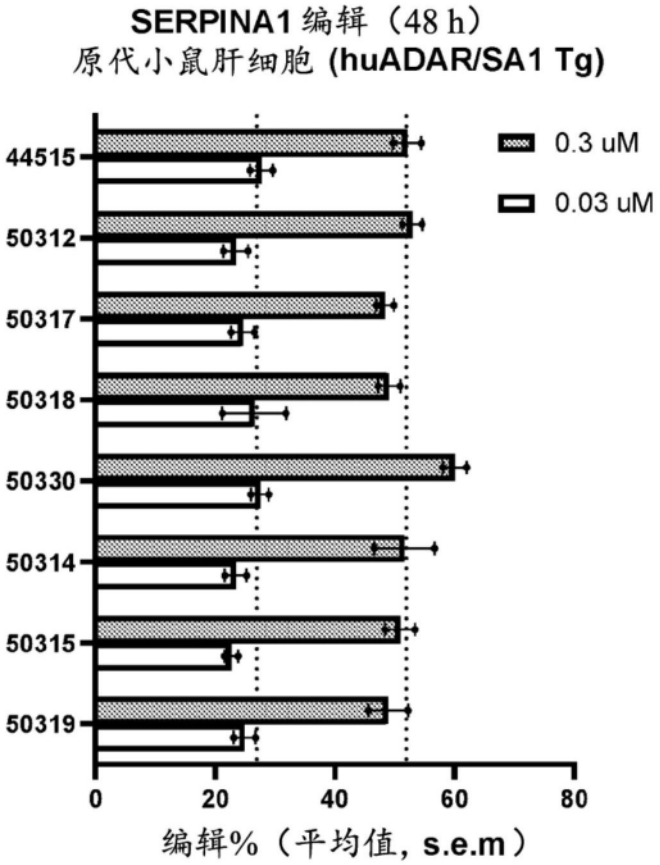

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
44515
50312
50317
50318
50330
50314
50315
50319
0
20
40
60
80
编辑%（平均值, s.e.m）

图3

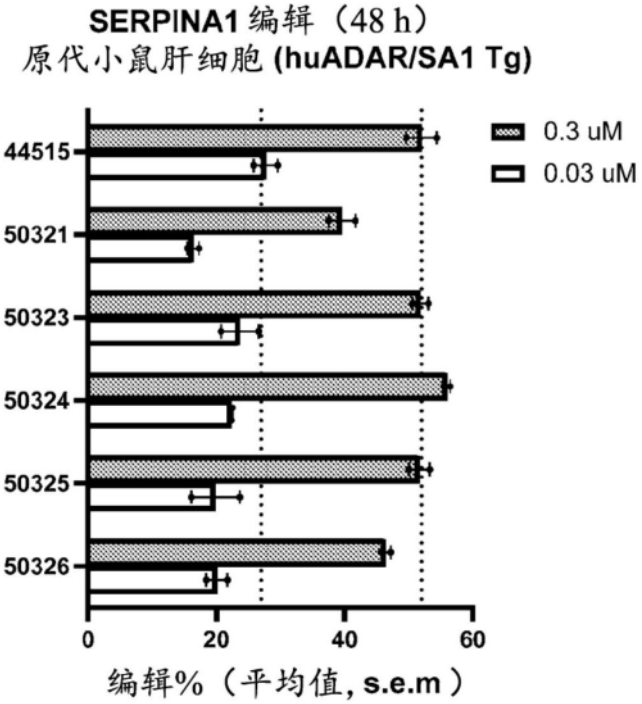

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
44515
50321
50323
50324
50325
50326
0
20
40
60
编辑%（平均值, s.e.m）

图4

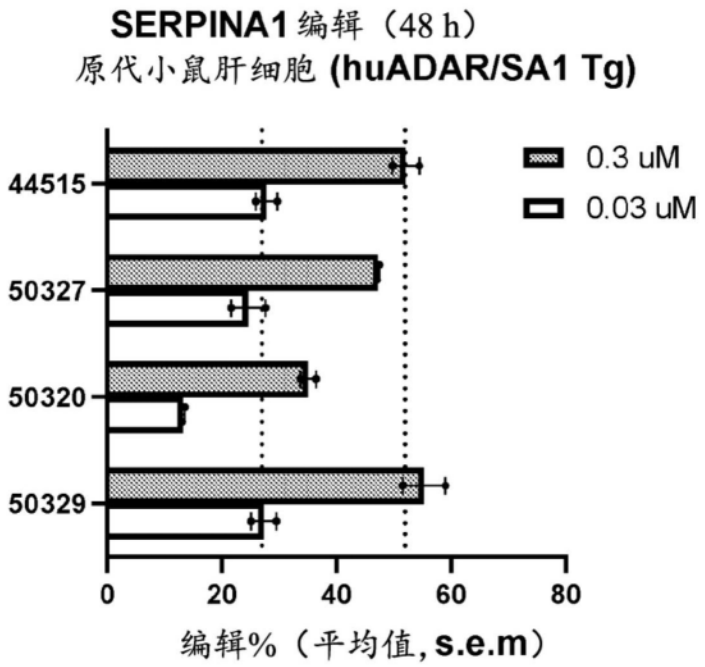

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
44515
50327
50320
50329
0
20
40
60
80
编辑%（平均值, s.e.m）

图5

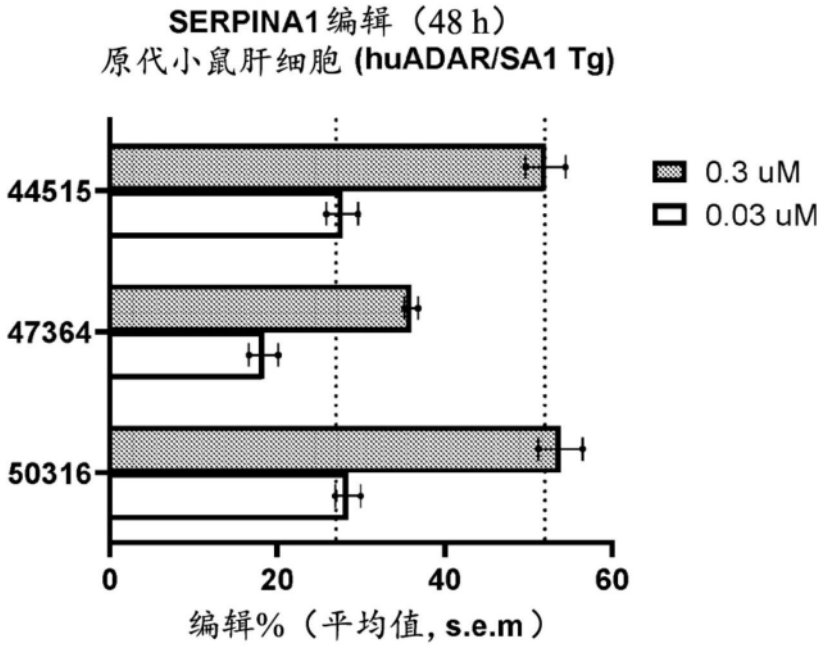

SERPINA1 编辑（48 h）
原代小鼠肝细胞 (huADAR/SA1 Tg)
0.3 uM
0.03 uM
44515
47364
50316
0
20
40
60
编辑%（平均值, s.e.m）

图6

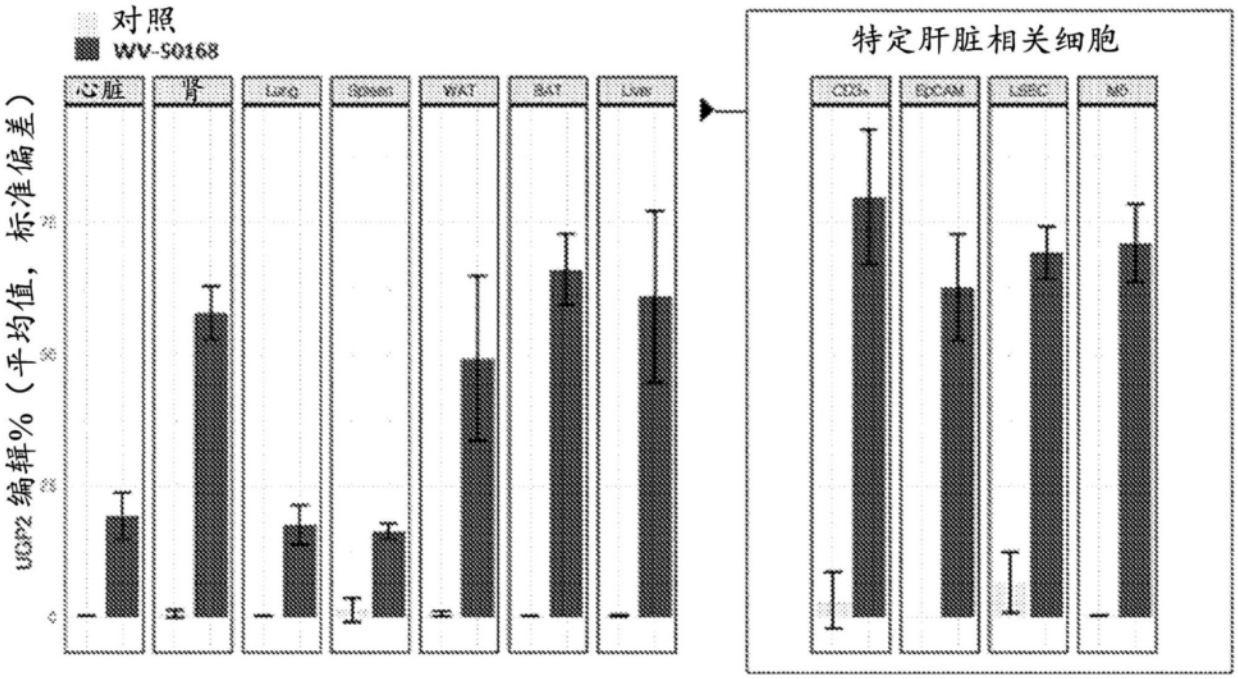

对照
WV-50168
心脏
肾
Lung
Spleen
WAT
BAT
Liver
UGP2 编辑%（平均值，标准偏差）
特定肝脏相关细胞
CD3+
EpCAM
LSEC
MO

图7

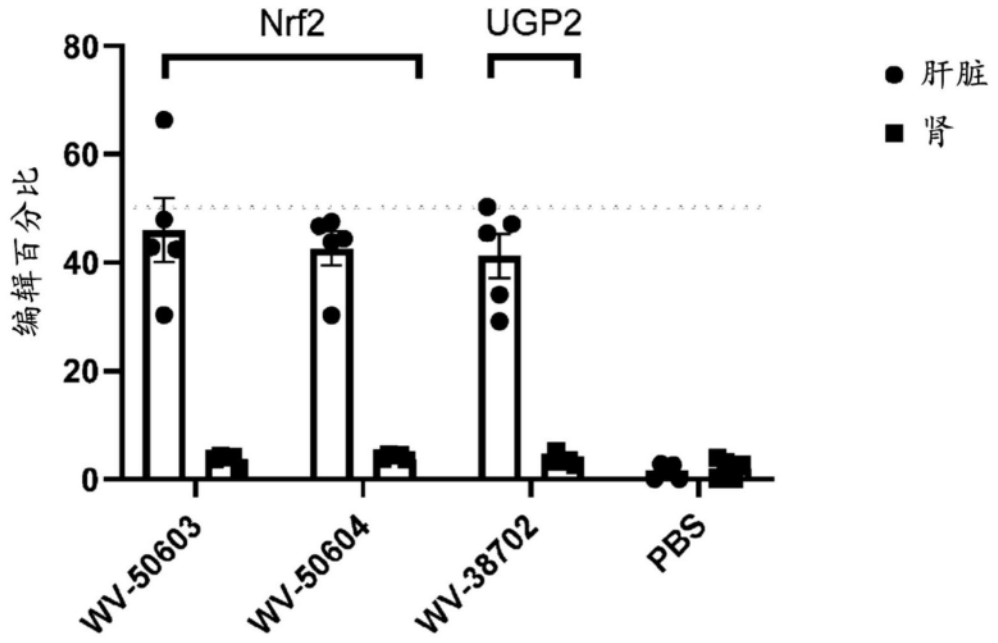
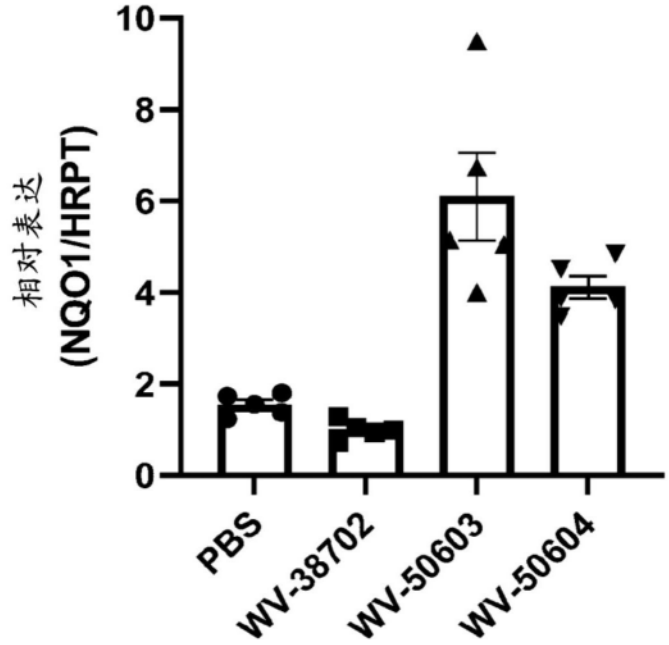
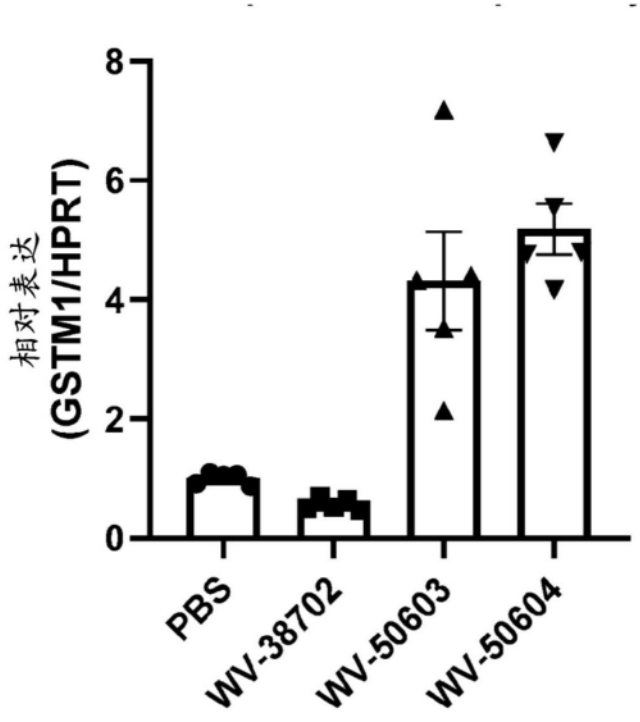

Nrf2
UGP2
肝脏
肾
编辑百分比
80
60
40
20
0
WV-50603
WV-50604
WV-38702
PBS

图8


相对表达
(NQO1/HRPT)
10
8
6
4
2
0
PBS
WV-38702
WV-50603
WV-50604

(a)


相对表达
(GSTM1/HPRT)
8
6
4
2
0
PBS
WV-38702
WV-50603
WV-50604

(b)

