



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118974255 A

(43) 申请公布日 2024.11.15

(21) 申请号 202280090018.8

B·M·D·C·戈丁霍

(22) 申请日 2022.12.01

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

(30) 优先权数据

专利代理师 邵红

63/284,932 2021.12.01 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(51) Int.Cl.

2024.07.24

C12N 15/113 (2006.01)

C12N 15/11 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/080766 2022.12.01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/102490 EN 2023.06.08

(71) 申请人 阿塔兰塔治疗公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 S·I·麦克多诺

C·加伦特-贝赫姆 B·安德昂

M·哈斯勒 D·库蒂斯

权利要求书9页 说明书98页

序列表(电子公布) 附图1页

(54) 发明名称

用于治疗癫痫的组合物和方法

(57) 摘要

本公开提供了靶向钠活化钾通道亚家族T成员1(KCNT1)基因的单链或双链干扰RNA分子(例如,siRNA)。所述干扰RNA分子可含有特定模式的核苷修饰和核苷间键联修饰,作为包含所述干扰RNA分子的药物组合物。所述siRNA分子可以是分支siRNA分子,诸如二分支、三分支或四分支siRNA分子。所公开的siRNA分子还可以特征在于5'磷稳定部分和/或疏水部分。另外,本公开提供了用于将本公开的所述siRNA分子递送至受试者,诸如鉴定为患有癫痫综合征的受试者的中枢神经系统的方法。

1. 一种小干扰RNA (siRNA) 分子, 其包含反义链和与所述反义链具有互补性的有义链, 其中所述反义链具有足够的互补性以与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) mRNA转录物内的区域杂交。

2. 如权利要求1所述的siRNA分子, 其中所述反义链与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 mRNA转录物内具有19、20、21个或更多个连续核碱基的区域具有至少70%的互补性, 任选地其中所述反义链与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 mRNA转录物具有至少70%的互补性。

3. 如权利要求2所述的siRNA分子, 其中所述反义链与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 mRNA转录物内的所述区域具有至少75%的互补性, 任选地其中所述反义链与具有SEQ ID No: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 mRNA转录物内的所述区域具有至少76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的互补性。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个或30个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

5. 如权利要求4所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含10至30个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

6. 如权利要求5所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含12至30个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

7. 如权利要求6所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含15至30个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

8. 如权利要求7所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含18至30个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

9. 如权利要求8所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含18至25个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID No: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

10. 如权利要求1-9中任一项所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含18至21个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

11. 如权利要求9所述的siRNA分子, 其中所述反义链包含21个连续核苷酸, 所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物

的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链相对于具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域包含9个或更少的核苷酸错配,任选地其中所述反义链相对于具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的所述KCNT1 RNA转录物的所述区域包含8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少、2个或更少或仅1个错配。

13. 如权利要求1-12中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少85%同一的核酸序列。

14. 如权利要求13所述的siRNA分子,其中所述反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少90%同一的核酸序列。

15. 如权利要求14所述的siRNA分子,其中所述反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844的核酸序列至少95%同一的核酸序列,任选地其中所述反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。

16. 如权利要求15所述的siRNA分子,其中所述反义链具有SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列。

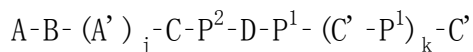
17. 如权利要求1-16中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少85%同一的核酸序列。

18. 如权利要求17所述的siRNA分子,其中所述有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少90%同一的核酸序列。

19. 如权利要求18所述的siRNA分子,其中所述有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034的核酸序列至少95%同一的核酸序列,任选地其中所述有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。

20. 如权利要求19所述的siRNA分子,其中所述有义链具有SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列。

21. 如权利要求1-20中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式I表示的结构,其中式I按5'至3'方向是:



式I;

其中A由式C-P¹-D-P¹表示;

每个A'由式C-P²-D-P²表示;

B由式C-P²-D-P²-D-P²-D-P²表示;

每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;

每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;

每个D是2'-F核糖核苷;

每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;

每个P²是磷酸二酯核苷间键联;

j是1至7的整数;并且

k是1至7的整数。

22. 如权利要求21所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式A1表示的结构,其中式A1

按5'至3'方向是:

A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A

式A1;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

23.如权利要求1-20中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式II表示的结构,其中式II按5'至3'方向是:

$A-B-(A')_j-C-P^2-D-P^1-(C-P^1)_k-C'$

式II;

其中A由式 $C-P^1-D-P^1$ 表示;

每个A'由式 $C-P^2-D-P^2$ 表示;

B由式 $C-P^2-D-P^2-D-P^2-D-P^2$ 表示;

每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;

每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;

每个D是2'-F核糖核苷;

每个 P^1 是硫代磷酸酯核苷间键联;

每个 P^2 是磷酸二酯核苷间键联;

j是1至7的整数;并且

k是1至7的整数。

24.如权利要求23所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式A2表示的结构,其中式A2按5'至3'方向是:

A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-A-S-A

式A2;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

25.如权利要求1-24中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式III表示的结构,其中式III按5'至3'方向是:

$E-(A')_m-F$

式III;

其中E由式 $(C-P^1)_2$ 表示;

F由式 $(C-P^2)_3-D-P^1-C-P^1-C$ 、 $(C-P^2)_3-D-P^2-C-P^2-C$ 、 $(C-P^2)_3-D-P^1-C-P^1-D$ 或 $(C-P^2)_3-D-P^2-C-P^2-D$ 表示;

A'、C、D、 P^1 和 P^2 如式II中所定义;并且

m是1至7的整数。

26.如权利要求25所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S1表示的结构,其中式S1按5'至3'方向是:

A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-S-A-S-A

式S1;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

27.如权利要求25所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S2表示的结构,其中式S2按5'至3'方向是:

A-S-A-S-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-A-0-A-0-B-0-A-0-A

式S2;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

28.如权利要求25所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S3表示的结构,其中式S3按5'至3'方向是:

A-S-A-S-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-A-0-A-0-B-S-A-S-B

式S3;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

29.如权利要求25所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S4表示的结构,其中式S4按5'至3'方向是:

A-S-A-S-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-A-0-A-0-B-0-A-0-B

式S4;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

30.如权利要求1-20和25-29中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式IV表示的结构,其中式IV按5'至3'方向是:

$$A-(A')_j-C-P^2-B-(C-P^1)_k-C'$$

式IV;

其中A由式C-P¹-D-P¹表示;

每个A'由式C-P²-D-P²表示;

B由式D-P¹-C-P¹-D-P¹表示;

每个C是2'-O-Me核糖核苷;

每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷;

每个D是2'-F核糖核苷;

每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;

每个P²是磷酸二酯核苷间键联;

j是1至7的整数;并且

k是1至7的整数。

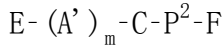
31.如权利要求30所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式A3表示的结构,其中式A3按5'至3'方向是:

A-S-B-S-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-S-A-S-B-S-A-S-A-S-A

式A3;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

32. 如权利要求1-24、30和31中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式V表示的结构,其中式V按5'至3'方向是:



式V;

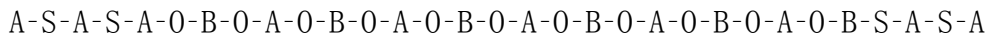
其中E由式 $(C-P^1)_2$ 表示;

F由式 $D-P^1-C-P^1-C$ 、 $D-P^2-C-P^2-C$ 、 $D-P^1-C-P^1-D$ 或 $D-P^2-C-P^2-D$ 表示;

A' 、C、D、 P^1 和 P^2 如式IV中所定义;并且

m是1至7的整数。

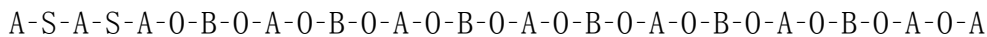
33. 如权利要求32所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S5表示的结构,其中式S5按5'至3'方向是:



式S5;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

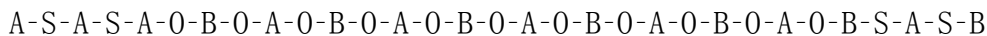
34. 如权利要求32所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S6表示的结构,其中式S6按5'至3'方向是:



式S6;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

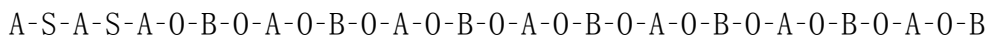
35. 如权利要求32所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S7表示的结构,其中式S7按5'至3'方向是:



式S7;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

36. 如权利要求32所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S8表示的结构,其中式S8按5'至3'方向是:



式S8;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

37. 如权利要求1-20、25-29和32-36中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式VI表示的结构,其中式VI按5'至3'方向是:



式VI;

其中A由式C-P¹-D-P¹表示；
 每个B由式C-P²表示；
 每个C是2'-O-Me核糖核苷；
 每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷；
 每个D是2'-F核糖核苷；
 每个E由式D-P²-C-P²表示；
 F由式D-P¹-C-P¹表示；
 每个G由式C-P¹表示；
 每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联；
 每个P²是磷酸二酯核苷间键联；
 j是1至7的整数；
 k是1至7的整数；并且
 l是1至7的整数。

38. 如权利要求37所述的siRNA分子,其中所述反义链包含式A4表示的结构,其中式A4按5'至3'方向是:

A-S-B-S-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A

式A4;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

39. 如权利要求1-24、30、31、37和38中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式VII表示的结构,其中式VII按5'至3'方向是:

H-B_m-I_n-A'-B_o-H-C

式VII;

其中A'由式C-P²-D-P²表示；
 每个H由式(C-P¹)₂表示；
 每个I由式(D-P²)表示；
 B、C、D、P¹和P²如式VI中所定义；
 m是1至7的整数；
 n是1至7的整数；并且
 o是1至7的整数。

40. 如权利要求39所述的siRNA分子,其中所述有义链包含式S9表示的结构,其中式S9按5'至3'方向是:

A-S-A-S-A-O-A-O-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-A-S-A-S-A

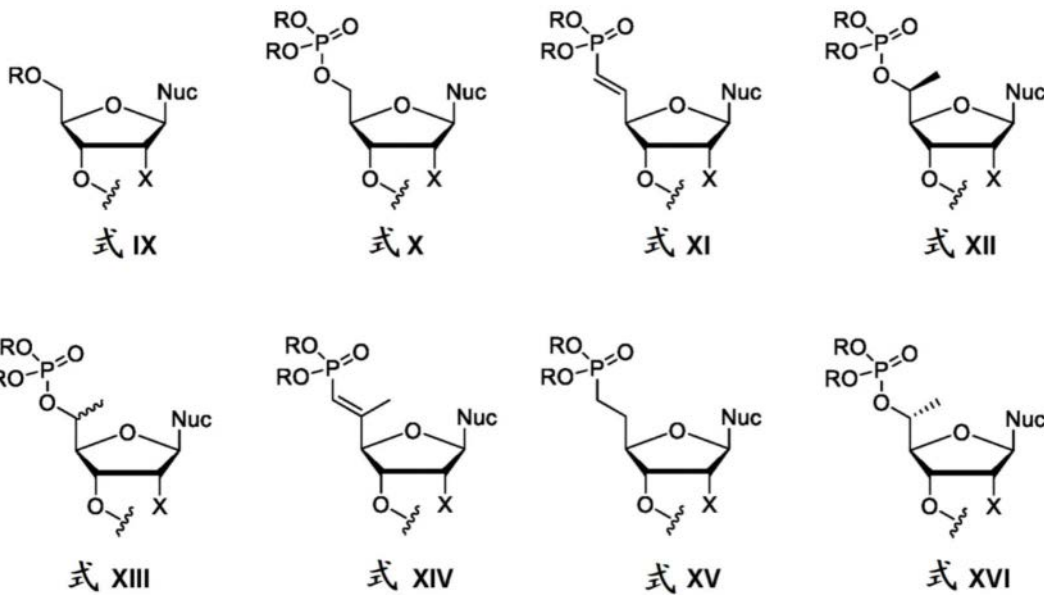
式S9;

其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

41. 如权利要求1-40中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链还包含在所述反义链的5'末端的5'磷稳定部分。

42. 如权利要求1-41中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链还包含在所述有义链的5'末端的5'磷稳定部分。

43. 如权利要求41或42所述的siRNA分子,其中每个5'磷稳定部分独立地由式IX-XVI中的任一个表示:



其中Nuc表示选自腺嘌呤、尿嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶的核碱基,并且R表示任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、苯基、苄基、羟基或氢。

44. 如权利要求43所述的siRNA分子,其中所述核碱基是腺嘌呤、尿嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或胞嘧啶。

45. 如权利要求41-44中任一项所述的siRNA分子,其中所述5'磷稳定部分是由式XI表示的(E)-乙烯基磷酸酯。

46. 如权利要求1-45中任一项所述的siRNA分子,其中所述siRNA分子还包含在所述siRNA分子的5'末端或3'末端的疏水部分。

47. 如权利要求46所述的siRNA分子,其中所述疏水部分选自胆固醇、维生素D或生育酚。

48. 如权利要求1-47中任一项所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为10至30个核苷酸。