图9

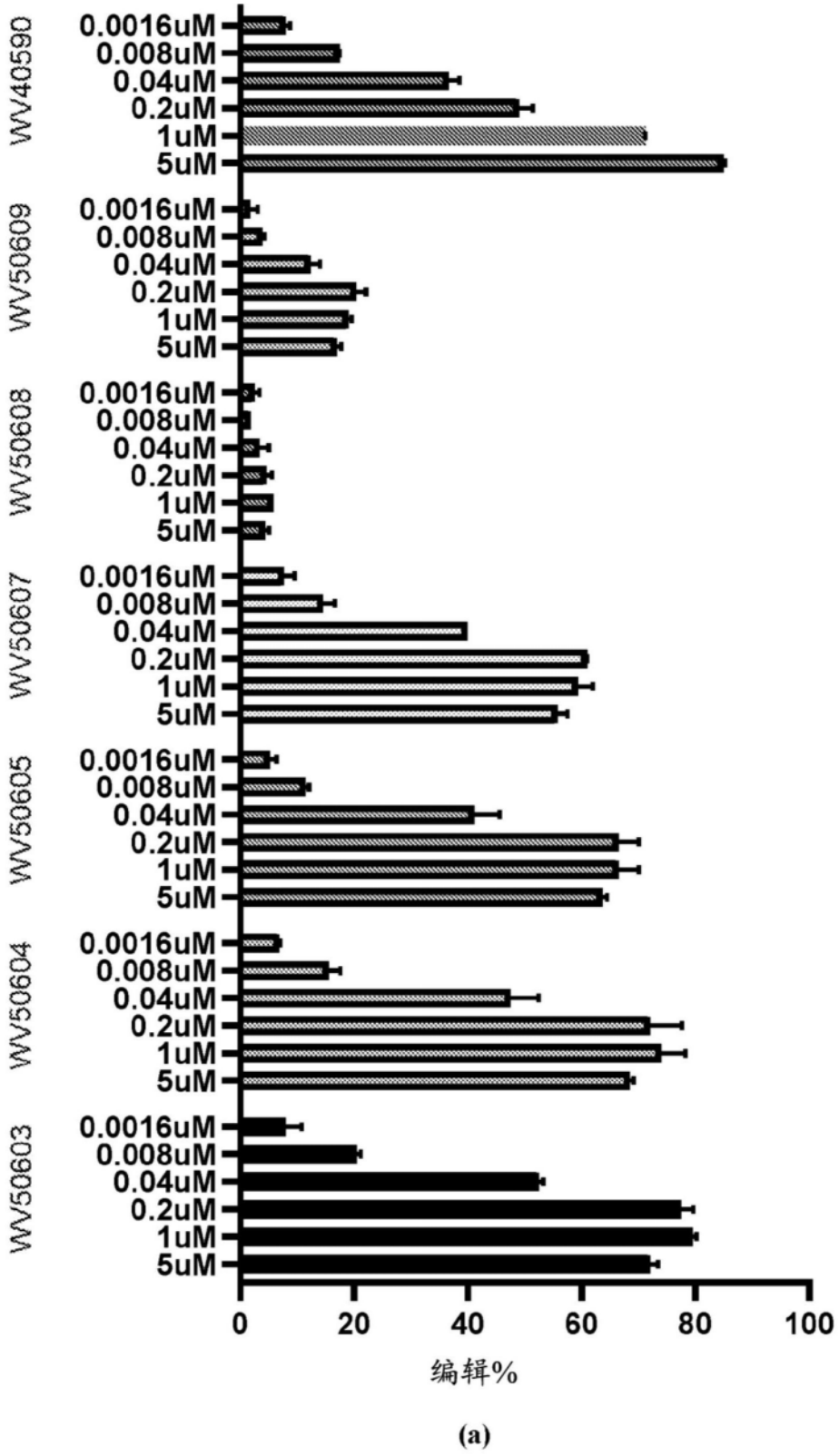

WV40590
WV50609
WV50608
WV50607
WV50605
WV50604
WV50603
0.0016uM
0.008uM
0.04uM
0.2uM
1uM
5uM
0
20
40
60
80
100
编辑%
(a)

图10

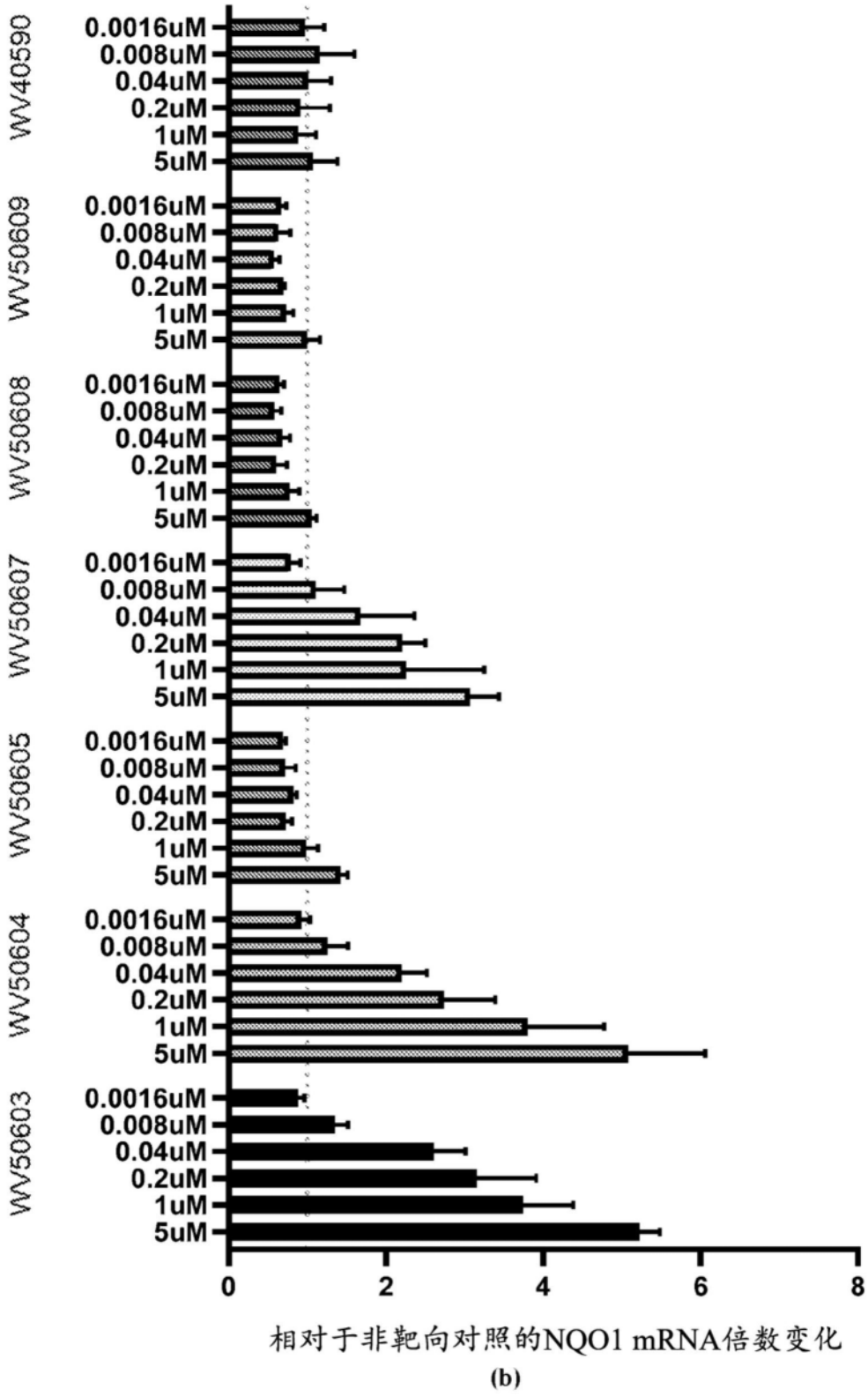

WV40590
WV50609
WV50608
WV50607
WV50605
WV50604
WV50603
0.0016uM
0.008uM
0.04uM
0.2uM
1uM
5uM
0
2
4
6
8
相对于非靶向对照的NQO1 mRNA倍数变化
(b)

图10(续)

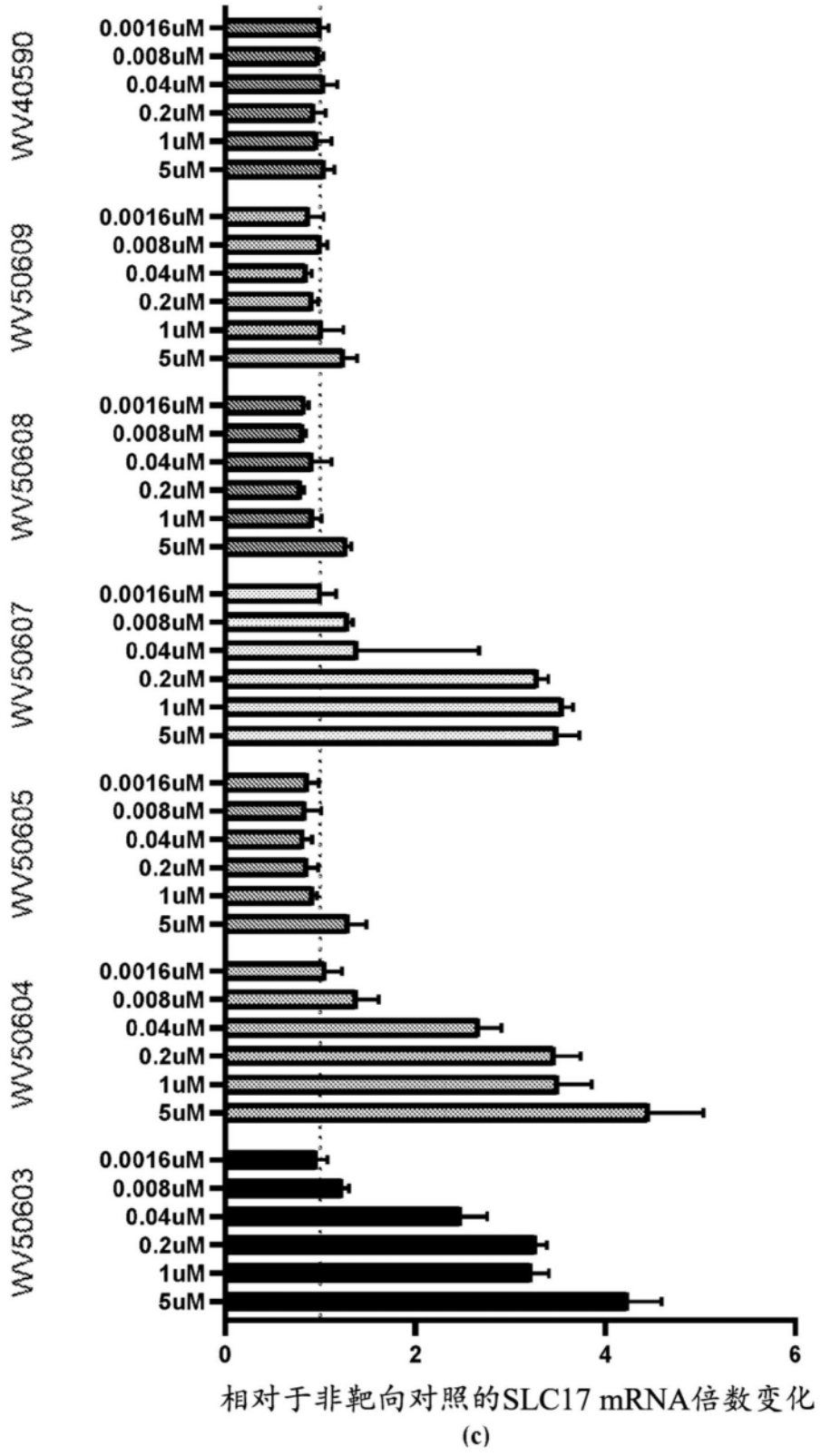

WV40590
WV50609
WV50608
WV50607
WV50605
WV50604
WV50603
0.0016uM
0.008uM
0.04uM
0.2uM
1uM
5uM
0
2
4
6
相对于非靶向对照的SLC17 mRNA倍数变化
(c)

图10(续)

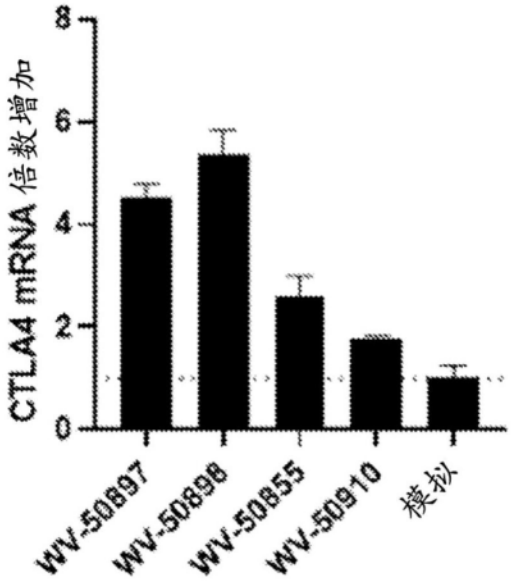

CTLA4 mRNA 倍数增加
0
2
4
6
8
WV-50897
WV-50898
WV-50855
WV-50910
模拟

图11

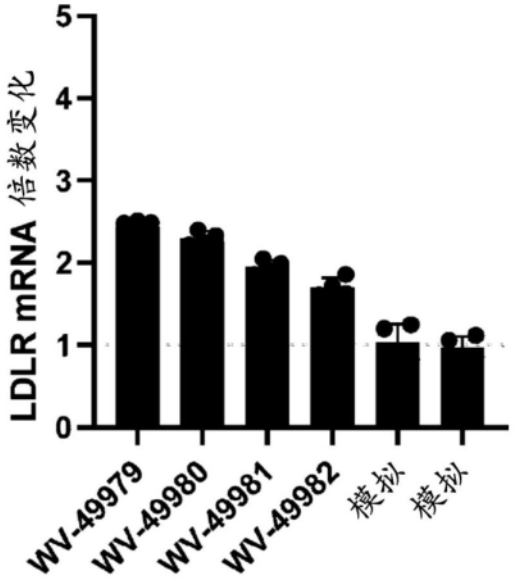

LDLR mRNA 倍数变化
0
1
2
3
4
5
WV-49979
WV-49980
WV-49981
WV-49982
模拟
模拟

图12

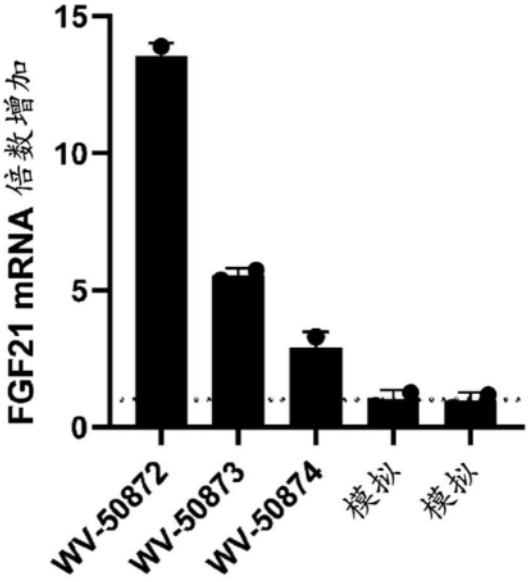

FGF21 mRNA 倍数增加
15
10
5
0
WV-50872
WV-50873
WV-50874
模拟
模拟

图13

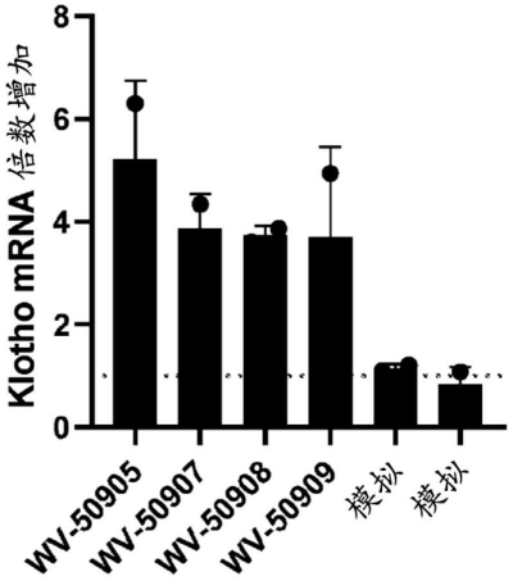

Klotho mRNA 倍数增加
8
6
4
2
0
WV-50905
WV-50907
WV-50908
WV-50909
模拟
模拟

图14

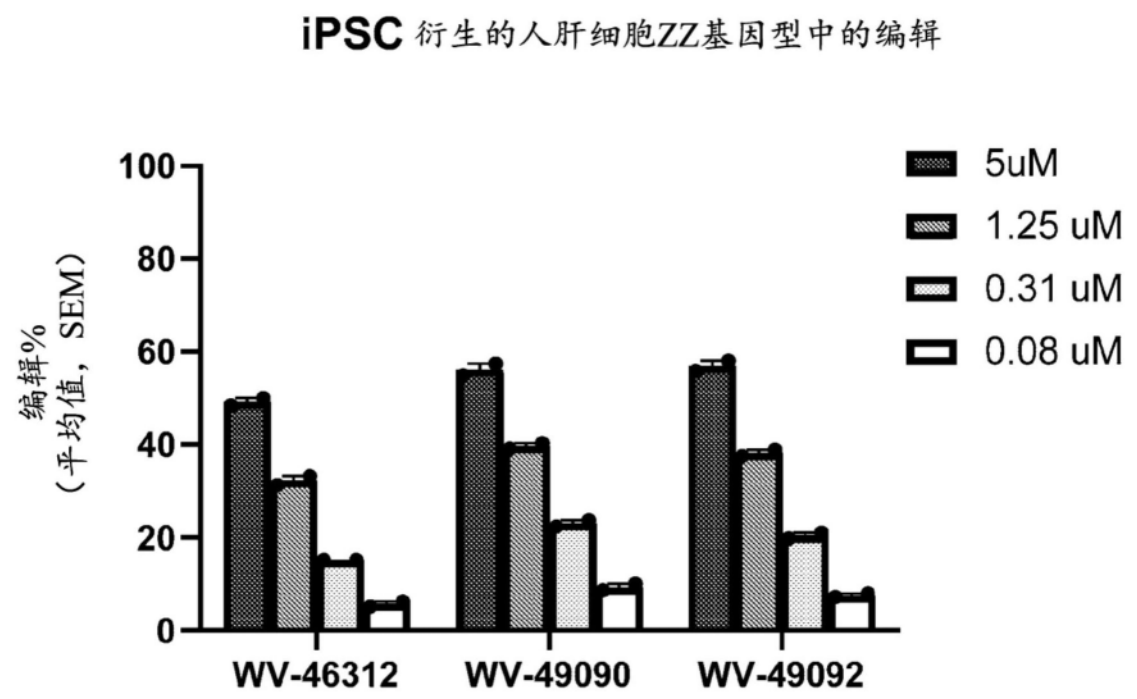

iPSC 衍生的人肝细胞ZZ基因型中的编辑
编辑%
（平均值，SEM）
100
80
60
40
20
0
5uM
1.25 uM
0.31 uM
0.08 uM
WV-46312
WV-49090
WV-49092

图15

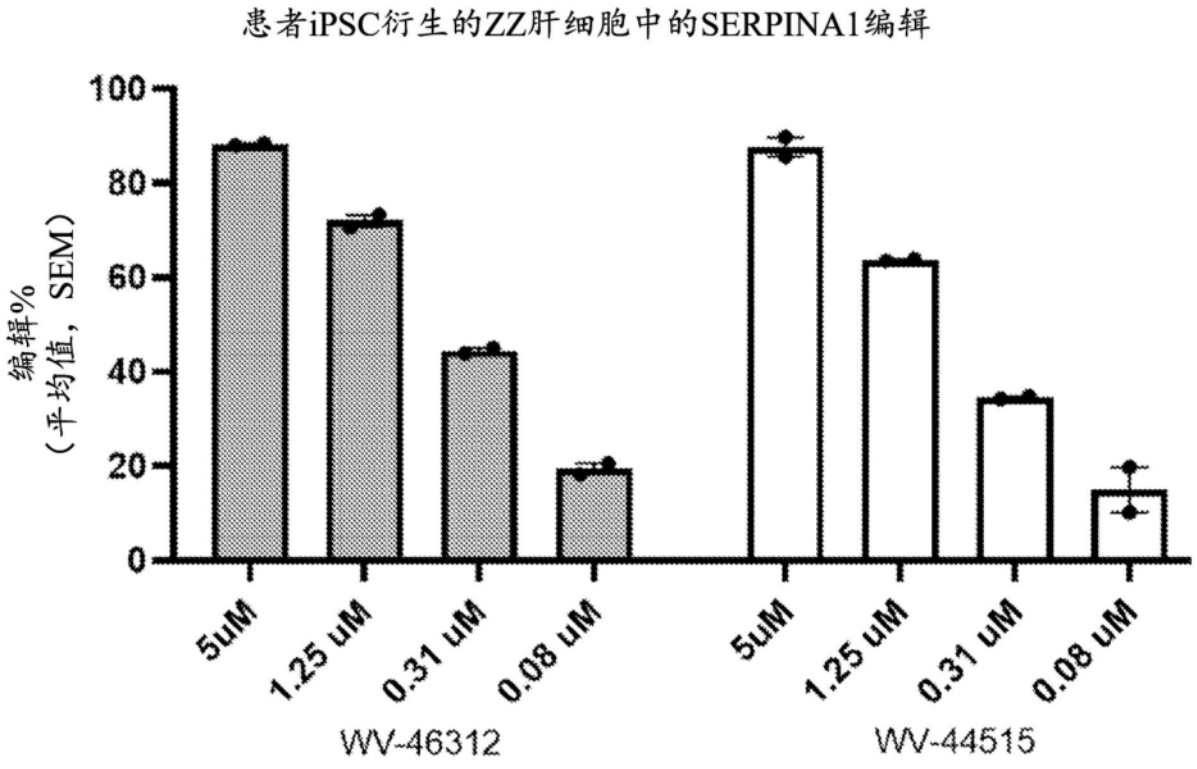

患者iPSC衍生的ZZ肝细胞中的SERPINA1编辑
编辑%
（平均值，SEM）
100
80
60
40
20
0
5uM
1.25 uM
0.31 uM
0.08 uM
5uM
1.25 uM
0.31 uM
0.08 uM
WV-46312
WV-44515

图16

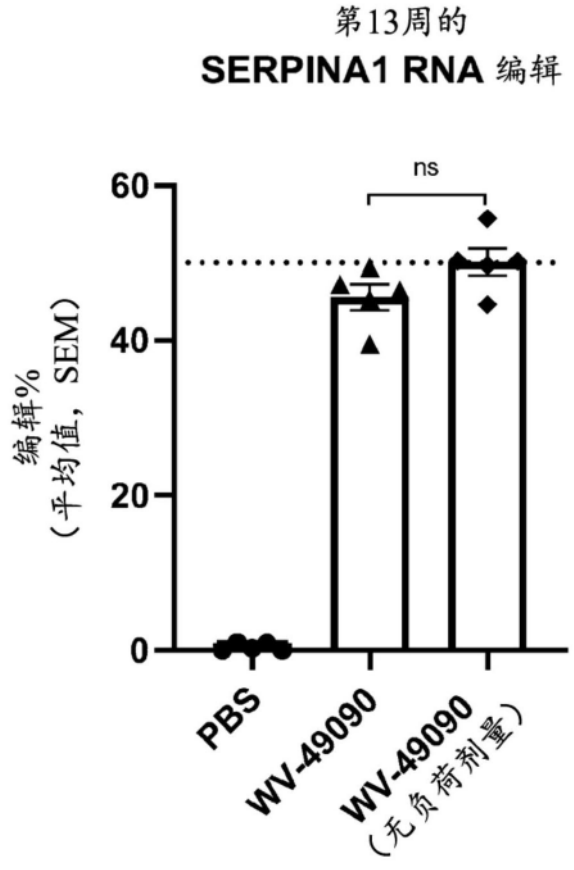

第13周的
SERPINA1 RNA 编辑
ns
60
40
20
0
编辑%
（平均值，SEM）
PBS
WV-49090
WV-49090
（无负荷剂量）

图17

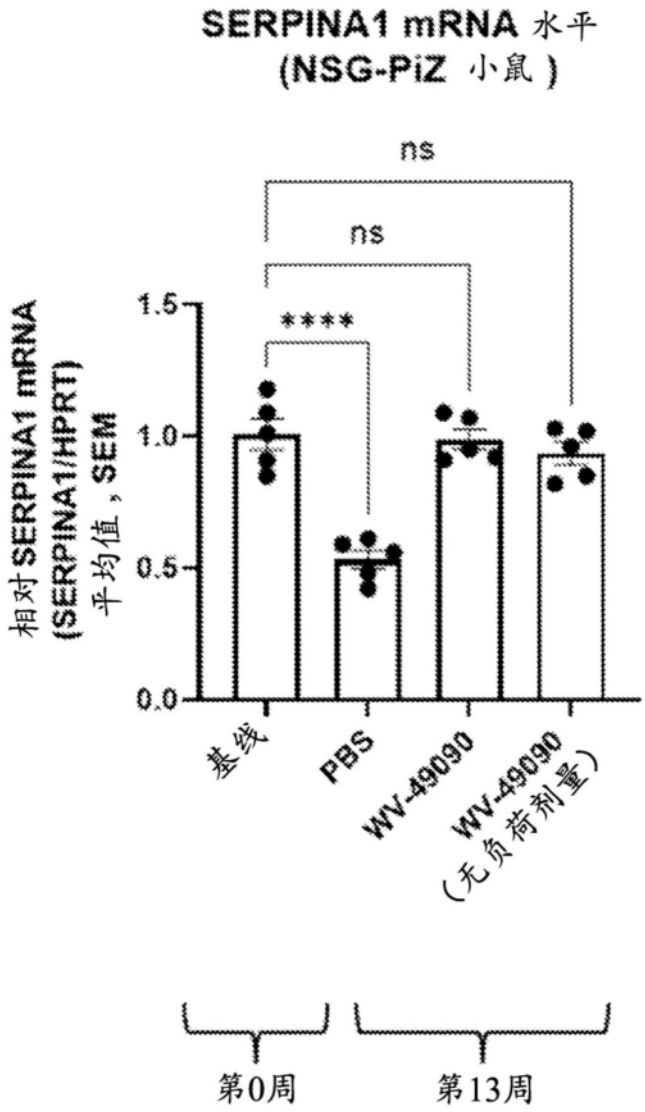

SERPINA1 mRNA 水平
(NSG-PiZ 小鼠)
ns
ns
****
1.5
1.0
0.5
0.0
相对SERPINA1 mRNA
(SERPINA1/HPRT)
平均值，SEM
基线
PBS
WV-49090
WV-49090
(无负荷剂量)
第0周
第13周

图18

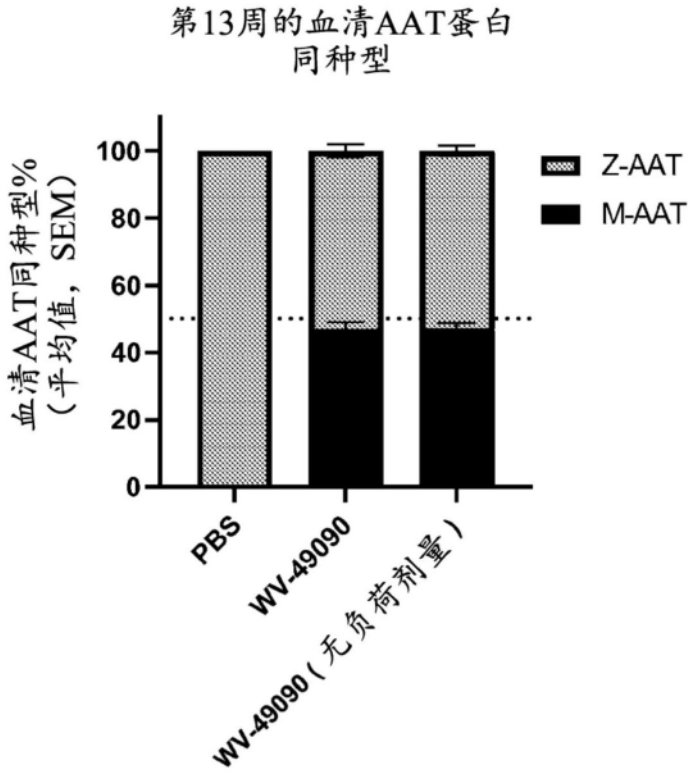

第13周的血清AAT蛋白
同种型
血清AAT同种型%
（平均值，SEM）
100
80
60
40
20
0
Z-AAT
M-AAT
PBS
WV-49090
WV-49090（无负荷剂量）

图19

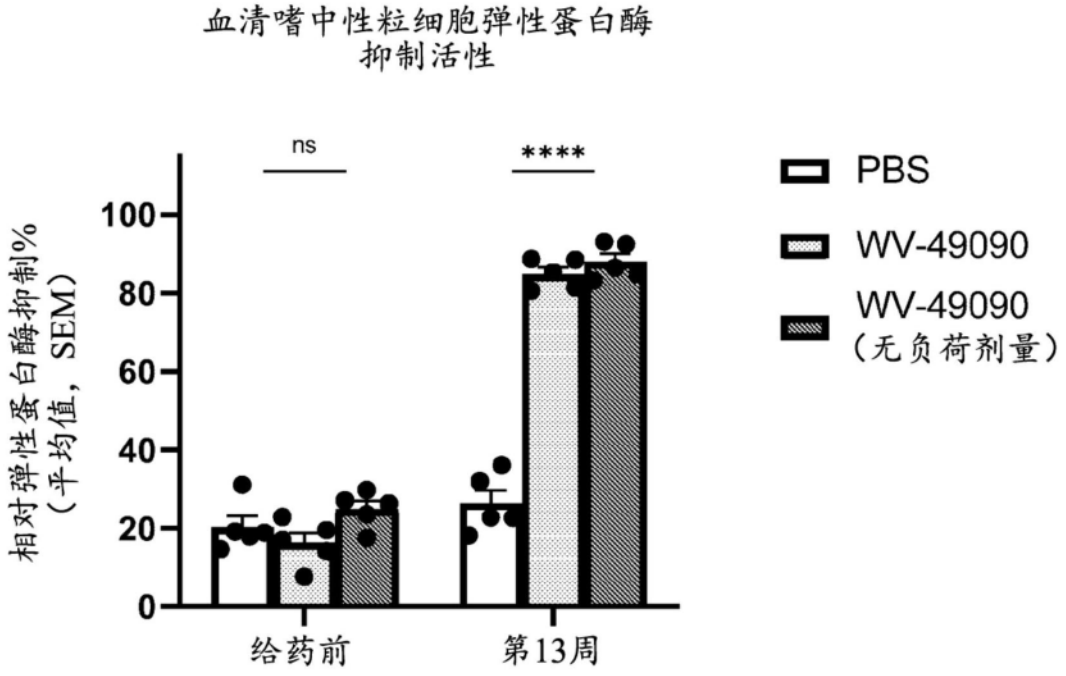

血清嗜中性粒细胞弹性蛋白酶
抑制活性
相对弹性蛋白酶抑制%
（平均值，SEM）
ns
****
100
80
60
40
20
0
给药前
第13周
PBS
WV-49090
WV-49090
（无负荷剂量）