49. 如权利要求48所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为10至25个核苷酸。

50. 如权利要求49所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为12至25个核苷酸。

51. 如权利要求50所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为12至20个核苷酸。

52. 如权利要求51所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为12至19个核苷酸。

53. 如权利要求52所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为15个核苷酸。

54. 如权利要求52所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为16个核苷酸。

55. 如权利要求52所述的siRNA分子,其中所述有义链的长度为18个核苷酸。

56. 如权利要求1-55中任一项所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为10至30个核苷酸。

57. 如权利要求56所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为12至30个核苷酸。

58. 如权利要求57所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为15至30个核苷酸。

59. 如权利要求58所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为18至30个核苷酸。

60. 如权利要求59所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为18至25个核苷酸。

61. 如权利要求60所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为18至21个核苷酸。

62. 如权利要求61所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为18个核苷酸。

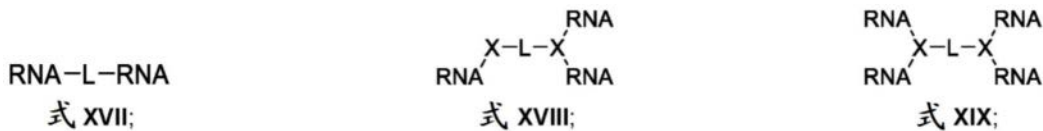
63. 如权利要求61所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为20个核苷酸。

64. 如权利要求61所述的siRNA分子,其中所述反义链的长度为21个核苷酸。

65. 如权利要求1-64中任一项所述的siRNA分子,其中所述siRNA分子是分支siRNA分子。

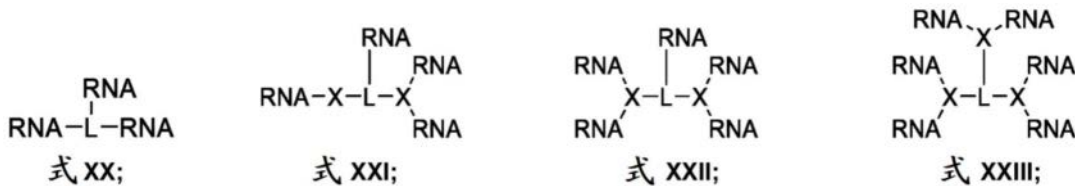
66. 如权利要求65所述的siRNA分子,其中所述分支siRNA分子是二分支、三分支或四分支的。

67. 如权利要求66所述的siRNA分子,其中所述siRNA分子是二分支siRNA分子,任选地其中所述二分支siRNA分子由式XVII-XIX中的任一个表示:



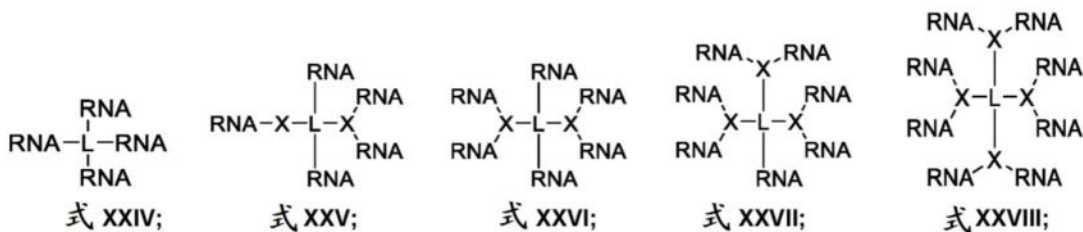
其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

68. 如权利要求66所述的siRNA分子,其中所述siRNA分子是三分支siRNA分子,任选地其中所述三分支siRNA分子由式XX-XXIII中的任一个表示:



其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

69. 如权利要求66所述的siRNA分子,其中所述siRNA分子是四分支siRNA分子,任选地其中所述四分支siRNA分子由式XXIV-XXVIII中的任一个表示:



其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

70. 如权利要求67-69中任一项所述的siRNA分子,其中所述接头选自乙二醇、烷基、碳水化合物、嵌段共聚物、肽、RNA和DNA的一个或多个连续亚基。

71. 如权利要求70所述的siRNA分子,其中所述一个或多个连续亚基是2至20个连续亚基。

72. 一种药物组合物,其包含权利要求1-71中任一项所述的siRNA分子和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

73. 一种将siRNA分子递送至诊断为患有癫痫综合征的受试者的中枢神经系统(CNS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求1-71中任一项所述的siRNA分子或权利要求72所述的药物组合物。

74. 一种治疗有需要的受试者的癫痫综合征的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求1-71中任一项所述的siRNA分子或权利要求72所述的药物组合物。

75. 如权利要求73或74所述的方法,其中所述癫痫综合征为额叶癫痫、枕叶癫痫、内侧颞叶癫痫、顶叶癫痫、婴儿良性肌阵挛性癫痫、青少年肌阵挛性癫痫、儿童失神性癫痫、青少年失神性癫痫、儿童期癫痫伴全身性强直性阵挛发作、婴儿痉挛、Lennox-Gastaut综合征、West综合征、睡眠相关性过度运动性癫痫、进行性肌阵挛癫痫、发热性痉挛、癫痫伴慢波睡眠期持续棘慢波、Laudau Kleffner综合征、Rasmussen综合征、先天性代谢缺陷引起的癫痫、婴儿期癫痫伴迁移局灶性发作、常染色体显性夜间额叶癫痫、Ohtahara综合征、早期肌阵挛性脑病、局灶性癫痫和/或多灶性癫痫。

76. 一种降低有需要的受试者中的钾KCNT1表达的方法,所述方法包括向所述受试者的CNS施用治疗有效量的权利要求1-71中任一项所述的siRNA分子或权利要求72所述的药物组合物。

77. 如权利要求76所述的方法,其中,在向所述受试者施用所述siRNA分子或药物组合物后,所述受试者表现出KCNT1表达相对于一种或多种其他电压门控钾离子通道基因的表达的选择性降低。

78. 如权利要求73-77中任一项所述的方法,其中所述siRNA分子或所述药物组合物通过脑室内或鞘内注射的方式施用给所述受试者。

79. 如权利要求73-78中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

80. 一种试剂盒,其包含权利要求1-71中任一项所述的siRNA分子,或权利要求72所述的药物组合物,以及包装说明书,其中所述包装说明书指导所述试剂盒的使用者进行权利要求73-79中任一项所述的方法。

用于治疗癫痫的组合物和方法

技术领域

[0001] 本公开涉及小干扰RNA (siRNA) 分子以及含有所述siRNA分子的组合物,所述siRNA分子靶向钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) 基因的RNA转录物(例如,mRNA)。本公开进一步描述了通过将靶向KCNT1的siRNA分子递送到有需要的受试者的中枢神经系统来治疗癫痫综合征的方法。

背景技术

[0002] 癫痫是一种由神经元兴奋性异常和神经元放电同步性异常引起的异质性病症。癫痫在机制和症状上有多种不同的形式。遗传性癫痫综合征可使儿童丧失能力或甚至致死,而现有的一线抗惊厥药治疗,诸如唑尼沙胺 (zonisamide)、苯妥英 (phenytoin)、美西律 (mexiletine)、拉莫三嗪 (lamotrigine) 和卡马西平 (carbamazepine),对最严重的综合征几乎没有功效。

[0003] 癫痫的一个单基因驱动因素是钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) 基因(也称为SLACK、 $K_{Na}1.1$ 和Slc2.2),是编码电压门控钾离子(K^+)通道家族成员的八十多个同源基因之一。完整的钾通道蛋白是四聚体,该四聚体可以是单聚的或是异聚的。KCNT1形成的通道由去极化电压和细胞内的钙或钠离子打开。KCNT1驱动的癫痫是多等位基因的,因为KCNT1中的许多不同个体突变都可驱动癫痫,没有单一变体会导致该疾病的大多数病例。

[0004] 制备通过靶向KCNT1蛋白来降低KCNT1功能的治疗性抑制剂仍然存在挑战。首先,KCNT1变体的病理效应可能不仅仅通过单聚KCNT1通道发挥,还可能通过掺入其他 K^+ 通道基因(特别是KCa家族的其他成员)编码的多肽亚基的通道发挥。蛋白质水平上的靶标不完全清楚,单聚KCNT1通道抑制剂可能无法抑制所有病理性KCNT1功能。其次,八十多个基因编码 K^+ 通道的亚基,而 K^+ 通道驱动关键的心脏、代谢和神经功能。靶向KCNT1的成功治疗剂将理想地表现出对 K^+ 通道旁系同源物的高选择性,以避免心脏负担和神经系统负担。实现此类选择性一直具有挑战性。此外,靶向KCNT1的成功治疗剂将需要抑制驱动癫痫的许多KCNT1等位基因中的大多数或全部形成的通道,这对小分子而言可能是一个挑战。

[0005] 因此,仍然需要能够以对癫痫提供有效治疗的方式选择性地削弱在编码其他 K^+ 通道中的基因中的KCNT1活性的治疗剂。

发明内容

[0006] 本公开提供了通过小干扰RNA (siRNA) 介导的钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) 转录物的沉默来降低钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) 表达的组合物和方法。所述组合物和方法提供了对KCNT1表现出高于其他中枢神经系统 (CNS) 基因(包括编码其他 K^+ 通道的基因)的选择性的益处。

[0007] 本公开的siRNA分子可用于沉默KCNT1基因,从而阻止相应mRNA转录物的翻译并降低KCNT1表达。因此KCNT1水平的这种降低可防止疾病的发作或进展。本公开的siRNA分子可以施用于被鉴定为具有功能获得性KCNT1突变的症状前个体。本公开的siRNA分子可以通过

例如鞘内注射、脑室内注射、纹状体内注射、实质内注射、小脑延髓池内注射(诸如通过导管插入)、静脉注射、皮下注射或肌肉注射直接递送至需要KCNT1沉默的受试者的CNS。

[0008] 在一个方面,本公开提供了含有反义链和与所述反义链具有互补性的有义链的siRNA分子。反义链具有足够的互补性以与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内的区域杂交。在一些实施方案中,反义链具有足够的互补性以与具有SEQ ID NO:437-654中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内的区域杂交。反义链可以例如长度为10至50个核苷酸(例如,长度为10至45个核苷酸、长度为10至40个核苷酸、长度为10至35个核苷酸、长度为10至30个核苷酸、长度为10至29个核苷酸、长度为10至28个核苷酸、长度为10至27个核苷酸、长度为10至26个核苷酸、长度为10至25个核苷酸、长度为10至24个核苷酸、长度为10至23个核苷酸、长度为10至22个核苷酸、长度为10至21个核苷酸、或长度为10至20个核苷酸)。在一些实施方案中,反义链的长度为10个核苷酸、长度为11个核苷酸、长度为12个核苷酸、长度为13个核苷酸、长度为14个核苷酸、长度为15个核苷酸、长度为16个核苷酸、长度为17个核苷酸、长度为18个核苷酸、长度为19个核苷酸、长度为20个核苷酸、长度为21个核苷酸、长度为22个核苷酸、长度为23个核苷酸、长度为24个核苷酸、长度为25个核苷酸、长度为26个核苷酸、长度为27个核苷酸、长度为28个核苷酸、长度为29个核苷酸、长度为30个核苷酸或更长。

[0009] 在任一前述方面的一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内15个连续核碱基的区域具有至少70%(例如,至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内16个连续核碱基的区域具有至少70%(例如,至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内17个连续核碱基的区域具有至少70%(例如,至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内18个连续核碱基的区域具有至少70%(例如,至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%)互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任

一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内19个连续核碱基的区域具有至少70% (例如, 至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%) 互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内20个连续核碱基的区域具有至少70% (例如, 至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%) 互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内21个连续核碱基的区域具有至少70% (例如, 至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%) 互补性。在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内的区域具有至少70% (例如, 至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%) 互补性。

[0010] 在一些实施方案中,反义链与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内的区域具有至少75%的互补性。例如,反义链可以与具有SEQ ID No:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物内的区域具有至少76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的互补性。

[0011] 在一些实施方案中,反义链具有至少10个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个或30个连续核苷酸,所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0012] 在一些实施方案中,反义链具有10至30个连续核苷酸(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1

[0013] RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0014] 在一些实施方案中,反义链具有12至30个连续核苷酸(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1

[0015] RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0016] 在一些实施方案中,反义链具有15至30个连续核苷酸(例如,15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0017] 在一些实施方案中,反义链具有18至30个连续核苷酸(例如,18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0018] 在一些实施方案中,反义链具有18至25个连续核苷酸(例如,18、19、20、21、22、23、24或25个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID No: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0019] 在一些实施方案中,反义链具有18至21个连续核苷酸(例如,18、19、20或21个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0020] 在一些实施方案中,反义链具有21个连续核苷酸,所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0021] 在一些实施方案中,反义链具有21至30个连续核苷酸(例如,21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID No: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0022] 在一些实施方案中,反义链具有24至30个连续核苷酸(例如,24、25、26、27、28、29或30个连续核苷酸),所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0023] 在一些实施方案中,反义链具有30个连续核苷酸,所述连续核苷酸与具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域内相等长度的连续多核苷酸区段完全互补。