图20

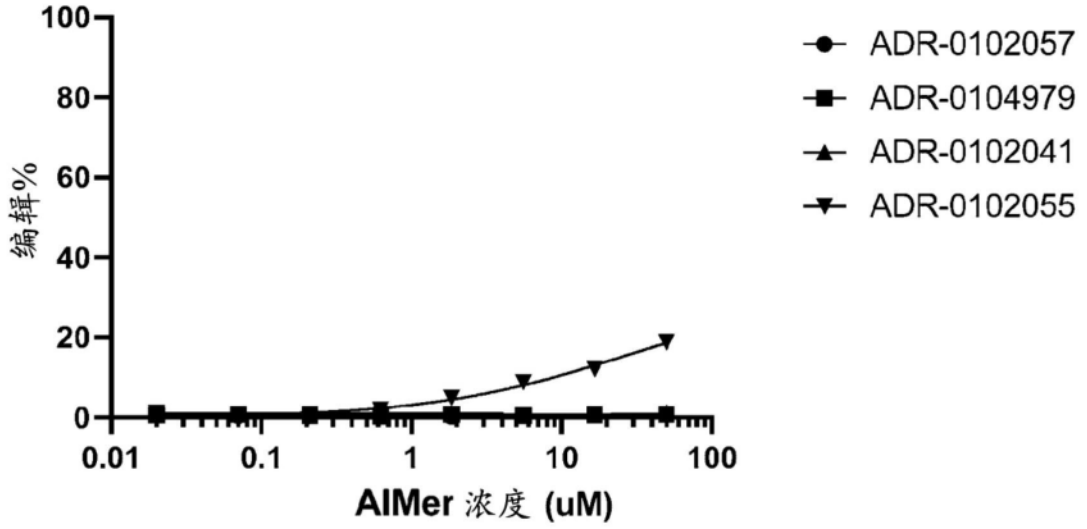

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图21

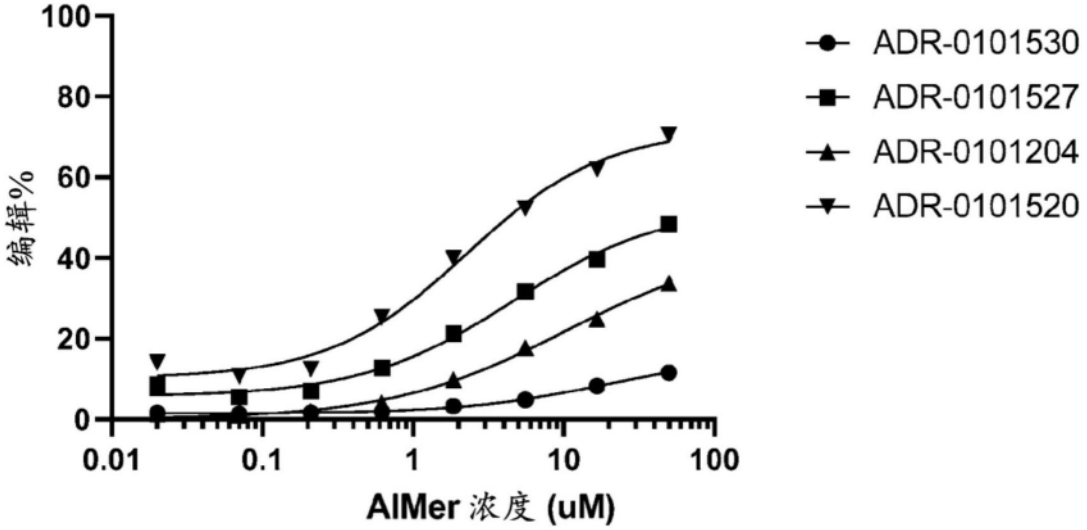

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0101530
ADR-0101527
ADR-0101204
ADR-0101520

图22

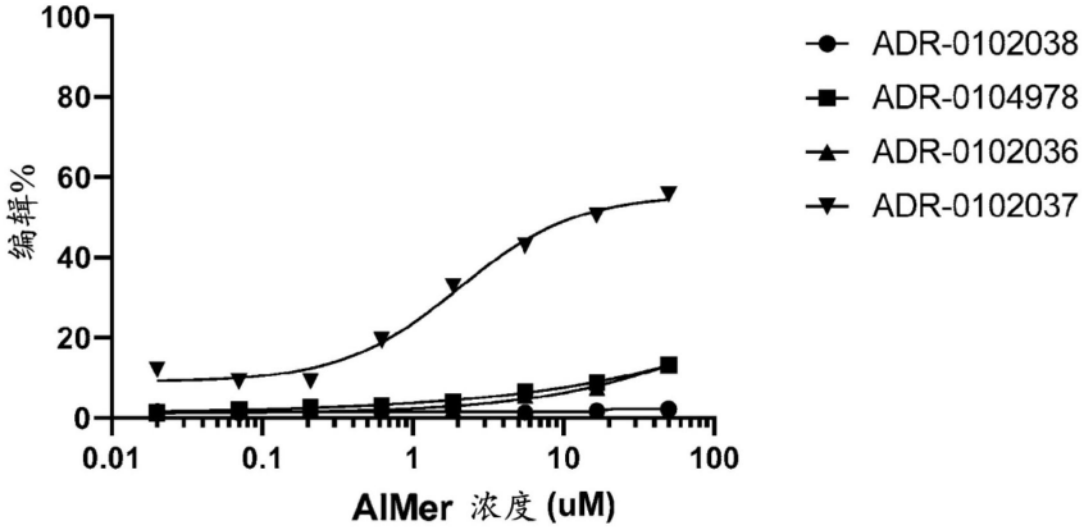

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图23

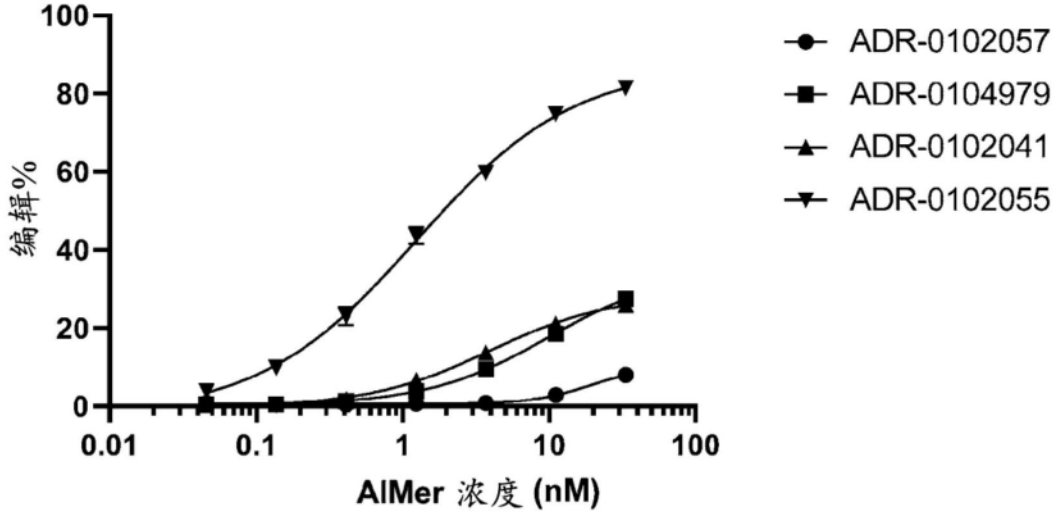

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (nM)
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图24

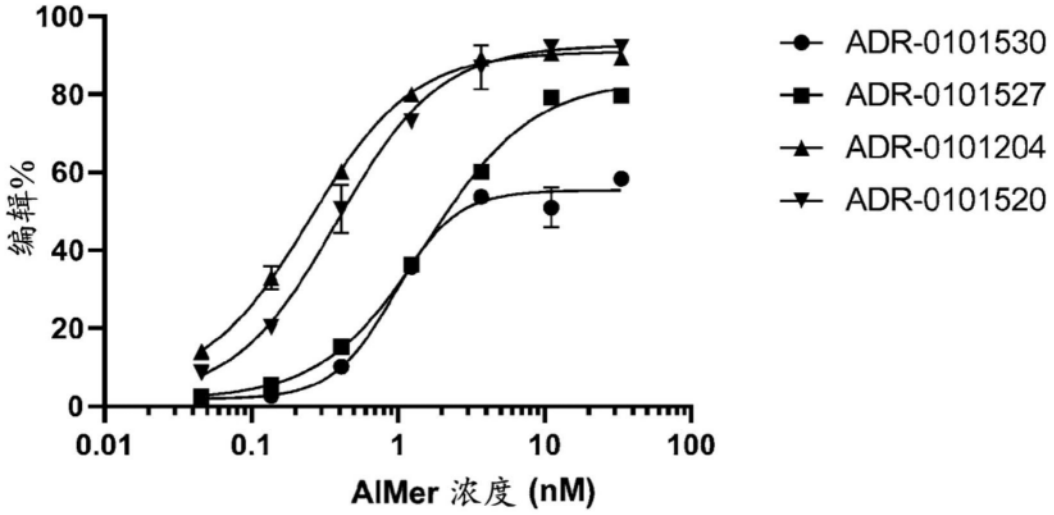

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (nM)
ADR-0101530
ADR-0101527
ADR-0101204
ADR-0101520

图25

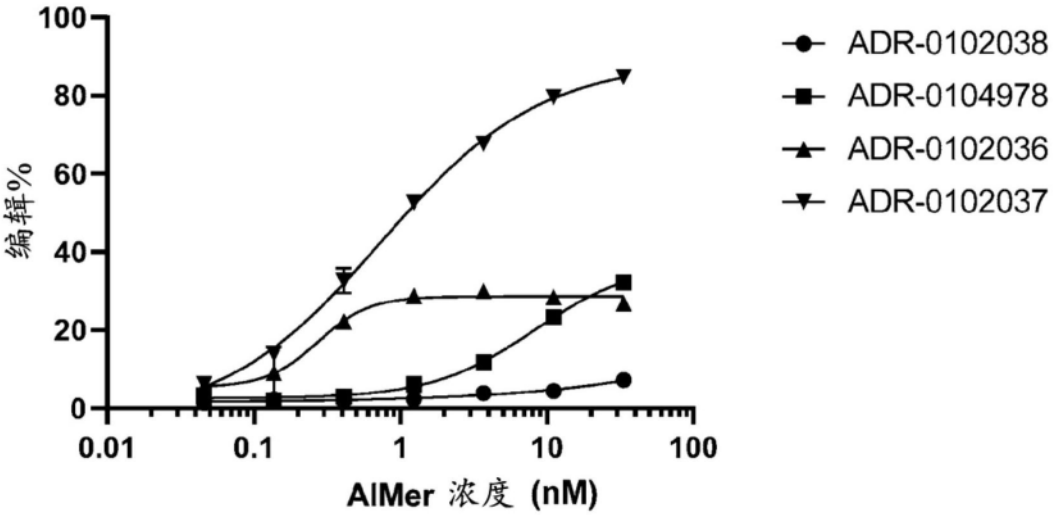

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
AIMer 浓度 (nM)
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图26

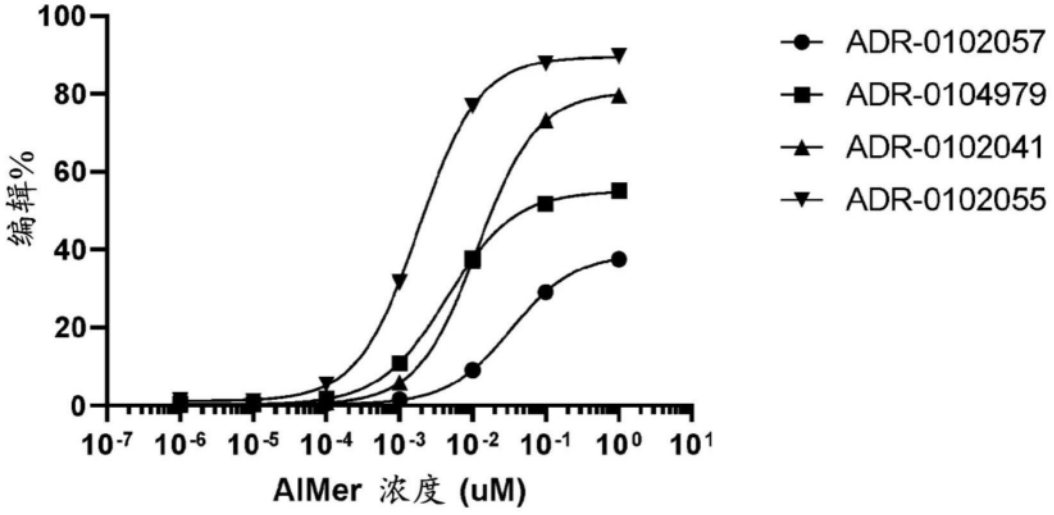

100
80
60
40
20
0
编辑%
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图27

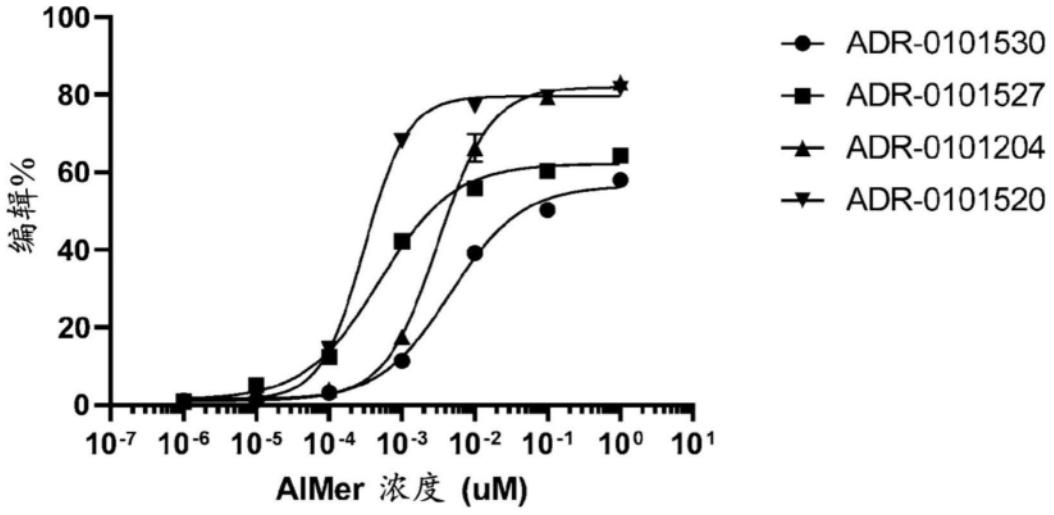

100
80
60
40
20
0
编辑%
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0101530
ADR-0101527
ADR-0101204
ADR-0101520

图28

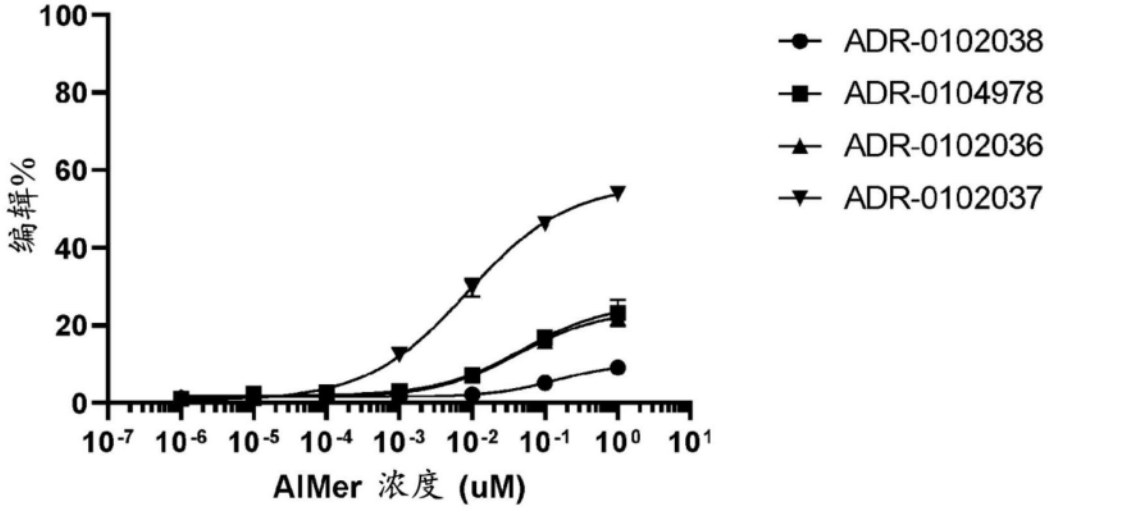

100
80
60
40
20
0
编辑%
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图29

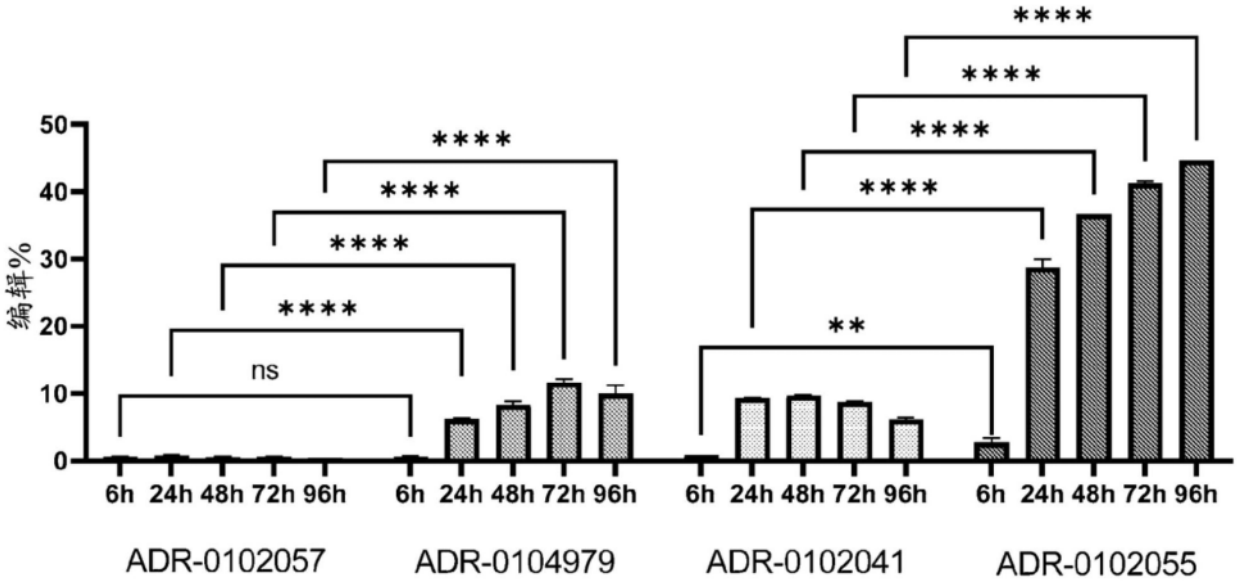

50
40
30
20
10
0
编辑%
ns
****
**
6h 24h 48h 72h 96h
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图30

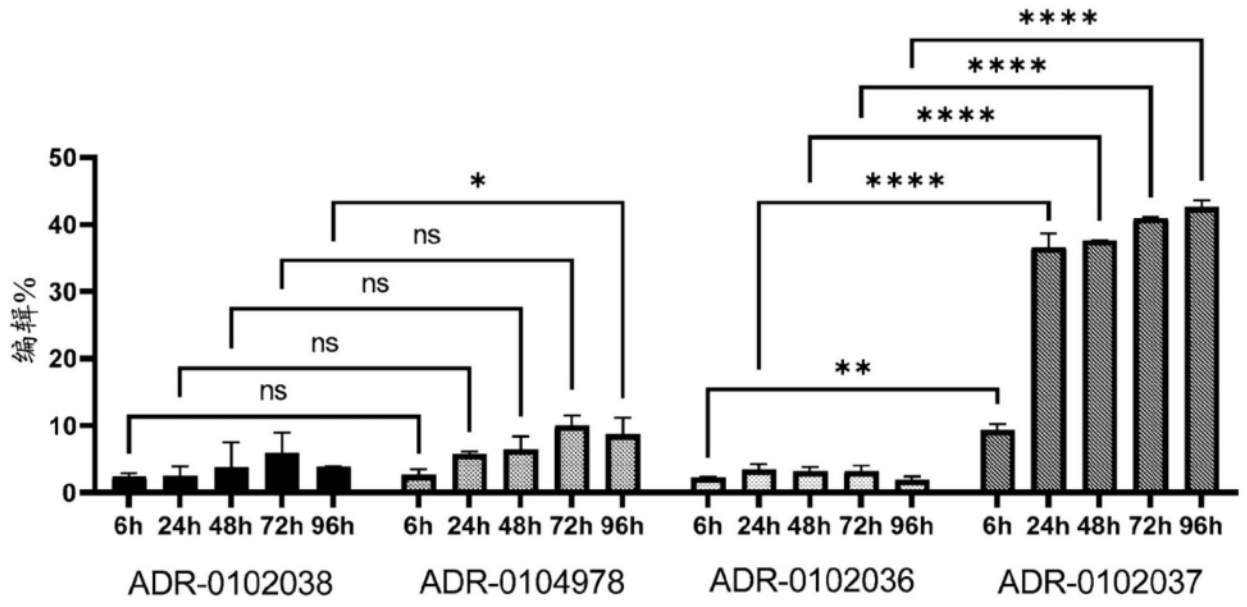

编辑%
50
40
30
20
10
0
****
****
****
****
*
ns
ns
ns
ns
**
6h 24h 48h 72h 96h
6h 24h 48h 72h 96h
6h 24h 48h 72h 96h
6h 24h 48h 72h 96h
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图31

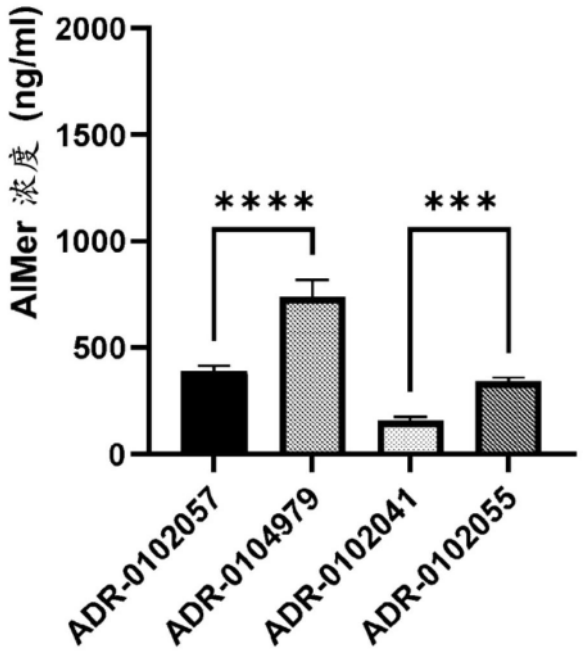

AIMer 浓度 (ng/ml)
2000
1500
1000
500
0
****
***
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图32

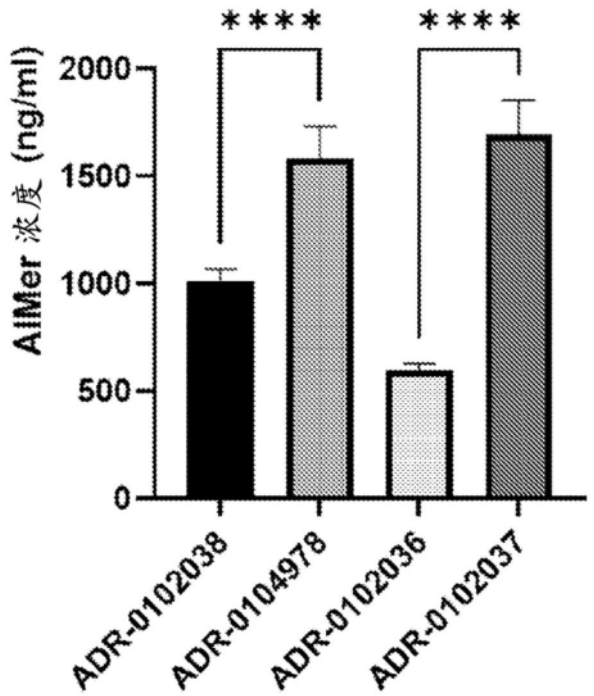

****
****
AIMer 浓度 (ng/ml)
2000
1500
1000
500
0
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图33

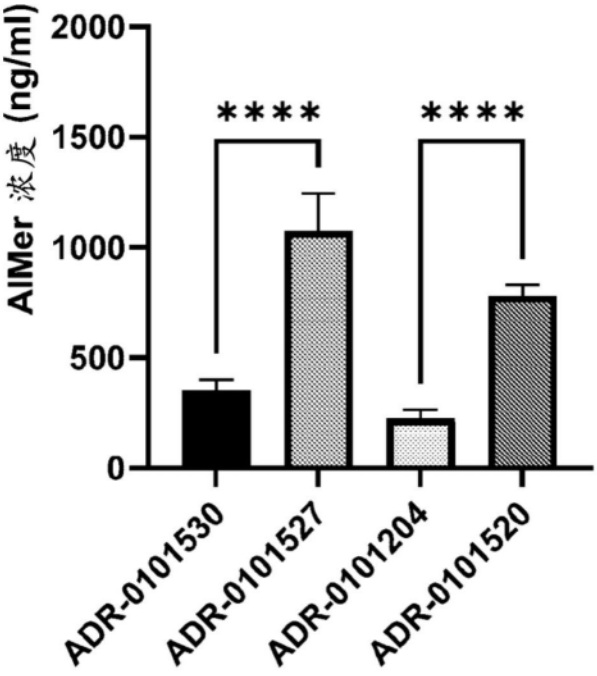

****
****
AIMer 浓度 (ng/ml)
2000
1500
1000
500
0
ADR-0101530
ADR-0101527
ADR-0101204
ADR-0101520

图34

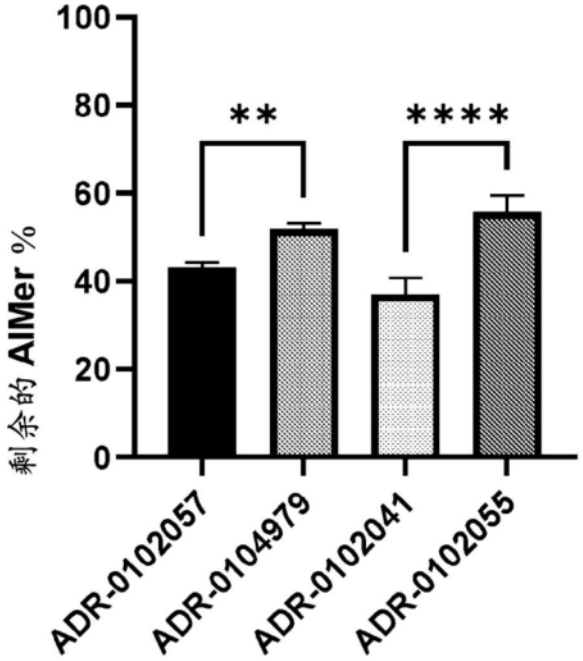

100
80
60
40
20
0
剩余的 AIMer %
**
****
ADR-0102057
ADR-0104979
ADR-0102041
ADR-0102055

图35

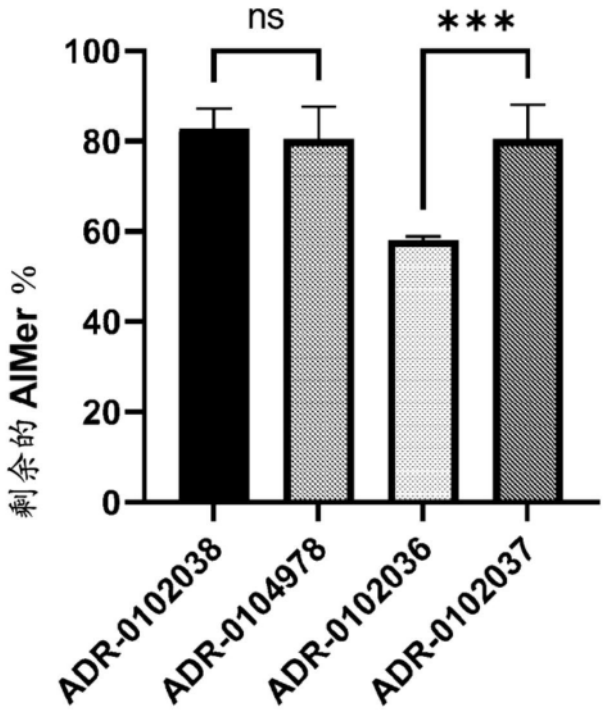

ns
***
100
80
60
40
20
0
剩余的 AIMer %
ADR-0102038
ADR-0104978
ADR-0102036
ADR-0102037

图36

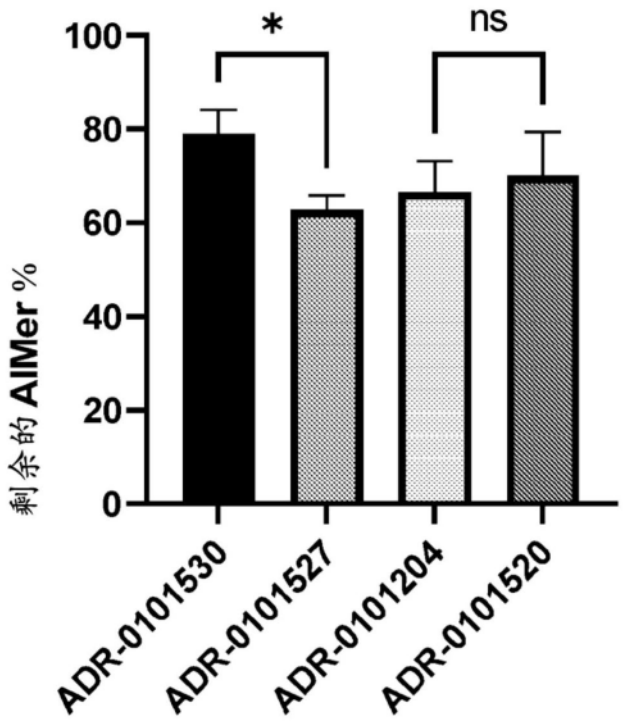

*
ns
100
80
60
40
20
0
剩余的 AIMer %
ADR-0101530
ADR-0101527
ADR-0101204
ADR-0101520