[0024] 在一些实施方案中,反义链相对于具有SEQ ID NO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域具有9个或更少的核苷酸错配,任选地其中反义链相对于具有SEQ IDNO: 437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 RNA转录物的所述区域含有8个或更少、7个或更少、6个或更少、5个或更少、4个或更少、3个或更少、2个或更少、或仅1个错配。

[0025] 在任一前述方面的一些实施方案或本公开的实施方案中,KCNT1RNA转录物的所述区域具有SEQ ID NO: 437-654中任一个的核酸序列。在任一前述方面的一些实施方案或本公开的实施方案中,KCNT1RNA转录物的所述区域具有SEQ ID NO: 437-458、460、464-509、522-560、563-594、598-603、605-654和1035-1172中任一个的核酸序列。在任一前述方面的一些实施方案或本公开的实施方案中,KCNT1 RNA转录物的所述区域具有SEQ ID NO: 455的核酸序列。

[0026] 在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO: 1-218和655-844中任一个的核酸序

列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-218中任一个的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-22、24、28-73、86-124、127-158、162-167、169-218和655-792中任一个的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:19的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。

[0027] 在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-218中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-22、24、28-73、86-124、127-158、162-167、169-218和655-792中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:19的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。

[0028] 在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中反义链具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-218的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中反义链具有与SEQ ID NO:1-218中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:1-22、24、28-73、86-124、127-158、162-167、169-218和655-79的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中反义链具有与SEQ ID NO:1-22、24、28-73、86-124、127-158、162-167、169-218和655-79中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有与SEQ ID NO:19的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中反义链具有与SEQ ID NO:19的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。

[0029] 在一些实施方案中,反义链具有SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有SEQ ID NO:1-218中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有SEQ ID NO:1-22、24、28-73、86-124、127-158、162-167、169-218和655-79中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,反义链具有SEQ ID NO:19的核酸序列。

[0030] 在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436中任一个的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-240、242、246-291、304-342、345-376、380-385、387-436和845-982中任一个的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:237的核酸序列至少85%同一(例如85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。

[0031] 在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-240、242、246-291、304-342、345-376、380-385、387-436和845-982中任一个的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:237的核酸序列至少90%同一(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列。

[0032] 在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中有义链具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-436中任一个的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中有义链具有与SEQ ID NO:219-436中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:219-240、242、246-291、304-342、345-376、380-385、387-436和845-982中任一个的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中有义链具有与SEQ ID NO:219-240、242、246-291、304-342、345-376、380-385、387-436和845-982中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。在一些实施方案中,有义链具有与SEQ ID NO:237的核酸序列至少95%同一(例如95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列,任选地其中有义链具有与SEQ ID NO:237中任一个的核酸序列至少96%、97%、98%或99%同一的核酸序列。

[0033] 在一些实施方案中,所述siRNA分子具有有义链,所述有义链具有SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,所述siRNA分子具有有义链,所述有义链具有SEQ ID NO:219-436中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,所述siRNA分子具有有义链,所述有义链具有SEQ ID NO:219-240、242、246-291、304-342、345-376、380-385、387-436和845-982中任一个的核酸序列。在一些实施方案中,所述siRNA分子具有有义链,所述有义链具有SEQ ID NO:237的核酸序列。

[0034] 在一些实施方案中,反义链具有式I表示的结构,其中式I按5'至3'方向为:

[0035] $A-B-(A')_j-C-P^2-D-P^1-(C'-P^1)_k-C'$

[0036] 式I;

- [0037] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;
- [0038] 每个A'由式C-P²-D-P²表示;
- [0039] B由式C-P²-D-P²-D-P²-D-P²表示;
- [0040] 每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;
- [0041] 每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;
- [0042] 每个D是2'-F核糖核苷;
- [0043] 每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;
- [0044] 每个P²是磷酸二酯核苷间键联;
- [0045] j是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且
- [0046] k是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。
- [0047] 在一些实施方案中,反义链具有式A1表示的结构,其中式A1按5'至3'方向为:
- [0048] A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A
- [0049] 式A1;
- [0050] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0051] 在一些实施方案中,反义链具有式II表示的结构,其中式II按5'至3'方向为:
- [0052] A-B-(A')_j-C-P²-D-P¹-(C-P¹)_k-C'
- [0053] 式II;
- [0054] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;
- [0055] 每个A'由式C-P²-D-P²表示;
- [0056] B由式C-P²-D-P²-D-P²-D-P²表示;
- [0057] 每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;
- [0058] 每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;
- [0059] 每个D是2'-F核糖核苷;
- [0060] 每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;
- [0061] 每个P²是磷酸二酯核苷间键联;
- [0062] j是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且
- [0063] k是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。
- [0064] 在一些实施方案中,反义链具有式A2表示的结构,其中式A2按5'至3'方向为:
- [0065] A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-A-S-A
- [0066] 式A2;
- [0067] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0068] 在一些实施方案中,有义链具有式III表示的结构,其中式III按5'至3'方向为:
- [0069] E-(A')_m-F
- [0070] 式III;
- [0071] 其中E由式(C-P¹)₂表示;

[0072] F由式 $(C-P^2)_3-D-P^1-C-P^1-C$ 、 $(C-P^2)_3-D-P^2-C-P^2-C$ 、 $(C-P^2)_3-D-P^1-C-P^1-D$ 或 $(C-P^2)_3-D-P^2-C-P^2-D$ 表示;

[0073] A'、C、D、P¹和P²如式II中所定义;并且

[0074] m是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。

[0075] 在一些实施方案中,有义链具有式S1表示的结构,其中式S1按5'至3'方向为:

[0076] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-S-A-S-A

[0077] 式S1;

[0078] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0079] 在一些实施方案中,有义链具有式S2表示的结构,其中式S2按5'至3'方向为:

[0080] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-A

[0081] 式S2;

[0082] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0083] 在一些实施方案中,有义链具有式S3表示的结构,其中式S3按5'至3'方向为:

[0084] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-S-A-S-B

[0085] 式S3;

[0086] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0087] 在一些实施方案中,有义链具有式S4表示的结构,其中式S4按5'至3'方向为:

[0088] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-B

[0089] 式S4;

[0090] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0091] 在一些实施方案中,反义链具有式IV表示的结构,其中式IV按5'至3'方向为:

[0092] $A-(A')_j-C-P^2-B-(C-P^1)_k-C'$

[0093] 式IV;

[0094] 其中A由式 $C-P^1-D-P^1$ 表示;

[0095] 每个A'由式 $C-P^2-D-P^2$ 表示;

[0096] B由式 $D-P^1-C-P^1-D-P^1$ 表示;

[0097] 每个C是2'-O-Me核糖核苷;

[0098] 每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷;

[0099] 每个D是2'-F核糖核苷;

[0100] 每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;

[0101] 每个P²是磷酸二酯核苷间键联;

[0102] j是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且

[0103] k是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。

[0104] 在一些实施方案中,反义链具有式A3表示的结构,其中式A3按5'至3'方向为:

[0105] A-S-B-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-

B-S-A-S-A-S-A

[0106] 式A3;

[0107] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0108] 在一些实施方案中,有义链具有式V表示的结构,其中式V按5'至3'方向为:

[0109] $E-(A')_m-C-P^2-F$

[0110] 式V;

[0111] 其中E由式 $(C-P^1)_2$ 表示;

[0112] F由式 $D-P^1-C-P^1-C$ 、 $D-P^2-C-P^2-C$ 、 $D-P^1-C-P^1-D$ 或 $D-P^2-C-P^2-D$ 表示;

[0113] A'、C、D、P¹和P²如式IV中所定义;并且

[0114] m是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。

[0115] 在一些实施方案中,有义链具有式S5表示的结构,其中式S5按5'至3'方向为:

[0116] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A

[0117] 式S5;

[0118] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0119] 在一些实施方案中,有义链具有式S6表示的结构,其中式S6按5'至3'方向为:

[0120] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A

[0121] 式S6;

[0122] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0123] 在一些实施方案中,有义链具有式S7表示的结构,其中式S7按5'至3'方向为:

[0124] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-B

[0125] 式S7;

[0126] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0127] 在一些实施方案中,有义链具有式S8表示的结构,其中式S8按5'至3'方向为:

[0128] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B

[0129] 式S8;

[0130] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0131] 在一些实施方案中,反义链具有式VI表示的结构,其中式VI按5'至3'方向为:

[0132] $A-B_j-E-B_k-E-F-G_1-D-P^1-C'$

[0133] 式VI;

[0134] 其中A由式 $C-P^1-D-P^1$ 表示;

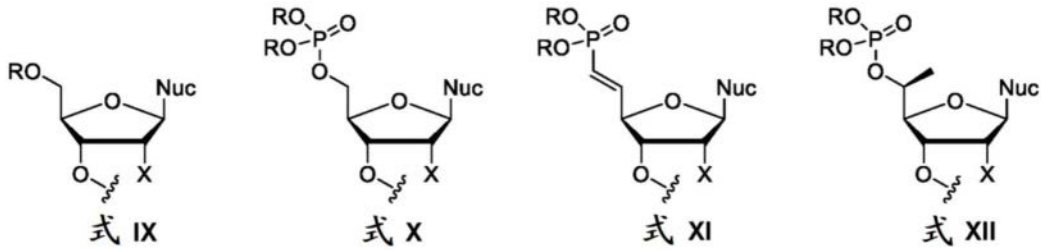
[0135] 每个B由式 $C-P^2$ 表示;

[0136] 每个C是2'-O-Me核糖核苷;

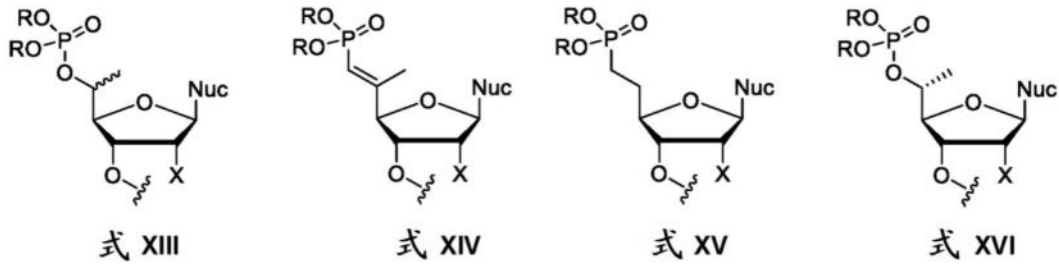
[0137] 每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷;

[0138] 每个D是2'-F核糖核苷;

- [0139] 每个E由式D-P²-C-P²表示;
- [0140] F由式D-P¹-C-P¹表示;
- [0141] 每个G由式C-P¹表示;
- [0142] 每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;
- [0143] 每个P²是磷酸二酯核苷间键联;
- [0144] j是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);
- [0145] k是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且
- [0146] l是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。
- [0147] 在一些实施方案中,反义链具有式A4表示的结构,其中式A4按5'至3'方向为:
- [0148] A-S-B-S-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-A-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A
- [0149] 式A4;
- [0150] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0151] 在一些实施方案中,有义链具有式VII表示的结构,其中式VII按5'至3'方向为:
- [0152] H-B_m-I_n-A'-B_o-H-C
- [0153] 式VII;
- [0154] 其中A'由式C-P²-D-P²表示;
- [0155] 每个H由式(C-P¹)₂表示;
- [0156] 每个I由式(D-P²)表示;
- [0157] B、C、D、P¹和P²如式VI中所定义;
- [0158] m是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);
- [0159] n是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且
- [0160] o是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。
- [0161] 在一些实施方案中,有义链具有式S9表示的结构,其中式S9按5'至3'方向为:
- [0162] A-S-A-S-A-O-A-O-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-A-S-A-S-A
- [0163] 式S9;
- [0164] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。
- [0165] 在一些实施方案中,反义链还在反义链的5'末端具有5'磷稳定部分。
- [0166] 在一些实施方案中,有义链还在有义链的5'末端具有5'磷稳定部分。
- [0167] 在一些实施方案中,每个5'磷稳定部分独立地由式IX、XX、XI、XII、XIII、XIV、XV或XVI中的任一个表示:



[0168]



[0169] 其中Nuc表示核碱基,任选地其中所述核碱基选自腺嘌呤、尿嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶,并且R表示任选取代的烷基、任选取代的烯基、任选取代的炔基、苯基、苄基、阳离子(例如,单价阳离子)或氢。

[0170] 在一些实施方案中,所述核碱基是腺嘌呤、尿嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或胞嘧啶。

[0171] 在一些实施方案中,5'磷酸稳定部分是由式XI表示的(E)-乙烯基磷酸酯。

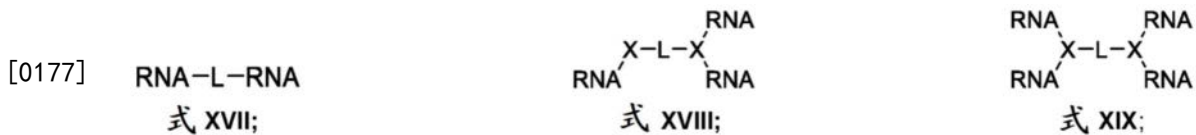
[0172] 在一些实施方案中,siRNA分子具有在所述siRNA分子的5'或3'末端的疏水部分。

[0173] 在一些实施方案中,所述疏水部分选自胆固醇、维生素D或生育酚。

[0174] 在一些实施方案中,siRNA分子是分支siRNA分子。

[0175] 在一些实施方案中,所述分支siRNA分子是二分支、三分支或四分支的。

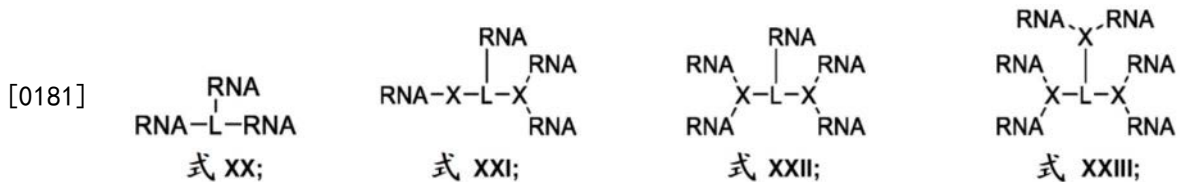
[0176] 在一些实施方案中,所述siRNA分子是二分支的,任选地其中所述二分支siRNA分子由式XVII、XVIII或XIX中的任一个表示:



[0178] 其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

[0179] 在一些实施方案中,二分支siRNA分子由式XVII表示。在一些实施方案中,二分支siRNA分子由式XVIII表示。在一些实施方案中,二分支siRNA分子由式XIX表示。

[0180] 在一些实施方案中,siRNA分子是三分支的,任选地其中所述三分支siRNA分子由式XX、XXI、XXII或XXIII中的任一个表示:

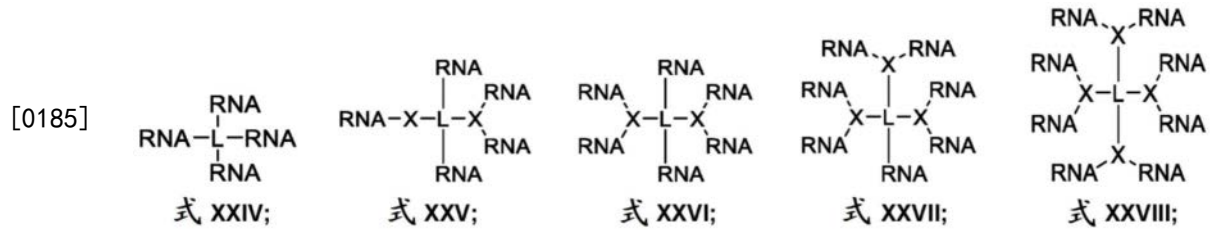


[0182] 其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

[0183] 在一些实施方案中,三分支siRNA分子由式XX表示。在一些实施方案中,三分支siRNA分子由式XXI表示。在一些实施方案中,三分支siRNA分子由式XXII表示。在一些实施

方案中,三分支siRNA分子由式XXIII表示。

[0184] 在一些实施方案中,siRNA分子是四分支的,任选地其中所述四分支siRNA分子由式XXIV、XXV、XXVI、XXVII或XXVIII中的任一个表示:



[0186] 其中每个RNA独立地为siRNA分子,L为接头,并且每个X独立地代表分支点部分。

[0187] 在一些实施方案中,四分支siRNA分子由式XXIV表示。在一些实施方案中,四分支siRNA分子由式XXV表示。在一些实施方案中,四分支siRNA分子由式XXVI表示。在一些实施方案中,四分支siRNA分子由式XXVII表示。在一些实施方案中,四分支siRNA分子由式XXVIII表示。

[0188] 在分支siRNA的一些实施方案中,接头选自乙二醇(例如,聚乙二醇(PEG),诸如三乙二醇(TrEG)或四乙二醇(TEG))、烷基、碳水化合物、嵌段共聚物、肽、RNA和DNA的一个或多个连续亚基。

[0189] 在一些实施方案中,所述接头是乙二醇寡聚体。在一些实施方案中,所述接头是烷基寡聚体。在一些实施方案中,所述接头是碳水化合物寡聚体。在一些实施方案中,所述接头是嵌段共聚物。在一些实施方案中,所述接头是肽寡聚体。在一些实施方案中,所述接头是RNA寡聚体。在一些实施方案中,所述接头是DNA寡聚体。

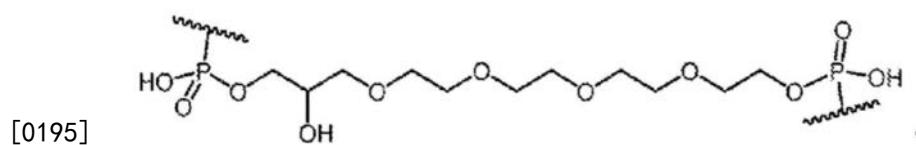
[0190] 在一些实施方案中,所述乙二醇寡聚体是PEG。在一些实施方案中,所述PEG是TrEG。在一些实施方案中,所述PEG是TEG。

[0191] 在一些实施方案中,所述寡聚体或共聚物含有2至20个连续亚基(例如,2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续亚基)。

[0192] 在一些实施方案中,所述接头通过共价键形成部分的方式附接一个或多个(例如,1、2、3、4个或更多个)siRNA分子。

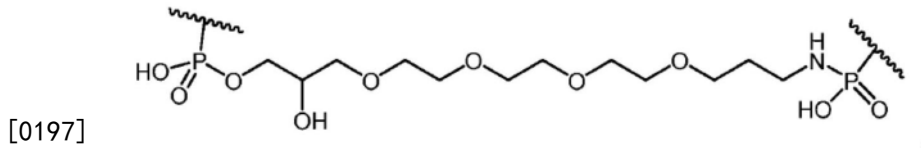
[0193] 在一些实施方案中,所述共价键形成部分选自烷基、酯、酰胺、氨基甲酸酯、磷酸酯、磷酸酯、硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、三唑、脲和甲缩醛。

[0194] 在一些实施方案中,所述接头包括式L1的结构:

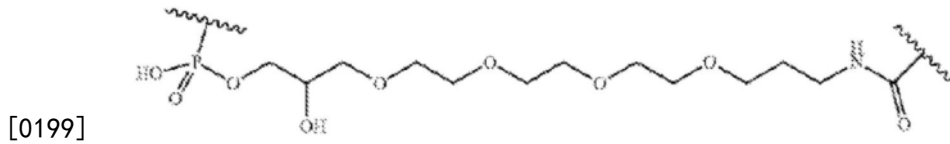


(式 L1)

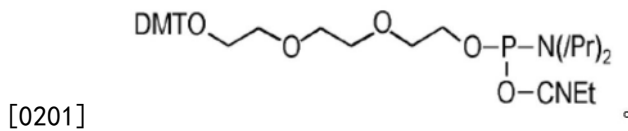
[0196] 在一些实施方案中,所述接头包括式L2的结构:

**(式 L2)**

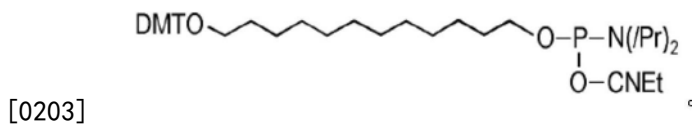
[0198] 在一些实施方案中,所述接头包括式L3的结构:

**(式 L3)**

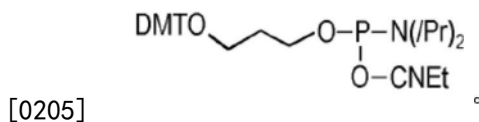
[0200] 在一些实施方案中,所述接头包括式L4的结构:

**(式 L4)**

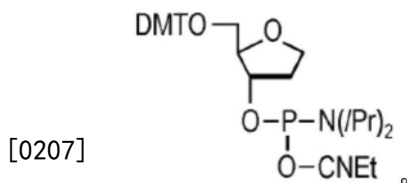
[0202] 在一些实施方案中,所述接头包括式L5的结构:

**(式 L5)**

[0204] 在一些实施方案中,所述接头包括式L6的结构:

**(式 L6)**

[0206] 在一些实施方案中,所述接头包括式L7的结构:

**(式 L7)**

[0208] 在一些实施方案中,所述接头包括式L8的结构:

核苷酸、12个核苷酸、13个核苷酸、14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸、25个核苷酸、26个核苷酸、27个核苷酸、28个核苷酸、29个核苷酸或30个核苷酸)、15至25个核苷酸(例如,15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸或25个核苷酸)或18至23个核苷酸(例如,18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸或23个核苷酸)。在一些实施方案中,反义链的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为21个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为23个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为24个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为25个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为26个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为27个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为28个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为29个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸。

[0220] 在一些实施方案中,支链化合物的siRNA分子通过接头(例如,乙二醇低聚物,例如四乙二醇)彼此连接。在一些实施方案中,支链化合物的siRNA分子通过介于一个siRNA分子的有义链与另一个siRNA分子的有义链之间的接头彼此连接。在一些实施方案中,siRNA分子通过介于一个siRNA分子的反义链与另一个siRNA分子的反义链之间的接头连接。在一些实施方案中,支链化合物的siRNA分子通过介于一个siRNA分子的有义链与另一个siRNA分子的反义链之间的接头彼此连接。

[0221] 在一些实施方案中,有义链的长度为12至30个核苷酸(例如,12个核苷酸、13个核苷酸、14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸、25个核苷酸、26个核苷酸、27个核苷酸、28个核苷酸、29个核苷酸或30个核苷酸)或14至18个核苷酸(例如,14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸或18个核苷酸)。在一些实施方案中,有义链的长度为15个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为16个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为17个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为18个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为21个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为23个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为24个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为25个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为27个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为28个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为29个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为30个核苷酸。

[0222] 在一些实施方案中,4个核苷间键联是硫代磷酸酯键联。

[0223] 在本文所述的siRNA分子的一些实施方案中,反义链的长度为18个核苷酸并且有义链的长度为14个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为18个核苷酸并且有义链的长度为15个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为18个核苷酸并且有义链的长度为16个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为18个核苷酸并且有义链的长度为17个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为18个核苷酸并且有义链的长度为18个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为19个核苷酸并且有义链的长度为14个核苷酸。在一些实

30个核苷酸并且有义链的长度为21个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为23个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为24个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为25个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为26个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为27个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为28个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为29个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为30个核苷酸并且有义链的长度为30个核苷酸。

[0224] 在另一方面,本公开提供了一种药物组合物,其包含本公开的前述方面或实施方案中任一个的siRNA分子和药学上可接受的赋形剂、载体或稀释剂。

[0225] 在另一方面,本公开提供了一种将siRNA分子递送至被诊断为患有癫痫综合征的受试者的CNS的方法,所述方法通过向受试者施用治疗有效量的本公开前述方面或实施方案中任一个的siRNA分子或药物组合物。

[0226] 在另一方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者的癫痫综合征的方法,所述方法通过向受试者的CNS施用治疗有效量的本公开前述方面或实施方案中任一个的siRNA分子或药物组合物。

[0227] 在一些实施方案中,所述癫痫综合征为额叶癫痫、枕叶癫痫、内侧颞叶癫痫、顶叶癫痫、婴儿良性肌阵挛性癫痫、青少年肌阵挛性癫痫、儿童失神性癫痫、青少年失神性癫痫、儿童期癫痫伴全身性强直性阵挛发作、婴儿痉挛、Lennox-Gastaut综合征、West综合征、睡眠相关性过度运动性癫痫、进行性肌阵挛癫痫、发热性痉挛、癫痫伴慢波睡眠期持续棘慢波、Laudau Kleffner综合征、Rasmussen综合征、先天性代谢缺陷引起的癫痫、婴儿期癫痫伴迁移局灶性发作、常染色体显性夜间额叶癫痫、Ohtahara综合征、早期肌阵挛性脑病、局灶性癫痫和/或多灶性癫痫。

[0228] 在另一方面,本公开提供了一种降低有需要的受试者中的KCNT1表达的方法,所述方法通过施用治疗有效量的本公开前述方面或实施方案中任一个的siRNA或药物组合物。

[0229] 在一些实施方案中,在施用本公开前述方面或实施方案中任一个的siRNA分子或药物组合物后,受试者表现出与一种或多种其他电压门控钾离子通道表达的降低相比KCNT1表达的选择性降低。

[0230] 在一些实施方案中,所述siRNA分子或所述药物组合物通过脑室内或鞘内注射的方式施用给所述受试者。

[0231] 在一些实施方案中,所述受试者是人。

[0232] 在另一方面,本公开内容提供了一种试剂盒,所述试剂盒含有本公开前述方面或实施方案中任一个的siRNA分子或药物组合物,以及指示所述试剂盒的使用者进行本公开前述方面或实施方案中任一个的方法的包装说明书。