图37

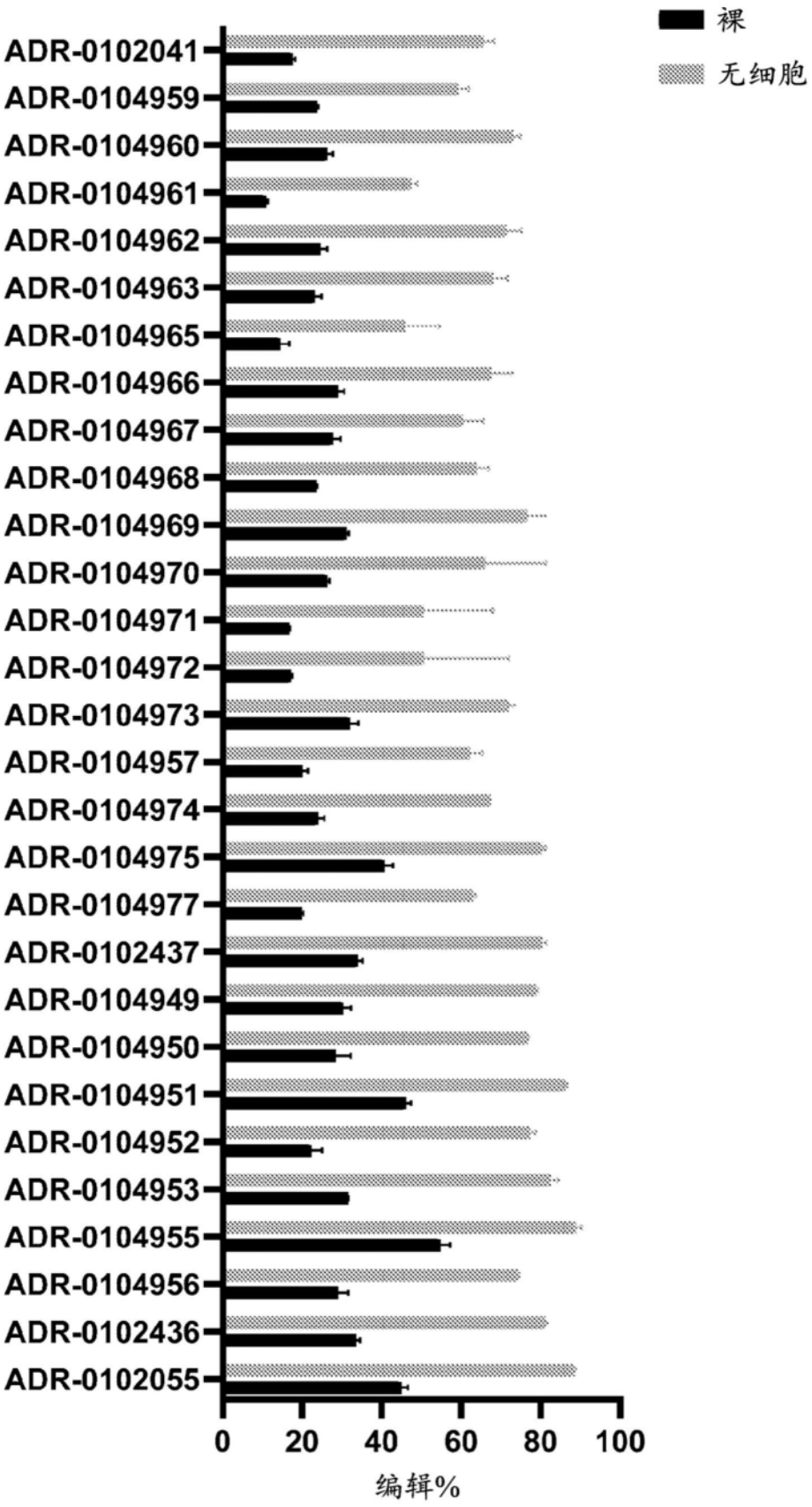

裸
无细胞
ADR-0102041
ADR-0104959
ADR-0104960
ADR-0104961
ADR-0104962
ADR-0104963
ADR-0104965
ADR-0104966
ADR-0104967
ADR-0104968
ADR-0104969
ADR-0104970
ADR-0104971
ADR-0104972
ADR-0104973
ADR-0104957
ADR-0104974
ADR-0104975
ADR-0104977
ADR-0102437
ADR-0104949
ADR-0104950
ADR-0104951
ADR-0104952
ADR-0104953
ADR-0104955
ADR-0104956
ADR-0102436
ADR-0102055
0
20
40
60
80
100
编辑%

图38

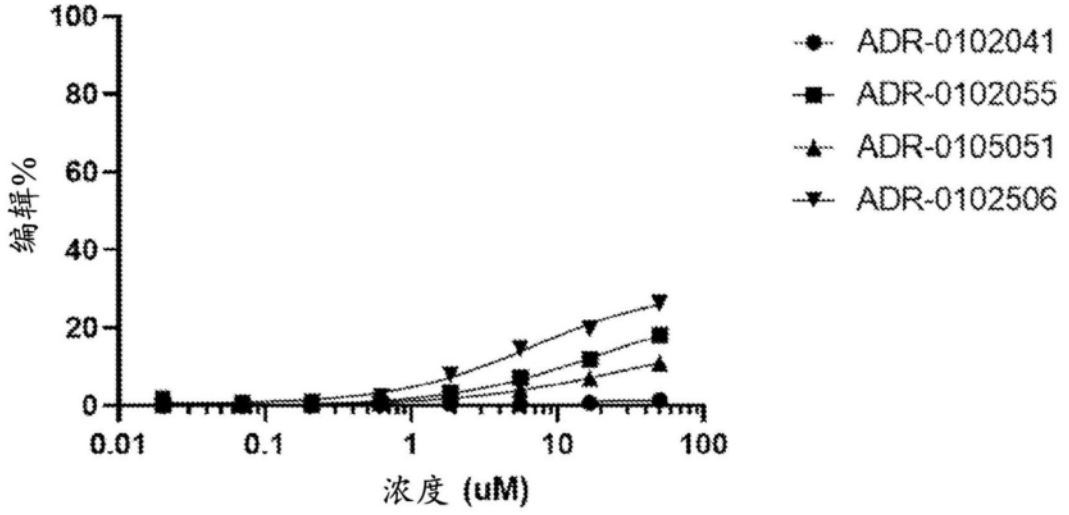

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.01
0.1
1
10
100
浓度 (uM)
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图39

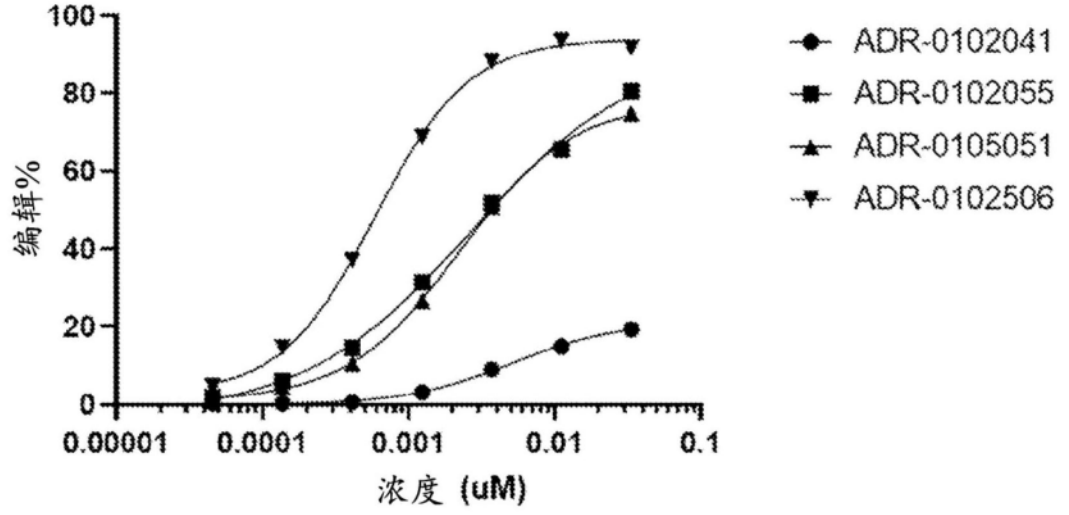

100
80
60
40
20
0
编辑%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
浓度 (uM)
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图40

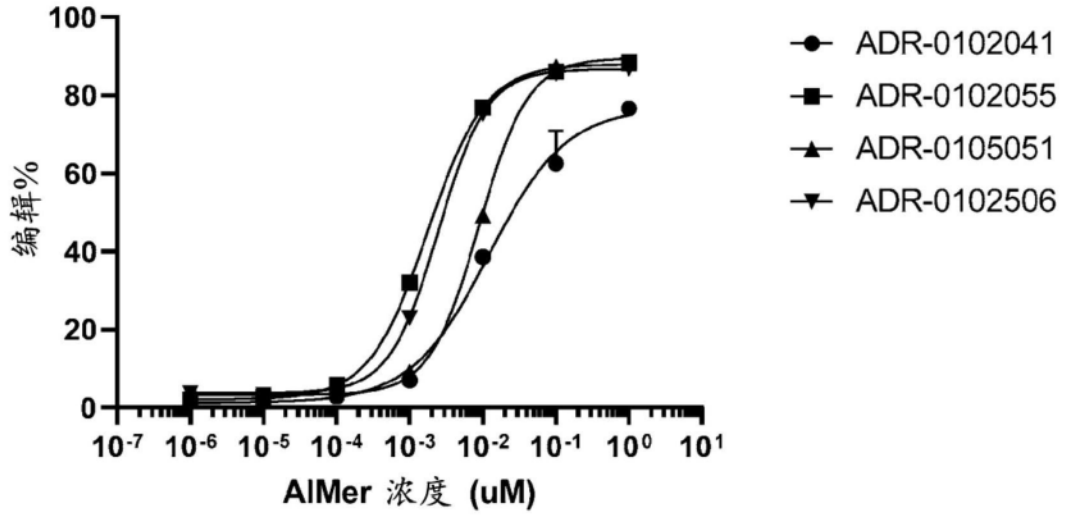

100
80
60
40
20
0
编辑%
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
AIMer 浓度 (uM)
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图41

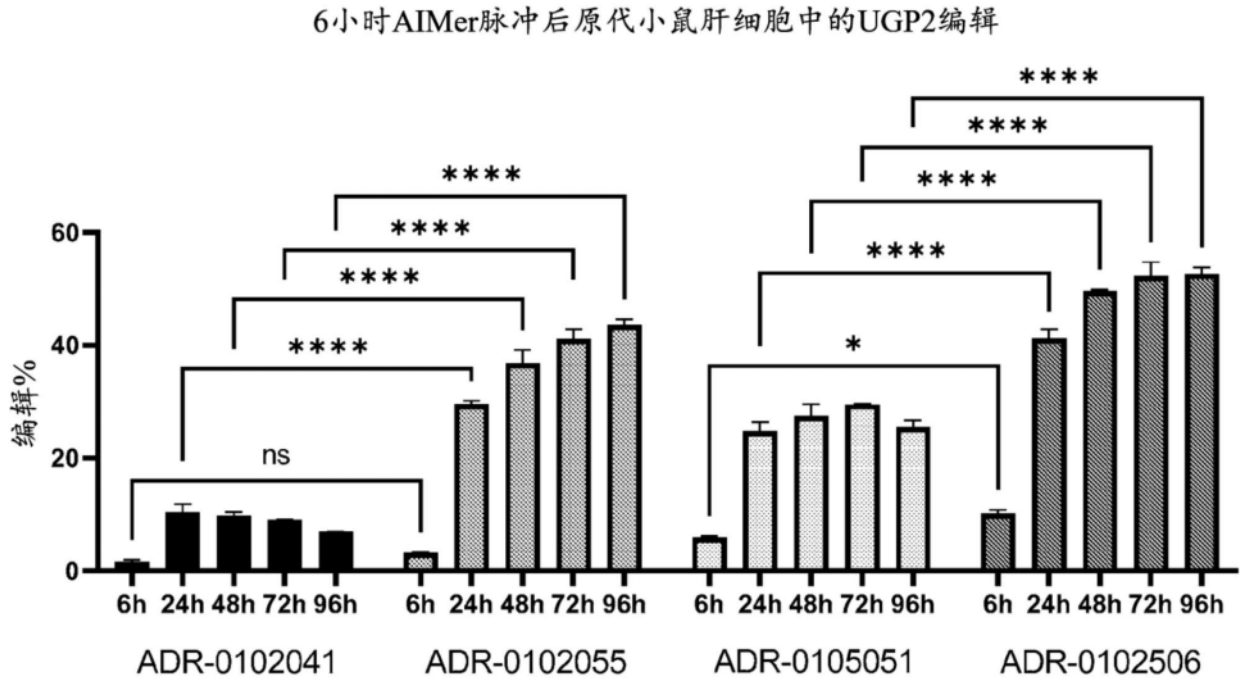

6小时AIMer脉冲后原代小鼠肝细胞中的UGP2编辑
编辑%
60
40
20
0
ns
****
*
6h 24h 48h 72h 96h
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图42

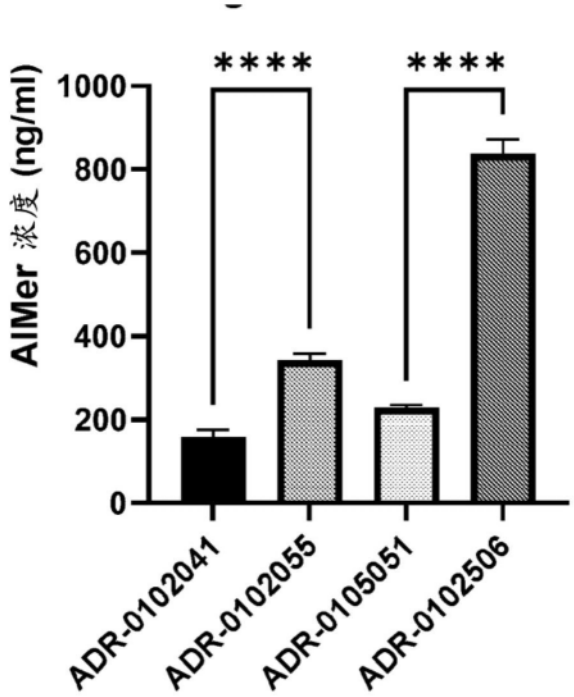

AIMer 浓度 (ng/ml)
1000
800
600
400
200
0
****
****
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图43