附图说明

[0233] 图1是显示具有SEQ ID NO:19的反义链和SEQ ID NO:237的有义链的本公开的示例性siRNA分子的IC₅₀测定的图。确定IC₅₀为0.0415nM。

[0234] 定义

[0235] 除非本文另外定义,本文使用的科学和技术术语具有本领域普通技术人员通常理解的含义。如果存在任何潜在的歧义,本文提供的定义优先于任何字典或外部定义。除非上下文另有要求,否则单数术语应包括复数且复数术语应包括单数。除非另有说明,否则“或”的使用意指“和/或”。术语“包括(including)”以及其他形式如“包括(includes)”和“包括(included)”的使用不是限制性的。

[0236] 如本文所用,术语“核酸”是指分别由核糖核苷酸链或脱氧核糖核苷酸链组成的RNA分子或DNA分子。

[0237] 如本文所用,术语“治疗性核酸”是指与疾病相关靶mRNA具有部分或完全互补性并相互作用并介导mRNA表达沉默的核酸分子(例如,核糖核酸)。

[0238] 如本文所用,术语“载体核酸”是指与治疗性核酸具有序列互补性并与治疗性核酸杂交的核酸分子(例如,核糖核酸)。如本文所用,术语“3'末端”是指在核糖环的3'碳处含有未修饰的羟基的核酸末端。

[0239] 如本文所用,术语“核苷”是指由杂环碱基及其糖组成的分子。

[0240] 如本文所用,术语“核苷酸”是指在其3'或5'糖羟基基团上具有磷酸基团或其变体的核苷。磷酸基团变体的实例包括但不限于饱和烷基磷酸酯、不饱和烯基磷酸酯、硫代磷酸酯和亚磷酸酯。

[0241] 在本公开的上下文中,术语“寡核苷酸”是指核糖核酸(RNA)或脱氧核糖核酸(DNA)或其模拟物的寡聚物或多聚物。该术语包括由天然存在的核碱基、糖和共价核苷间(骨架)键联组成的寡核苷酸以及具有类似功能的非天然存在(例如,修饰)部分的寡核苷酸。此类经修饰或经取代的寡核苷酸常常优于天然形式,因为其具有所需的性质,例如增强的细胞摄取、增强的对核酸靶标的亲和力以及在核酸酶存在下增加的稳定性。

[0242] 如本文所用,术语“siRNA”是指诱导RNA干扰(RNAi)途径的小干扰RNA双链体。siRNA分子的长度可能不同(通常介于10至30个碱基对之间),并且与其靶mRNA可具有不同程度的互补性。术语“siRNA”包括两条单独的链的双链体,以及任选地形成包括双链体区的发夹结构的单链。

[0243] 如本文所用,术语“反义链”是指与靶基因具有一定程度的互补性的siRNA双链体的链。

[0244] 如本文所用,术语“有义链”是指与反义链具有互补性的siRNA双链体的链。

[0245] 术语“干扰RNA分子”是指阻抑靶RNA转录物的内源功能的RNA分子,诸如小干扰RNA(siRNA)、微小RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)或反义寡核苷酸(ASO)。

[0246] 如本文所用,术语“表达”是指以下事件中的一个或多个:(1)从DNA序列产生RNA模板(例如,通过转录);(2)RNA转录物的加工(例如,通过剪接、编辑、5'帽形成和/或3'末端加工);和(3)将RNA翻译成多肽或蛋白质。在编码蛋白质产物的基因的上下文中,术语“基因表达”等与术语“蛋白质表达”等可互换使用。患者中感兴趣的基因或蛋白质的表达可以例如通过检测从患者获得的样品中的以下各项来显现:编码相应蛋白质的mRNA的数量或浓度的增加(例如使用本文所述的或本领域已知的RNA检测程序进行评估,诸如定量聚合酶链式反应(qPCR)和RNA seq技术),相应蛋白质的数量或浓度的增加(例如使用本文所述的或本领域已知的蛋白质检测方法,诸如酶联免疫吸附测定法(ELISA)等进行评估),和/或相应蛋白

质活性的增加(例如,在酶的情况下,如使用本文所述的或本领域已知的酶活性测定法进行评估)。如本文所用,如果可以在细胞或细胞所在的培养基中检测到一种或多种或全部上述事件,则认为细胞“表达”感兴趣的基因或蛋白质。例如,如果可以检测到以下事件,则认为所关注的基因或蛋白质由细胞或细胞群“表达”: (i) 细胞或细胞群产生相应的RNA转录物,诸如mRNA模板(例如,使用本文所述的RNA检测程序); (ii) RNA转录物的加工(例如,剪接、编辑、5'帽形成和/或3'末端加工,诸如使用本文所述的RNA检测程序); (iii) 将RNA模板翻译成蛋白质产物(例如,使用本文所述的蛋白质检测程序); 和/或(iv) 蛋白质产物的翻译后修饰(例如,使用本文所述的蛋白质检测程序)。

[0247] 如本文所用,术语“靶标”、“靶向”和“靶向的”在siRNA设计的上下文中是指生成反义链以便使反义链以导致mRNA翻译成蛋白质产物减少的方式与mRNA转录物内感兴趣的区域退火。

[0248] 如本文所用,术语“化学修饰的核苷酸”、“核苷酸类似物”、“改变的核苷酸”或“修饰的核苷酸”是指非标准核苷酸,包括非天然存在的核糖核苷酸或脱氧核糖核苷酸。示例性的核苷酸类似物在任何位置被修饰,以改变核苷酸的某些化学性质,但保留核苷酸类似物进行其预期功能的能力。

[0249] 如本文所用,术语“代谢稳定的”是指含有已被化学修饰的核糖核苷酸,以便降低施用给受试者的RNA分子的代谢速率的RNA分子。示例性修饰包括2'-羟基修饰为2'-O-甲基或2'-氟,以及磷酸二酯修饰为硫代磷酸酯。

[0250] 如本文所用,术语“硫代磷酸酯”是指通过用硫取代磷酸基团的一个或多个氧而修饰的核苷酸的磷酸基团。

[0251] 如本文所用,术语“核苷间”和“核苷酸间”分别指核苷和核苷酸之间的键。

[0252] 如本文所用,术语“antagomir”是指可以充当miRNA活性的抑制剂的核酸。

[0253] 如本文所用,术语“缺口聚体(gapmer)”是指含有足够长以诱导RNA酶H裂解的脱氧核苷酸单体的中心嵌段的嵌合反义核酸。脱氧核苷酸嵌段的侧翼是核糖核苷酸单体或含有修饰的核糖核苷酸单体。

[0254] 如本文所用,术语“混合体(mixmer)”是指含有锁核酸(LNA)和DNA的混合物的核酸。

[0255] 如本文所用,术语“向导RNA”是指与基因组中的特定序列具有序列互补性的核酸,该特定序列紧邻原间隔相邻基序(PAM)序列的上游或1个碱基对,如在CRISPR/Cas9基因编辑系统中使用的。可替代地,“向导RNA”可以指与特定信使RNA(mRNA)序列具有序列互补性(例如,反义)的核酸。关于这一点,向导RNA还可以与长度相同或较短的“乘客RNA”序列具有序列互补性,“乘客RNA”序列与向导RNA杂交的mRNA的序列相同或基本上相同。

[0256] 如本文所用,术语“分支siRNA”是指含有两个或更多个彼此共价结合的双链siRNA分子的化合物。分支siRNA分子可以是“二分支的”,在本文中也称为“二-siRNA”,其中siRNA分子包括例如通过接头彼此共价结合的2个siRNA分子。分支siRNA分子可以是“三分支的”,在本文中也称为“三-siRNA”,其中siRNA分子包括例如通过接头彼此共价结合的3个siRNA分子。分支siRNA分子可以是“四分支的”,在本文中也称为“四-siRNA”,其中siRNA分子包括例如通过接头彼此共价结合的4个siRNA分子。

[0257] 如本文所用,术语“分支点部分”是指本公开的分支siRNA结构的化学部分,其可以

共价连接至siRNA分子的反义链或有义链的5'末端或3'末端并且其可以支持另外的单链或双链siRNA分子的附接。适合连同所公开的方法和组合物一起使用的分支点部分的非限制性实例包括例如亚磷酸胺、甲苯磺酰化丙酮缩甘油、1,3-二氨基丙醇、季戊四醇和US10,478,503中描述的任何一种分支点部分。

[0258] 如本文所用,术语“磷酸部分”是指包括磷酸以及经修饰的磷酸的末端磷酸基团。磷酸部分可位于任一末端,但优选位于5'-末端核苷处。在一个方面,末端磷酸是未修饰的,具有式 $-O-P(=O)(OH)OH$ 。在另一方面,末端磷酸是经修饰的,使得O和OH基团中的一个或多个被H、O、S、N(R')或烷基置换,其中R'是H、氨基保护基团,或未取代或经取代的烷基。在一些实施方案中,5'和或3'末端基团可包括1至3个磷酸部分,这些磷酸部分各自独立地是未修饰的(二磷酸或三磷酸)或经修饰的。

[0259] 如本文所用,术语“5'磷稳定部分”是指包括磷酸酯以及经修饰的磷酸酯(例如,硫代磷酸酯、磷酸二酯、膦酸酯)的末端磷酸基团。磷酸部分可位于任一末端,但优选位于5'-末端核苷处。在一个方面,末端磷酸是未修饰的,具有式 $-O-P(=O)(OH)OH$ 。在另一方面,末端磷酸是经修饰的,使得O和OH基团中的一个或多个被H、O、S、N(R')或烷基置换,其中R'是H、氨基保护基团,或未取代或经取代的烷基。在一些实施方案中,5'和或3'末端基团可包括1至3个磷酸部分,这些磷酸部分各自独立地是未修饰的(二磷酸或三磷酸)或经修饰的。

[0260] 还可以修饰核苷酸的磷酸基团,例如通过用硫取代磷酸基团的一个或多个氧(例如,硫代磷酸酯),或通过进行允许核苷酸进行其预期功能的其他取代,诸如在例如Eckstein, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 10:117-21, 2000; Rusckowski等人, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 10:333-45, 2000; Stein, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 11:317-25, 2001; Vorobjev等人, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* 11:77-85, 2001; 和US 5,684,143中所述。某些上述修饰(例如,磷酸基团修饰)优选降低例如包括所述类似物的多核苷酸在体内或体外的水解速率。

[0261] 如本文所用,术语“互补”是指形成规范沃森-克里克碱基对的两个核苷酸。为免生疑问,本公开的上下文中的沃森-克里克碱基对包括腺嘌呤-胸腺嘧啶、腺嘌呤-尿嘧啶和胞嘧啶-鸟嘌呤碱基对。在本文中,正确的沃森-克里克碱基对被称为“匹配”,而每个未配对的核苷酸和每个错误配对的核苷酸都被称为“错配”。用于确定核酸序列同一性百分比的比对可以在本领域技术人员能力范围内的各种方式实现,例如,使用可公开获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2或Megalalign软件。

[0262] 相对于参考多核苷酸序列的“百分比(%)序列互补性”定义为在比对序列并引入缺口之后,候选序列中与参考多核苷酸序列中的核酸互补的核酸的百分比,如果需要的话,以实现最大百分比的序列互补性。如果两个核苷酸形成规范的沃森-克里克碱基对,则认为给定的核苷酸与本文所述的参考核苷酸“互补”。为免生疑问,本公开的上下文中的沃森-克里克碱基对包括腺嘌呤-胸腺嘧啶、腺嘌呤-尿嘧啶和胞嘧啶-鸟嘌呤碱基对。在本文中,正确的沃森-克里克碱基对被称为“匹配”,而每个未配对的核苷酸和每个错误配对的核苷酸都被称为“错配”。用于确定核酸序列同一性百分比的比对可以在本领域技术人员能力范围内的各种方式实现,例如,使用可公开获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2或Megalalign软件。本领域技术人员可以确定用于比对序列的适当参数,包括实现在所比较序列的全长上实现最大互补性所需的任何算法。例如,给定核酸序列A与给定核酸序列B的序

列互补性百分比(也可以表述为给定核酸序列A与给定核酸序列B具有一定的互补性百分比)计算公式如下:

$$[0263] \quad 100 \times (\text{分数} X/Y)$$

[0264] 其中X是在A和B的程序比对中,比对(例如,由计算机软件,诸如BLAST执行)中互补碱基对的数量,其中Y是B中的核酸总数。应当理解,当核酸序列A的长度不等于核酸序列B的长度时,A与B的序列互补性百分比将不等于B与A的序列互补性百分比。如本文所用,如果查询核酸序列与参考核酸序列具有100%的序列互补性,则认为查询核酸序列与参考核酸序列“完全互补”。

[0265] 相对于参考多核苷酸或多肽序列的“序列一致性百分比(%)”定义为在比对序列且引入空位(如果需要)以实现最大序列一致性百分比后,候选序列中与参考多核苷酸或多肽序列中的核酸或氨基酸一致的核酸或氨基酸的百分比。用于确定核酸或氨基酸序列同一性百分比的比对可以在本领域技术人员能力范围内的各种方式实现,例如,使用可公开获得的计算机软件,诸如BLAST、BLAST-2或Megaalign软件。本领域技术人员可确定适用于比对序列的参数,包括实现所比较序列的全长内的最大比对所需的任何算法。例如,可使用序列比较计算机程序BLAST生成序列同一性百分比值。例如,给定核酸或氨基酸序列A对、与或针对给定核酸或氨基酸序列B的序列同一性百分比(也可以可替代地表述为给定核酸或氨基酸序列A对、与或针对给定核酸或氨基酸序列B所具有的一定的序列同一性百分比)计算如下:

$$[0266] \quad 100 \times (\text{分数} X/Y)$$

[0267] 其中X是通过序列比对程序(例如,BLAST)在所述程序的A和B的比对中评分为相同匹配的核苷酸或氨基酸的数目,并且其中Y是B中核酸的总数。应当理解,在核酸或氨基酸序列A的长度不等于核酸或氨基酸序列B的长度的情况下,A对于B的序列同一性百分比将不等于B对于A的序列同一性百分比。

[0268] 如本文所用,术语“足以杂交的互补性”是指不需要与靶区域完全互补(例如,100%互补)的核酸序列或其部分,或者是指相对于靶区域具有一个或多个核苷酸错配,但在指定条件下仍能够与靶区域杂交的核酸序列或其部分。例如,核酸可以是例如95%互补、90%互补、85%互补、80%互补、75%互补、70%互补、65%互补、60%互补、55%互补、50%互补或更少,但仍与靶标形成足够的碱基对,以便在其长度上杂交。

[0269] 当多核苷酸内的一个或多个核苷残基与一个或多个互补核苷碱基配对形成稳定的双链体时,实现核酸的“杂交”或“退火”。碱基配对通常由氢键合事件驱动。杂交包括由自然和/或修饰核碱基形成的沃森-克里克碱基对。杂交还可以包括非沃森-克里克碱基对,诸如不稳定碱基对(鸟苷-尿嘧啶、次黄嘌呤-尿嘧啶、次黄嘌呤-腺嘌呤和次黄嘌呤-胞嘧啶),以及Hoogsteen碱基对。核酸不需要100%互补才能进行杂交。例如,一个核酸可以相对于另一个核酸例如95%互补、90%互补、85%互补、80%互补、75%互补、70%互补、65%互补、60%互补、55%互补、50%互补或更少,但两个核酸仍可彼此形成足够的碱基对以便杂交。

[0270] 一个核酸与另一个核酸退火/杂交后形成的“稳定双链体”是不会因严格洗涤而变性的双链体结构。示例性严格洗涤条件是本领域已知的并且包括比双链体的单个链的解链温度低约5°C的温度和低单价盐浓度,诸如小于0.2M(例如,0.2M、0.19M、0.18M、0.17M、0.16M、0.15M、0.14M、0.13M、0.12M、0.11M、0.1M、0.09M、0.08M、0.07M、0.06M、0.05M、0.04M、

0.03M、0.02M、0.01M或更少)的单价盐浓度(例如,NaCl浓度)。

[0271] 术语“基因沉默”是指基因表达例如KCNT1内源基因表达的阻抑,其可以通过影响转录的过程和/或通过影响转录后机制的过程介导。在一些实施方案中,基因沉默发生在RNAi分子通过RNA干扰以序列特异性方式启动对从目标基因转录的mRNA的抑制或降解时,从而阻止基因产物的翻译。

[0272] 如本文所用,短语“过度活跃的疾病驱动基因”是指具有增加的活性和/或表达,在受试者(例如,人)中促成或引起疾病状态的基因。疾病状态可以由过度活跃的疾病驱动基因直接或通过中间基因引起或加剧。

[0273] 如本文所用,术语“乙二醇链”是指具有式 $(\text{CH}_2\text{OH})_2$ 的碳链。

[0274] 如本文所用,“烷基”是指饱和烃基。烷基基团可以是无环的或环状的并且当未取代时仅含有C和H。当命名具有特定碳数的烷基残基时,旨在涵盖和描述具有该碳数的所有几何异构体;因此,例如,“丁基”意在包括正丁基、仲丁基和异丁基。烷基的实例包括乙基、丙基、丁基、戊基、己基、庚基、辛基、环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基等。在一些实施方案中,烷基可以被取代。可以引入烷基基团的合适的取代基包括例如羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基和卤代等。

[0275] 如本文所用,“烯基”是指具有至少一个烯属不饱和位点(即,具有至少一个式 $\text{C}=\text{C}$ 的部分)的无环或环状不饱和烃基。当未取代时,烯基基团仅含有C和H。当命名具有特定碳数的烯基残基时,旨在涵盖和描述具有该碳数的所有几何异构体;因此,例如,“丁烯基”意在包括正丁烯基、仲丁烯基和异丁烯基。烯基的实例包括 $-\text{CH}=\text{CH}_2$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ 和 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$ 。在一些实施方案中,烯基可以被取代。可以引入烯基基团的合适的取代基包括例如羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基和卤代等。

[0276] 如本文所用,“炔基”是指具有至少一个炔属不饱和位点(即,具有至少一个式 $\text{C}\equiv\text{C}$ 的部分)的无环或环状不饱和烃基。当未取代时,炔基基团仅含有C和H。当命名具有特定碳数的炔基残基时,旨在涵盖和描述具有该碳数的所有几何异构体;因此,例如,“戊炔基”意在包括正戊炔基、仲戊炔基、异戊炔基和叔戊炔基。炔基的实例包括 $-\text{C}\equiv\text{CH}$ 和 $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$ 。在一些实施方案中,炔基可以被取代。可以引入炔基基团的合适的取代基包括例如羟基、烷氧基、氨基、烷基氨基和卤代等。

[0277] 如本文所用,术语“苯基”表示其中环的碳原子上的一個氢原子已被去除的单环芳烃。苯基基团可以是未取代的或被一个或多个合适的取代基取代,其中取代基置换苯基的H。

[0278] 如本文所用,术语“苄基”是指当附接到甲苯的甲基基团上的氢原子被去除时获得的一价基团。苄基通常具有苯基- CH_2 -的式。苄基基团可以是未取代的或被一个或多个合适的取代基取代。例如,取代基可以置换苯基组分的H和/或亚甲基($-\text{CH}_2-$)组分的H。

[0279] 如本文所用,术语“酰胺”是指附接至氨基-羰基官能团的烷基、烯基、炔基或芳族基团。

[0280] 如本文所用,术语“三唑”是指具有式 $(\text{C}_2\text{H}_3\text{N}_3)$ 的杂环化合物,杂环化合物具有两个碳和三个氮的五元环,其位置可以改变,从而产生多种异构体。

[0281] 如本文所用,术语“末端基团”是指碳链或核酸末端的基团。

[0282] 如本文所用,“氨基酸”是指含有胺和羧基官能团以及氨基酸特有的侧链的分子。

[0283] 在一些实施方案中,氨基酸选自蛋白氨基酸。在一些实施方案中,氨基酸是L-氨基酸或D-氨基酸。在一些实施方案中,氨基酸是合成氨基酸(例如, β -氨基酸)。

[0284] 如本文所用,术语“亲脂性氨基酸”是指包括疏水部分(例如,烷基链或芳香环)的氨基酸。

[0285] 如本文所用,术语“递送靶标”是指需要向其递送分支寡核苷酸组合物的身体器官或部分。

[0286] 如本文所用,术语“介于X和Y之间”包括X和Y值。例如,“介于X和Y之间”是指X值和Y值之间的值的范围,以及X值和Y值。

[0287] 如本文所用,术语“受试者”和“患者”可互换使用并且是指经历癫痫的发作和/或癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血、心律失常等)和/或含有功能获得性KCNT1变体等位基因的生物体,诸如哺乳动物(例如,人)。诊断患有癫痫的受试者和患者的非限制性实例包括诊断患有婴儿癫痫伴游走性局灶性发作(EIMFS)、常染色体显性遗传性夜间额叶癫痫(ADNFLE)、West综合征、Ohtahara综合征、早期肌阵挛性脑病、脑白质营养不良和/或脑白质病、局灶性癫痫和多灶性癫痫的受试者和患者。

[0288] 如本文所用,术语“癫痫”是指多种类型的癫痫综合征中的任一种,包括但不限于额叶癫痫、枕叶癫痫、内侧颞叶癫痫、顶叶癫痫、婴儿良性肌阵挛性癫痫、青少年肌阵挛性癫痫、儿童失神性癫痫、青少年失神性癫痫、儿童期癫痫伴全身性强直性阵挛发作、婴儿痉挛、Lennox-Gastaut综合征、West综合征、睡眠相关性过度运动性癫痫、进行性肌阵挛癫痫、发热性痉挛、癫痫伴慢波睡眠期持续棘慢波、Laudau Kleffner综合征、Rasmussen综合征、先天性代谢缺陷引起的癫痫、婴儿期癫痫伴迁移局灶性发作、常染色体显性夜间额叶癫痫、Ohtahara综合征、早期肌阵挛性脑病、局灶性癫痫和/或多灶性癫痫

[0289] 如本文所用,术语“KCNT1”是指编码钠活化钾通道亚家族T成员1(也称为SLACK、 $K_{Na}1.1$ 和Slc2.2)的基因,包括任何来源的任何天然KCNT1基因。该术语涵盖“全长”未处理KCNT1以及由细胞内加工产生的任何形式的KCNT1。该术语还涵盖KCNT1的天然存在的变体,例如剪接变体或等位基因变体。示例性KCNT1基因的核酸序列示于欧洲核苷酸档案库(ENA)登录号KP869068.1。KCNT1基因编码的示例性蛋白质的氨基酸序列示于UNIPROT™登录号Q5JUK3。

[0290] 如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treated)”和“治疗(treating)”意指治疗性治疗和预防性(prophylactic或preventative)措施,其中目的是预防、改善或减缓(减轻)不期望的生理病状、病症或疾病,或获得有益或期望的临床结果。有益的或期望的临床结果包括但不限于患者对抗惊厥药治疗的依赖性降低;症状的减轻;病状、病症或疾病的程度的减少;病状、病症或疾病的状态的稳定(即,不恶化);病状、病症或疾病进展的发作或减缓的延迟;病状、病症或疾病状态的改善或缓解(无论是部分或全部),无论是可检测的还是不可检测的;至少一个可测量的物理参数的改善,该物理参数不一定是患者可辨别的;或病状、病症或疾病的增强或改善。治疗包括引起临床上显著的反应而无过度水平的副作用。治疗还包括与不接受治疗情况下的预期存活相比延长存活。

[0291] 如本文所用,术语“益处”和“反应”在接受例如癫痫治疗的疗法的受试者的上下文中可互换使用。例如,在向受试者施用本公开的siRNA分子或siRNA组合物的背景下的临床益处包括但不限于对抗惊厥药、镇静剂和/或神经痛药物的依赖性降低或完全戒断,和/或;

受试者经历的癫痫事件的持续时间和/或频率减少,和/或;癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血、心律失常等)减少,和/或;野生型KCNT1转录物、突变型KCNT1转录物、变体KCNT1转录物、KCNT1转录物的剪接异构体和/或过表达的KCNT1转录物减少。

具体实施方式

[0292] 本公开提供了与钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1) 基因具有序列同源性的干扰RNA (siRNA) 分子的组合物,以及将所述siRNA分子施用至受试者的中枢神经系统的方法。此外,本文所述的siRNA分子可以组成为分支siRNA结构,诸如二分支、三支和四分支siRNA结构,并且还可以包括特定模式的化学修饰(例如,2'核糖修饰或核苷间键联修饰)以改善针对核酸酶的抗性、毒性概况和物理化学特性(例如,热稳定性)。小干扰RNA分子是短的双链RNA分子。它们能够通过降解具有互补核苷酸序列的mRNA来介导RNA干扰(RNAi),从而阻止靶基因的翻译。

[0293] 相对于电压门控钾离子(K^+)通道家族中的其他基因,本公开的siRNA分子可以表现出例如对KCNT1的稳健的基因特异性阻抑。具体而言,本公开的所有寡核苷酸都不含与密切相关的 K^+ 通道基因KCNT2和KCNMA1、心脏KCNH2、KCNQ1、KCNE1和KCNE2基因或KCNA、KCNB、KCNC、KCND、KCNQ、KCNV或KCNH家族的基因匹配的种子siRNA序列,这些基因通常通过功能丧失性遗传变体与不良的神经系统或其他结果相关。

[0294] 本公开的siRNA分子可特征在于具有与具有SEQ ID NO:437-654和1035-1224中任一个的核酸序列的KCNT1 mRNA转录物的区域互补的核酸序列的反义链。反义链与KCNT1 mRNA转录物的区域的互补程度可能足以使反义链在KCNT1 mRNA转录物的区域的全长上退火。例如,反义链可具有与KCNT1 mRNA转录物的区域至少60%互补(例如,60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互补)的核酸序列。

[0295] 在一些实施方案中,本公开的siRNA分子的特征在于具有SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列或与之至少60%同一的核酸序列的反义链。例如,本公开的siRNA分子可特征在于具有与SEQ ID NO:1-218和655-844中任一个的核酸序列至少60%同一(例如,60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列的反义链。