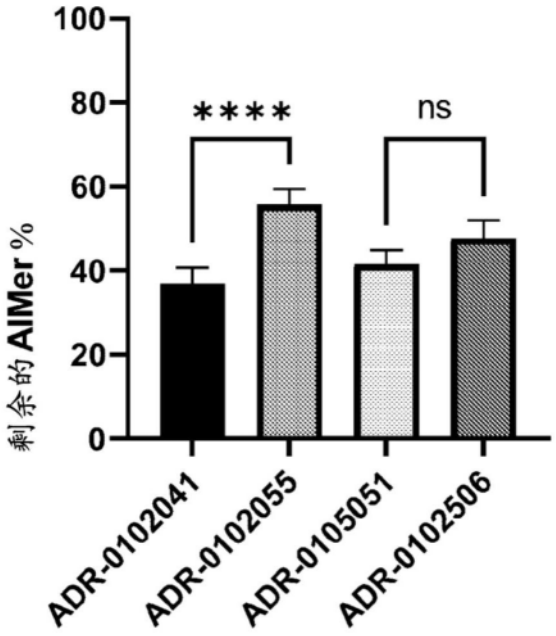
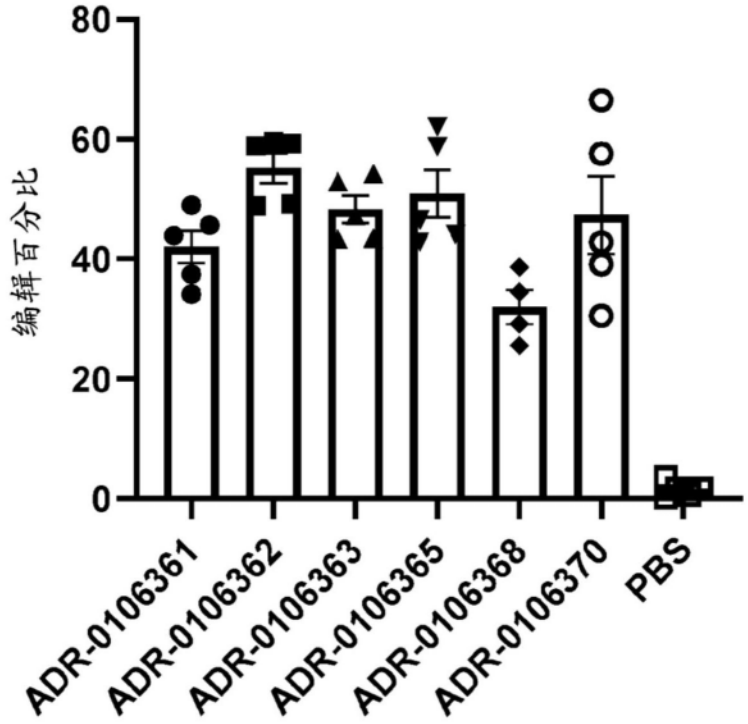
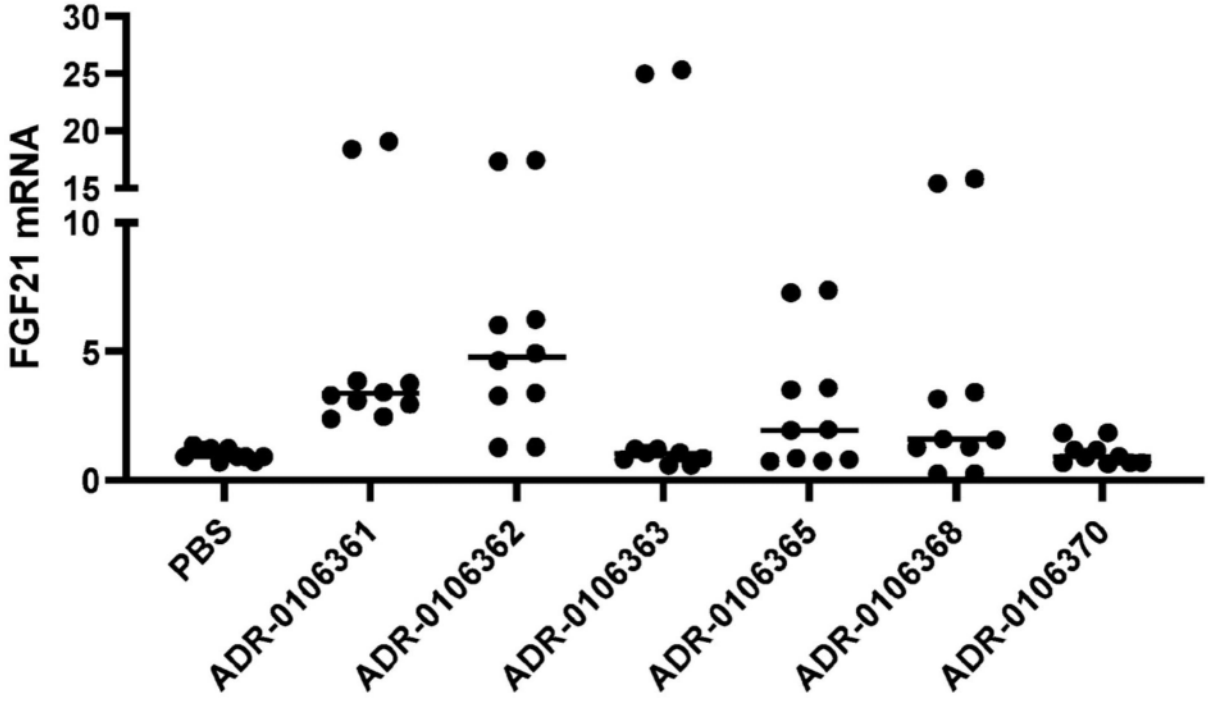

剩余的 AIMer %
100
80
60
40
20
0
****
ns
ADR-0102041
ADR-0102055
ADR-0105051
ADR-0102506

图44

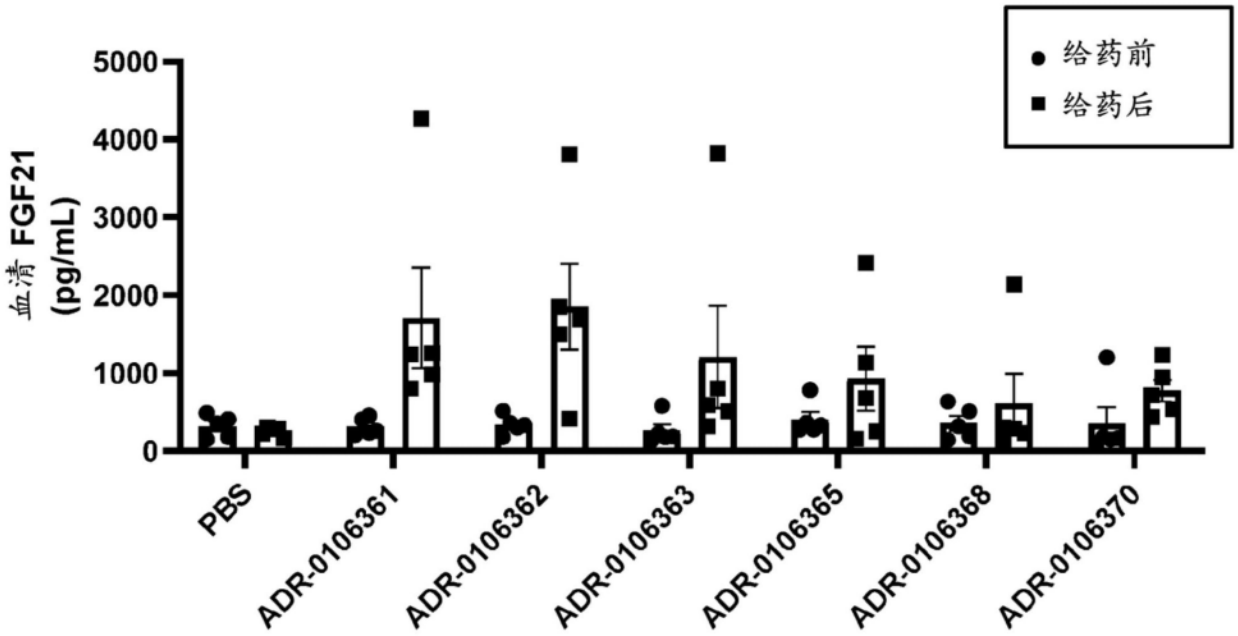

80
60
40
20
0
编辑百分比
ADR-0106361
ADR-0106362
ADR-0106363
ADR-0106365
ADR-0106368
ADR-0106370
PBS

(a)


30
25
20
15
10
5
0
FGF21 mRNA
PBS
ADR-0106361
ADR-0106362
ADR-0106363
ADR-0106365
ADR-0106368
ADR-0106370

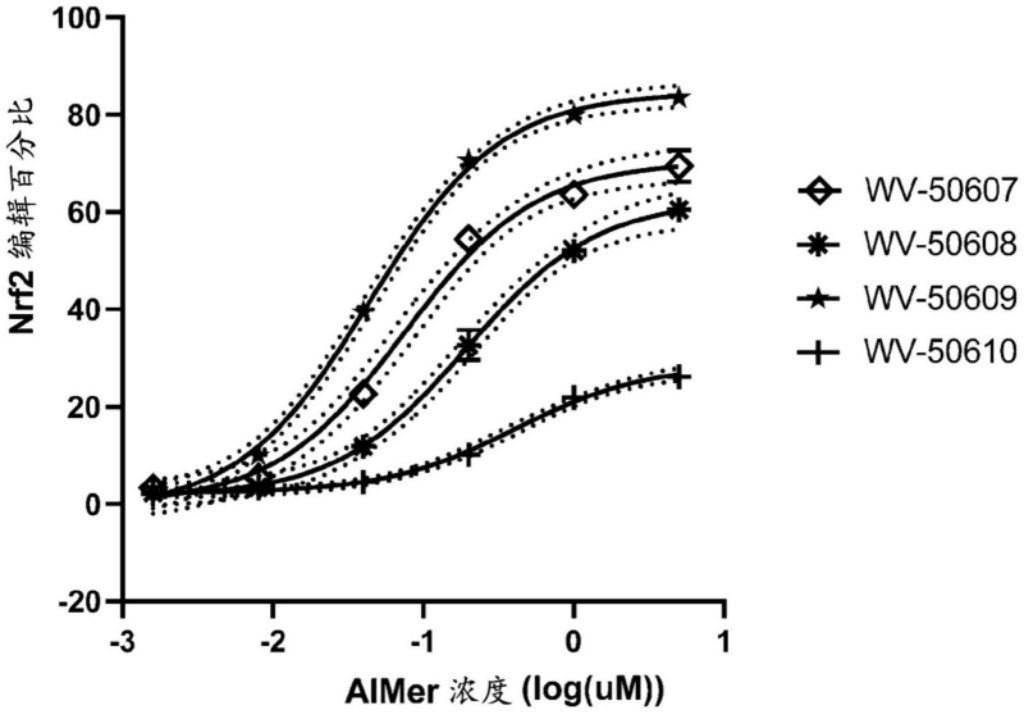
(b)

图45


给药前
给药后
血清 FGF21 (pg/mL)
5000
4000
3000
2000
1000
0
PBS
ADR-0106361
ADR-0106362
ADR-0106363
ADR-0106365
ADR-0106368
ADR-0106370

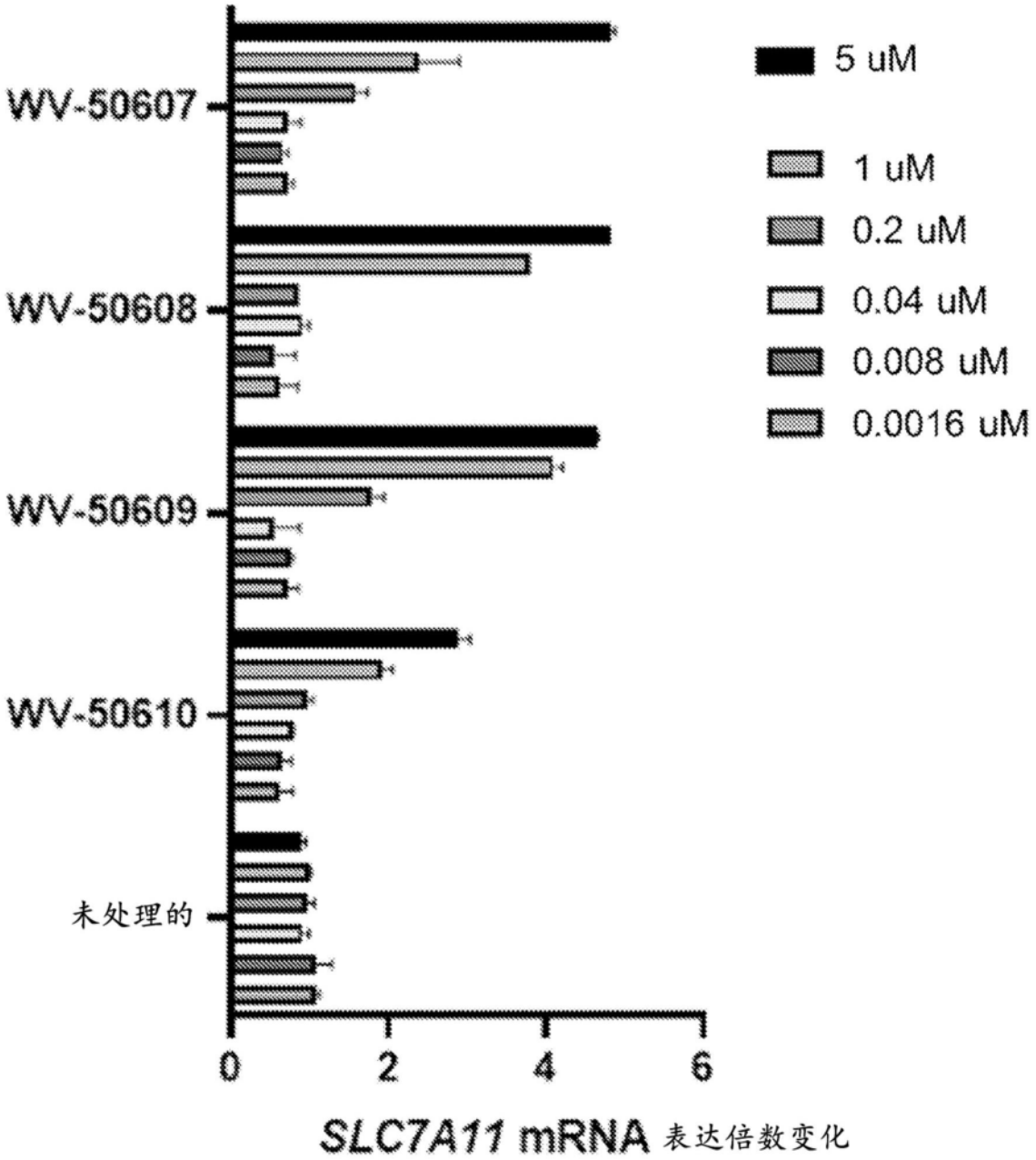
(c)

图45(续)


Nrf2 编辑百分比
100
80
60
40
20
0
-20
-3
-2
-1
0
1
AIMer 浓度 (log(uM))
WV-50607
WV-50608
WV-50609
WV-50610

(a)

图46


5 uM
1 uM
0.2 uM
0.04 uM
0.008 uM
0.0016 uM
WV-50607
WV-50608
WV-50609
WV-50610
未处理的
0
2
4
6
SLC7A11 mRNA 表达倍数变化

(b)

图46(续)