[0296] 在一些实施方案中,本公开的siRNA分子特征在于有义链,所述有义链具有SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列,或与之至少60%同一的核酸序列。例如,本公开的siRNA分子可特征在于具有与SEQ ID NO:219-436和845-1034中任一个的核酸序列至少60%同一(例如,60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一)的核酸序列的有义链。

[0297] 本公开的示例性siRNA分子是下表1中所示的那些。表1汇总了反义链、有义链以及每条反义链所靶向的KCNT1 mRNA转录物的相应区域。

[0298] 表1. 基因特异性的靶向KCNT1的siRNA的核苷酸序列

[0299]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
1	UACAGC UUGAGC CGCUCC UUG	219	AGCGGCU CAAGCUG UA	437	CAAGGA GCGGCU CAAGCU GUU
2	UAACAG CUUGAG CCGCUCC UU	220	GCGGCUC AAGCUGU UA	438	AAGGAG CGGCUC AAGCUG UUC
3	UAGAAC AGCUUG AGCCGC UCC	221	GGCUCAA GCUGUUC UA	439	GGAGCG GCUCAA GCUGUU CUU
4	UAAGAA CAGCUU GAGCCG CUC	222	GCUCAAG CUGUUCU UA	440	GAGCGG CUCAAG CUGUUC UUC
5	UGAAGA ACAGCU	223	CUCAAGC UGUUCUU	441	AGCGGC UCAAGC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UGAGCC GCU		CA		UGUUCU UCA
6	UUGAAG AACAGC UUGAGC CGC	224	UCAAGCU GUUCUUC AA	442	GCGGCU CAAGCU GUUCUU CAU
7	UAUGAA GAACAG CUUGAG CCG	225	CAAGCUG UUCUUCA UA	443	CGGCUC AAGCUG UUCUUC AUC
8	UGAUGA AGAACA GCUUGA GCC	226	AAGCUGU UCUUCAU CA	444	GGCUCA AGCUGU UCUUCA UCA
9	UUGAUG AAGAAC AGCUUG AGC	227	AGCUGUU CUUCAUC AA	445	GCUCAA GCUGUU CUUCAU CAA
10	UUUGAU GAAGAA CAGCUU GAG	228	GCUGUUC UUCAUCA AA	446	CUCAAG CUGUUC UUCAUC AAA
11	UUUUGA UGAAGA ACAGCU UGA	229	CUGUUCU UCAUCA AA	447	UCAAGC UGUUCU UCAUCA AAA
12	UUGAAC AGCCGG AUCCUC AGG	230	GGAUCCG GCUGUUC AA	448	CCUGAG GAUCCG GCUGUU CAA
13	UUUGAA CAGCCG GAUCCU CAG	231	GAUCCGG CUGUUCA AA	449	CUGAGG AUCCGG CUGUUC AAC
14	UGUUGA ACAGCC GGAUCC UCA	232	AUCCGGC UGUUCAA CA	450	UGAGGA UCCGGC UGUUCA ACU
15	UAGUUG	233	UCCGGCU	451	GAGGAU

[0300]

[0301]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
	AACAGC CGGAUC CUC		GUUCAAC UA		CCGGCU GUUCA CUU
16	UAAGUU GAACAG CCGGAU CCU	234	CCGGCUG UUCAACU UA	452	AGGAUC CGGCUG UUCAAC UUC
17	UGAAGU UGAACA GCCGGA UCC	235	CGGCUGU UCAACUU CA	453	GGAUCC GGCUGU UCAACU UCU
18	UAGAAG UUGAAC AGCCGG AUC	236	GGCUGUU CAACUUC UA	454	GAUCCG GCUGUU CAACUU CUC
19	UGAGAA GUUGAA CAGCCG GAU	237	GCUGUUC AACUUCU CA	455	AUCCGG CUGUUC AACUUC UCC
20	UGGAGA AGUUGA ACAGCC GGA	238	CUGUUCA ACUUCUC CA	456	UCCGGC UGUUCA ACUUCU CCC
21	UGGGAG AAGUUG AACAGC CGG	239	UGUUCAA CUUCUCC CA	457	CCGGCU GUUCA CUUCUC CCU
22	UAGGGA GAAGUU GAACAG CCG	240	GUUCAAC UUCUCCC UA	458	CGGCUG UUCAAC UUCUCC CUG
23	UCCAGC AUCCGA UGCCCA GGG	241	GGCAUCG GAUGCUG GA	459	CCUGG GCAUCG GAUCU GGG
24	UCCCAG CAUCCG AUGCCC AGG	242	GCAUCGG AUGCUGG GA	460	CCUGGG CAUCGG AUGCUG GGG

[0302]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
25	UCUUUG UAGCUG AGGUAG AUG	243	ACCUCAG CUACAAA GA	461	CAUCUA CCUCAG CUACAA AGG
26	UCCUUU GUAGCU GAGGUA GAU	244	CCUCAGC UACAAAG GA	462	AUCUAC CUCAGC UACAAA GGC
27	UGUUGC CUUUGU AGCUGA GGU	245	AGCUACA AAGGCAA CA	463	ACCUCA GCUACA AAGGCA ACA
28	UUGUUG CCUUUG UAGCUG AGG	246	GCUACAA AGGCAAC AA	464	CCUCAG CUACAA AGGCAA CAU
29	UAUGUU GCCUUU GUAGCU GAG	247	CUACAAA GGCAACA UA	465	CUCAGC UACAAA GGCAAC AUC
30	UGAUGU UGCCUU UGUAGC UGA	248	UACAAAG GCAACAU CA	466	UCAGCU ACAAAG GCAACA UCU
31	UAGAUG UUGCCU UUGUAG CUG	249	ACAAAGG CAACAUC UA	467	CAGCUA CAAAGG CAACAU CUG
32	UCAGAU GUUGCC UUUGUA GCU	250	CAAAGGC ACAUCU GA	468	AGCUAC AAAGGC ACAUC UGG
33	UCCAGA UGUUGC CUUUGU AGC	251	AAAGGCA ACAUCUG GA	469	GCUACA AAGGCA ACAUCU GGG
34	UCCAG AUGUUG CCUUUG	252	AAGGCAA CAUCUGG GA	470	CUACAA AGGCAA CAUCUG

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UAG				GGA
35	UUCCCA GAUGUU GCCUUU GUA	253	AGGCAAC AUCUGGG AA	471	UACAAA GGCAAC AUCUGG GAG
36	UCUCCC AGAUGU UGCCUU UGU	254	GGCAACA UCUGGGA GA	472	ACAAAG GCAACA UCUGGG AGC
37	UGCUC CAGAUG UUGCCU UUG	255	GCAACAU CUGGGAG CA	473	CAAAGG CAACAU CUGGGA GCA
38	UGUGUU GAUCAU CUCCAG GAC	256	GGAGAU GAUCAAC ACA	474	GUCCUG GAGAUG AUCAAC ACU
39	UUGAUG AUGAAG GGCAGA GUG	257	UGCCCUU CAUCAUC AA	475	CACUCU GCCCUU CAUCAU CAC
40	UGUGAU GAUGAA GGGCAG AGU	258	GCCCUUC AUCAUCA CA	476	ACUCUG CCCUUC AUCAUC ACG
41	UCGUGA UGAUGA AGGGCA GAG	259	CCCUUCA UCAUCAC GA	477	CUCUGC CCUUCA UCAUCA CGA
42	UUGAAC AGGUUC CGCAGC GGC	260	UGC GGAA CCUGUUC AA	478	GCCGCU GCGGAA CCUGUU CAU
43	UAUGAA CAGGUU CCGCAG CGG	261	GCGGAAC CUGUUCA UA	479	CCGCUG CGGAAC CUGUUC AUC
44	UGAUGA ACAGGU	262	CGGAACC UGUUCAU	480	CGCUGC GGAACC

[0303]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UCCGCA GCG		CA		UGUUCA UCC
45	UGGAUG AACAGG UUCCGC AGC	263	GGAACCU GUUCAUC CA	481	GCUGCG GAACCU GUUCAU CCC
46	UGGGAU GAACAG GUUCCG CAG	264	GAACCUG UUCAUCC CA	482	CUGCGG AACCUG UUCAUC CCC
47	UUGGCA CGGUGG AAGUCA UUA	265	ACUUCCA CCGUGCC AA	483	UAAUGA CUUCCA CCGUGC CAU
48	UAUGGC ACGGUG GAAGUC AUU	266	CUUCCAC CGUGCCA UA	484	AAUGAC UUCCAC CGUGCC AUC
49	UGAUGG CACGGU GGAAGU CAU	267	UUCCACC GUGCCAU CA	485	AUGACU UCCACC GUGCCA UCC
50	UGGAUG GCACGG UGGAAG UCA	268	UCCACCG UGCCAUC CA	486	UGACUU CCACCG UGCCAU CCU
51	UAGGAU GGCACG GUGGAA GUC	269	CCACCGU GCCAUCC UA	487	GACUUC CACCGU GCCAUC CUG
52	UCCUGG UUGAAC AUGGCU GAC	270	CCAUGUU CAACCAG GA	488	GUCAGC CAUGUU CAACCA GGU
53	UACAGC AGGGUG CAGAAG AGG	271	UCUGCAC CCUGCUG UA	489	CCUCUU CUGCAC CCUGCUG GUG
54	UGGCAC	272	GCACCCU	490	CUUCUG

[0304]

[0305]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
	AGCAGG GUGCAG AAG		GCUGUGC CA		CACCCU GCUGUG CCU
55	UAGUAG AAGGAG GUCAGG AGG	273	UGACCUC CUUCUAC UA	491	CCUCCU GACCUC CUUCUA CUU
56	UGAAGU AGAAGG AGGUCA GGA	274	ACCUCCU UCUACUU CA	492	UCCUGA CCUCCU UCUACU UCU
57	UAGAAG UAGAAG GAGGUC AGG	275	CCUCCUU CUACUUC UA	493	CCUGAC CUCCUU CUACUU CUG
58	UGCAGA AGUAGA AGGAGG UCA	276	UCCUUCU ACUUCUG CA	494	UGACCU CCUUCU ACUUCU GCA
59	UUGCAG AAGUAG AAGGAG GUC	277	CCUUCUA CUUCUGC AA	495	GACCUC CUUCUA CUUCUG CAU
60	UAUGCA GAAGUA GAAGGA GGU	278	CUUCUAC UUCUGCA UA	496	ACCUCC UUCUAC UUCUGC AUC
61	UGAUGC AGAAGU AGAAGG AGG	279	UUCUACU UCUGCAU CA	497	CCUCCU UCUACU UCUGCA UCG
62	UCGAUG CAGAAG UAGAAG GAG	280	UCUACUU CUGCAUC GA	498	CUCCUU CUACUU CUGCAU CGU
63	UACGAU GCAGAA GUAGAA GGA	281	CUACUUC UGCAUCG UA	499	UCCUUC UACUUC UGCAUC GUC

[0306]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
64	UGCCAG AUCUUG GGCGUG ACG	282	CGCCCAA GAUCUGG CA	500	CGUCAC GCCCAA GAUCUG GCC
65	UGCAGU GGGAGC ACCACG AGG	283	UGGUGCU CCCACUG CA	501	CCUCGU GGUGCU CCCACU GCA
66	UUGCAG UGGGAG CACCAC GAG	284	GGUGCUC CCACUGC AA	502	CUCGUG GUGCUC CCACUG CAG
67	UCCAUC CAGAGG UAGACG AGC	285	UCUACCU CUGGAUG GA	503	GCUCGU CUACCU CUGGAU GGA
68	UCCAUC CCAGAG GUAGAC GAG	286	CUACCUC UGGAUG GAA	504	CUCGUC UACCUC UGGAUG GAG
69	UCUCCA UCCAGA GGUAGA CGA	287	UACCUCU GGAUGG AGA	505	UCGUCU ACCUCU GGAUGG AGC
70	UGCUCU AUCCAG AGGUAG ACG	288	ACCUCUG GAUGGA GCA	506	CGUCUA CCUCUG GAUGGA GCG
71	UUCAGG AAGUCC AUGAGA AGG	289	UCAUGGA CUUCCUG AA	507	CCUUCU CAUGGA CUUCCU GAA
72	UUUCAG GAAGUC CAUGAG AAG	290	CAUGGAC UUCCUGA AA	508	CUUCUC AUGGAC UUCCUG AAC
73	UACAGG AUGACC ACGUAA	291	ACGUGGU CAUCCUG UA	509	CUAUUA CGUGGU CAUCCU