图47

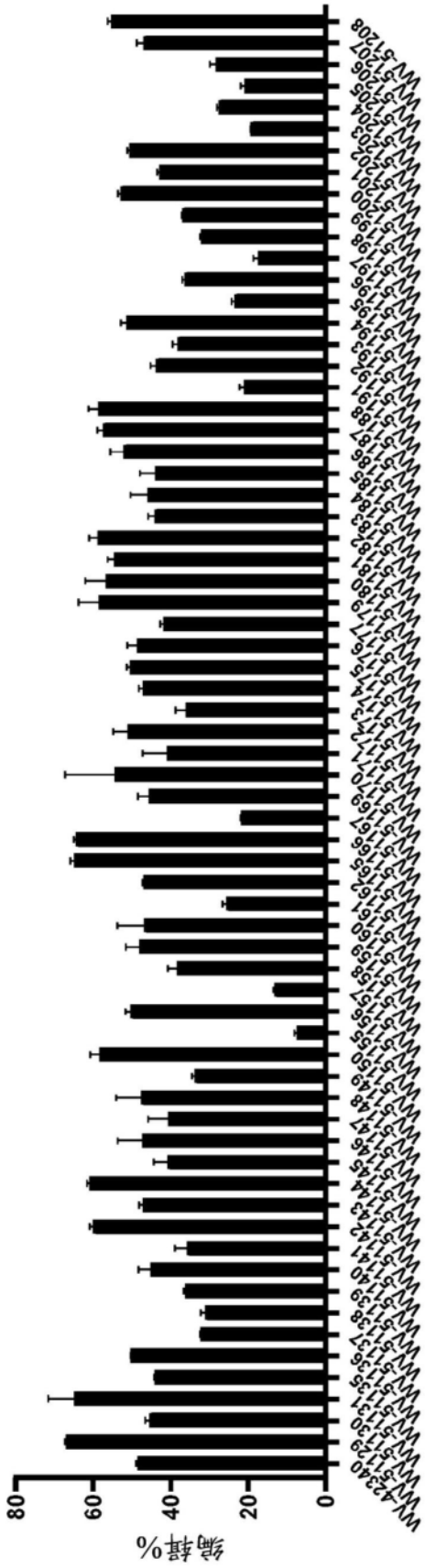


图48



图49

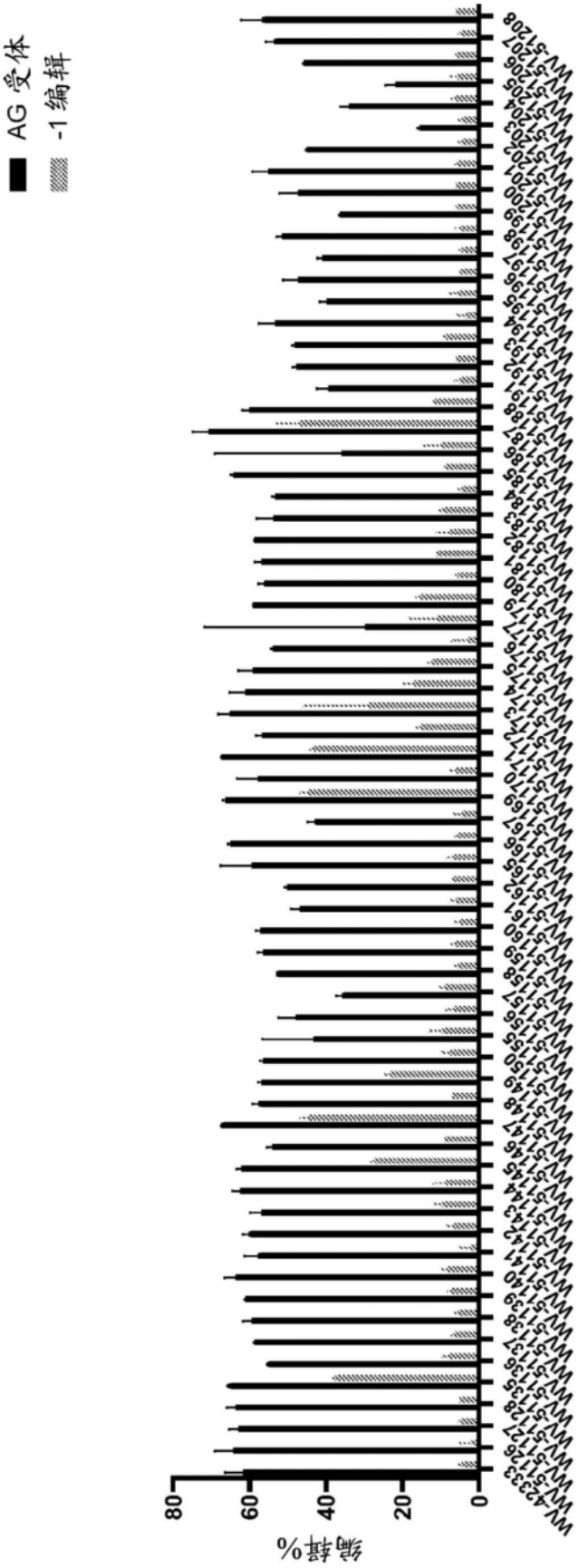


图50

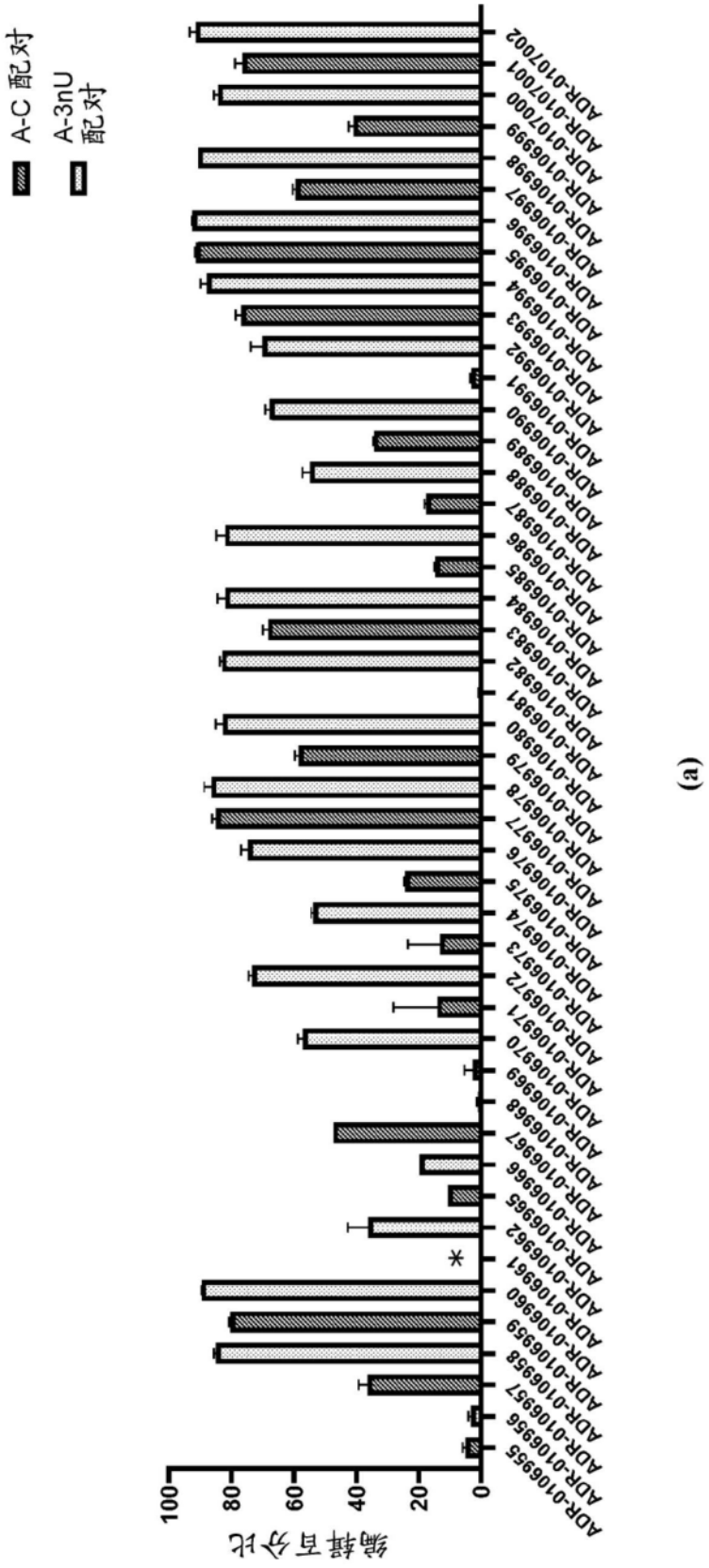


图51

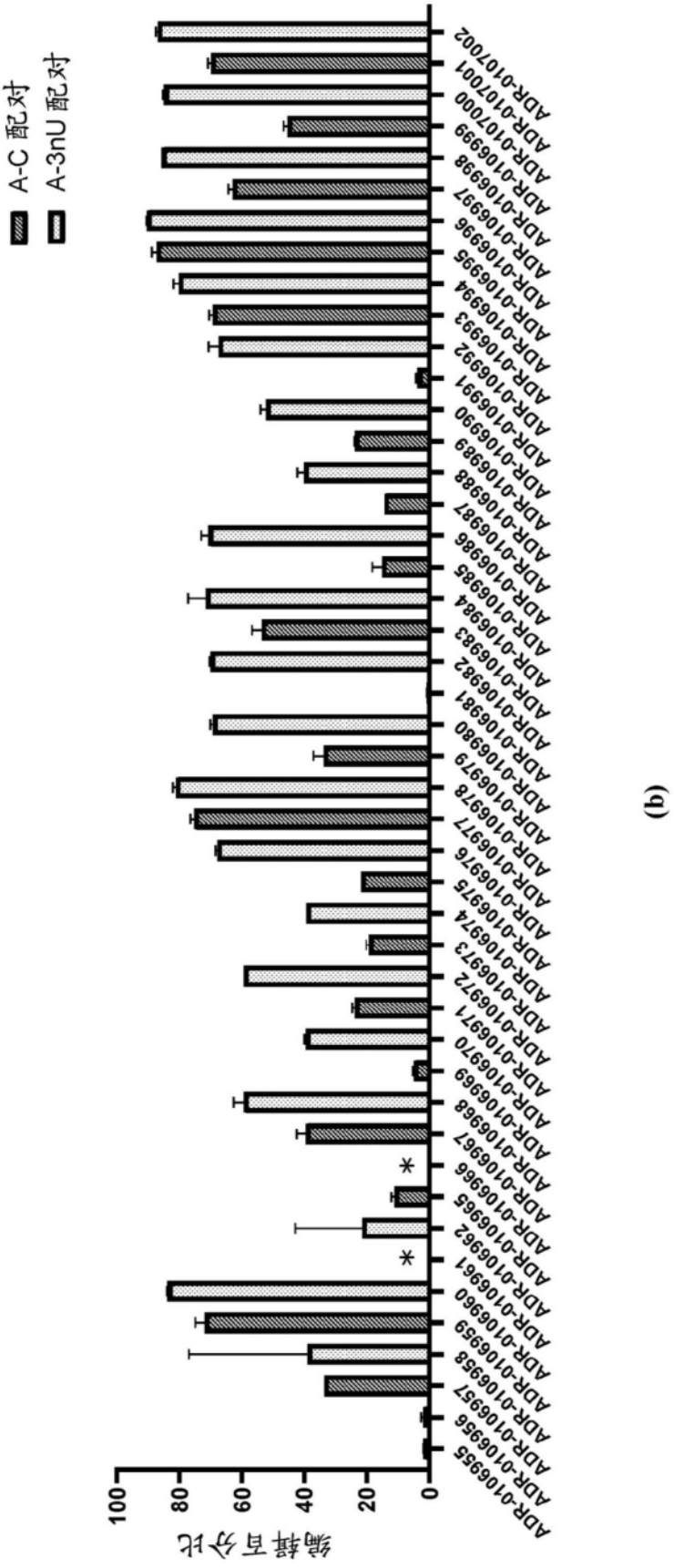


图51(续)

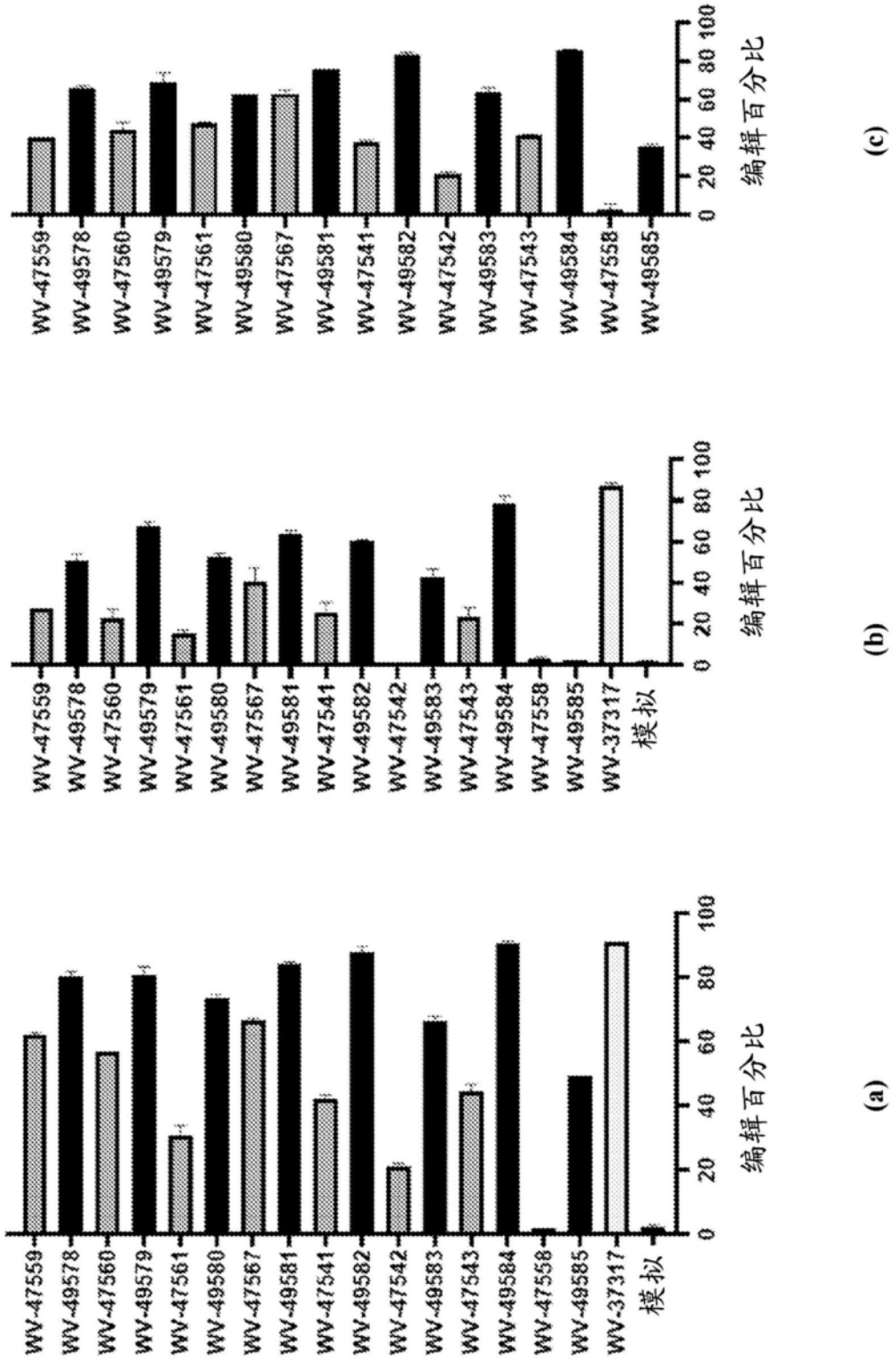

(a)
编辑百分比
0 20 40 60 80 100
WV-47559
WV-49578
WV-47560
WV-49579
WV-47561
WV-49580
WV-47567
WV-49581
WV-47541
WV-49582
WV-47542
WV-49583
WV-47543
WV-49584
WV-47558
WV-49585
WV-37317
模拟
(b)
编辑百分比
0 20 40 60 80 100
WV-47559
WV-49578
WV-47560
WV-49579
WV-47561
WV-49580
WV-47567
WV-49581
WV-47541
WV-49582
WV-47542
WV-49583
WV-47543
WV-49584
WV-47558
WV-49585
WV-37317
模拟
(c)
编辑百分比
0 20 40 60 80 100
WV-47559
WV-49578
WV-47560
WV-49579
WV-47561
WV-49580
WV-47567
WV-49581
WV-47541
WV-49582
WV-47542
WV-49583
WV-47543
WV-49584
WV-47558
WV-49585
WV-47558
WV-49585

图52