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UAG				GUG
74	UGACCC GCUGGG ACCACA GAG	292	UGGUCCC AGCGGGU CA	510	CUCUGU GGUCCC AGCGGG UCA
75	UUGACC CGCUGG GACCAC AGA	293	GGUCCCA GCGGGUC AA	511	UCUGUG GUCCCA GCGGGU CAU
76	UAUGAC CCGCUG GGACCA CAG	294	GUCCAG CGGGUCA UA	512	CUGUGG UCCAG CGGGUC AUC
77	UGAUGA CCCGCU GGGACC ACA	295	UCCCAGC GGGUCAU CA	513	UGUGGU CCCAGC GGGUCA UCU
78	UAGAUG ACCCGC UGGGAC CAC	296	CCCAGCG GGUCAUC UA	514	GUGGUC CCAGCG GGUCAU CUA
79	UUAGAU GACCCG CUGGGA CCA	297	CCAGCGG GUCAUCU AA	515	UGGUCC CAGCGG GUCAUC UAC
80	UGUAGA UGACCC GCUGGG ACC	298	CAGCGGG UCAUCUA CA	516	GGUCCC AGCGGG UCAUCU ACC
81	UGGUAG AUGACC CGCUGG GAC	299	AGCGGGU CAUCUAC CA	517	GUCCCA GCGGGU CAUCUA CCU
82	UAGGUA GAUGAC CCGCUG GGA	300	GCGGGUC AUCUACC UA	518	UCCAG CGGGUC AUCUAC CUC
83	UGAGGU AGAUGA	301	CGGGUCA UCUACCU	519	CCCAGC GGGUCA

[0307]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CCCGCU GGG		CA		UCUACC UCC
84	UGGAGG UAGAUG ACCCGC UGG	302	GGGUCAU CUACCUC CA	520	CCAGCG GGUCAU CUACCU CCA
85	UUGGAG GUAGAU GACCCG CUG	303	GGUCAUC UACCUCC AA	521	CAGCGG GUCAUC UACCUCC CAG
86	UCUGGA GGUAGA UGACCC GCU	304	GUCAUCU ACCUCCA GA	522	AGCGGG UCAUCU ACCUCC AGG
87	UCCUGG AGGUAG AUGACC CGC	305	UCAUCUA CCUCCAG GA	523	GCGGGU CAUCUA CCUCCA GGG
88	UGCCCU GGAGGU AGAUGA CCC	306	AUCUACC UCCAGGG CA	524	GGGUCA UCUACC UCCAGG GCU
89	UAGCCC UGGAGG UAGAUG ACC	307	UCUACCU CCAGGGC UA	525	GGUCAU CUACCU CCAGGG CUC
90	UGAGCC CUGGAG GUAGAU GAC	308	CUACCUC CAGGGCU CA	526	GUCAUC UACCUCC CAGGGC UCU
91	UAGAGC CCUGGA GGUAGA UGA	309	UACCUCC AGGGCUC UA	527	UCAUCU ACCUCC AGGGCU CUG
92	UCAGAG CCCUGG AGGUAG AUG	310	ACCUCCA GGGCUCU GA	528	CAUCUA CCUCCA GGGCUC UGC
93	UGCAGA	311	CCUCCAG	529	AUCUAC

[0308]

[0309]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
	GCCCUG GAGGUA GAU		GGCUCUG CA		CUCCAG GGCUCU GCA
94	UUCUUG GCUCGC AUGAGG UCC	312	UCAUGCG AGCCAAG AA	530	GGACCU CAUGCG AGCCAA GAU
95	UAUCUU GGCUCG CAUGAG GUC	313	CAUGC GA GCCAAGA UA	531	GACCUC AUGC GA GCCAAG AUG
96	UCAUCU UGGCUC GCAUGA GGU	314	AUGC GA CCAAGAU GA	532	ACCUCA UGCGAG CCAAGA UGG
97	UCCAUC UUGGCU CGCAUG AGG	315	UGCGAGC CAAGAUG GA	533	CCUCAU GCGAGC CAAGAU GGA
98	UCCAUC CUUGGC UCGCAU GAG	316	GCGAGCC AAGAUG GAA	534	CUCAUG CGAGCC AAGAUG GAC
99	UGUCCA UCUUGG CUCGCA UGA	317	CGAGCCA AGAUGG ACA	535	UCAUGC GAGCCA AGAUGG ACA
100	UUGUCC AUCUUG GCUCGC AUG	318	GAGCCAA GAUGGAC AA	536	CAUGC AGCCAA GAUGGA CAA
101	UUUGUC CAUCUU GGCUCG CAU	319	AGCCAAG AUGGACA AA	537	AUGC GCCAAG AUGGAC AAU
102	UCCACG UGGUCA GCAAAC UUG	320	UUGCUGA CCACGUG GA	538	CAAGUU UGCUGA CCACGU GGU

[0310]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
103	UGGCAG AUGCAG UUCAGC GCC	321	UGAACUG CAUCUGC CA	539	GGCGCU GAACUG CAUCUG CCC
104	UGGGCA GAUGCA GUUCAG CGC	322	GAACUGC AUCUGCC CA	540	GCGCUG AACUGC AUCUGC CCG
105	UCGGGC AGAUGC AGUUCA GCG	323	AACUGCA UCUGCCC GA	541	CGCUGA ACUGCA UCUGCC CGG
106	UCCGGG CAGAUG CAGUUC AGC	324	ACUGCAU CUGCCCG GA	542	GCUGAA CUGCAU CUGCCC GGC
107	UGCCGG GCAGAU GCAGUU CAG	325	CUGCAUC UGCCCGG CA	543	CUGAAC UGCAUC UGCCCG GCG
108	UAGGGU GAUGAG GGUGGA GGU	326	CACCCUC AUCACCC UA	544	ACCUCC ACCCUC AUCACC CUG
109	UCAGGG UGAUGA GGGUGG AGG	327	ACCCUCA UCACCCU GA	545	CCUCCAC CCUCAU CACCCU GC
110	UGCAGG GUGAUG AGGGUG GAG	328	CCUCAU CACCCUG CA	546	CUCCACC CUCAUC ACCCUG CU
111	UGCACC AGCAGG GUGAUG AGG	329	UCACCCU GCUGGUG CA	547	CCUCAU CACCCU GCUGGU GCA
112	UGACGU GUGCAC CAGCAG	330	GCUGGUG CACACGU CA	548	ACCCUG CUGGUG CACACG

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GGU				UCC
113	UUGCGC UGCCAC UGCUC GGA	331	AGCAGUG GCAGCGC AA	549	UCCGGA GCAGUG GCAGCG CAU
114	UUGAAG CUCUUG CCCUCG UAC	332	AGGGCAA GAGCUUC AA	550	GUACGA GGGCAA GAGCUU CAC
115	UUAGGU GAAGCU CUUGCC CUC	333	CAAGAGC UUCACCU AA	551	GAGGGC AAGAGC UUCACC UAC
116	UGUAGG UGAAGC UCUUGC CCU	334	AAGAGCU UCACCUA CA	552	AGGGCA AGAGCU UCACCU ACG
117	UCGUAG GUGAAG CUCUUG CCC	335	AGAGCUU CACCUAC GA	553	GGGCAA GAGCUU CACCUA CGC
118	UGCGUA GGUGAA GCUCUU GCC	336	GAGCUUC ACCUACG CA	554	GGCAAG AGCUUC ACCUAC GCG
119	UGCCCG AUGAGG CACACG CCA	337	UGUGCCU CAUCGGG CA	555	UGGCGU GUGCCU CAUCGG GCU
120	UCAGCC CGAUGA GGCACA CGC	338	UGCCUCA UCGGGCU GA	556	GCGUGU GCCUCA UCGGGC UGA
121	UUCAGC CCGAUG AGGCAC ACG	339	GCCUCAU CGGGCUG AA	557	CGUGUG CCUCAU CGGGCU GAA
122	UUUCAG CCCGAU	340	CCUCAUC GGGCUGA	558	GUGUGC CUCAUC

[0311]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GAGGCA CAC		AA		GGGCUG AAG
123	UGCUUC AGCCCG AUGAGG CAC	341	UCAUCGG GCUGAAG CA	559	GUGCCU CAUCGG GCUGAA GCG
124	UCGCUU CAGCCC GAUGAG GCA	342	CAUCGGG CUGAAGC GA	560	UGCCUC AUCGGG CUGAAG CGG
125	UAGUUC UCCUCC UUGGUG AUG	343	CCAAGGA GGAGAAC UA	561	CAUCAC CAAGGA GGAGAA CUC
126	UGAGUU CUCCUCC UUGGUG AU	344	CAAGGAG GAGAACU CA	562	AUCACC AAGGAG GAGAAC UCG
127	UACAGG CAGGAG GUGGCA CAG	345	CCACCUC CUGCCUG UA	563	CUGUGC CACCUC UGCCUG UG
128	UCACAG GCAGGA GGUGGC ACA	346	CACCUC UGCCUGU GA	564	UGUGCC ACCUC UGCCUG UGA
129	UUCACA GGCAGG AGGUGG CAC	347	ACCUCCU GCCUGUG AA	565	GUGCCA CCUCCU GCCUGU GAA
130	UUUCAC AGGCAG GAGGUG GCA	348	CCUCCUG CCUGUGA AA	566	UGCCAC CUCCUG CCUGUG AAA
131	UUUGCA GCCCUU GUCCAG CCG	349	GGACAAG GGCUGCA AA	567	CGGCUG GACAAG GGCUGC AAG
132	UGCUUG	350	GGUUCAA	568	CUACGG

[0312]

[0313]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
	UUCUUG AACCCG UAG		GAACAAG CA		GUUCA GAACA GCU
133	UAGCUU GUUCUU GAACCC GUA	351	GUUCAAG ACAAGC UA	569	UACGGG UUCAAG ACAAG CUG
134	UCAGCU UGUUCU UGAAC CGU	352	UUCAAGA ACAAGC GA	570	ACGGGU UCAAGA ACAAGC UGA
135	UUCAGC UUGUUC UUGAAC CCG	353	UCAAGAA CAAGCUG AA	571	CGGGU CAAGAA CAAGC GAU
136	UAUCAG CUUGUU CUUGAA CCC	354	CAAGAAC AAGCUGA UA	572	GGGUUC AAGAAC AAGCUG AUC
137	UGCACG AUGAAG UUGUAC AGC	355	ACAACUU CAUCGUG CA	573	GCUGUA CAACUU CAUCGU GCC
138	UCCAGG AAGUGG UGGUCG GGC	356	ACCACCA CUUCCUG GA	574	GCCCGA CCACCAC UUCCUG GA
139	UUCCAG GAAGUG GUGGUC GGG	357	CCACCAC UUCCUGG AA	575	CCCGACC ACCACU UCCUGG AA
140	UUCCAU GUAGUA GACCAU GGG	358	GGUCUAC UACAUGG AA	576	CCCAUG GUCUAC UACAUG GAG
141	UCUCCA UGUAGU AGACCA UGG	359	GUCUACU ACAUGGA GA	577	CCAUGG UCUACU ACAUGG AGG

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
142	UCCUCC AUGUAG UAGACC AUG	360	UCUACUA CAUGGAG GA	578	CAUGGU CUACUA CAUGGA GGG
143	UUGUCC AGGUUG UCCACA GAG	361	UGGACAA CCUGGAC AA	579	CUCUGU GGACAA CCUGGA CAG
144	UGCUGU CCAGGU UGUCCA CAG	362	GACAACC UGGACAG CA	580	CUGUGG ACAACC UGGACA GCC
145	UCCUUG UCCACC ACCACC AGG	363	UGGUGG UGGACAA GGA	581	CCUGGU GGUGGU GGACAA GGA
[0314] 146	UUCCUU GUCCAC CACCACC AG	364	GGUGGU GGACAAG GAA	582	CUGGUG GUGGUG GACAAG GAG
147	UCUCCU UGUCCA CCACCAC CA	365	GUGGUG GACAAGG AGA	583	UGGUGG UGGUGG ACAAGG AGA
148	UGCUCU CCUUGU CCACCAC CA	366	GUGGACA AGGAGA GCA	584	UGGUGG UGGACA AGGAGA GCA
149	UUGCUC UCCUUG UCCACC ACC	367	UGGACAA GGAGAGC AA	585	GGUGGU GGACAA GGAGAG CAC
150	UGUGCU CUCCUU GUCCAC CAC	368	GGACAAG GAGAGCA CA	586	GUGGUG GACAAG GAGAGC ACC
151	UUGACG AUGGUC UUGGCG	369	CCAAGAC CAUCGUC AA	587	GGACGC CAAGAC CAUCGU

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UCC				CAA
152	UUUGAC GAUGGU CUUGGC GUC	370	CAAGACC AUCGUCA AA	588	GACGCC AAGACC AUCGUC AAC
153	UCCGUG GUGAUG CUGAGG CUG	371	UCAGCAU CACCACG GA	589	CAGCCU CAGCAU CACCAC GGA
154	UCUCCG UGGUGA UGCUGA GGC	372	AGCAUCA CCACGGA GA	590	GCCUCA GCAUCA CCACGG AGC
155	UGCUC GUGGUG AUGCUG AGG	373	GCAUCAC CACGGAG CA	591	CCUCAG CAUCAC CACGGA GCU
156	UGAGCU CCGUGG UGAUGC UGA	374	AUCACCA CGGAGCU CA	592	UCAGCA UCACCA CGGAGC UCA
157	UUGAGC UCCGUG GUGAUG CUG	375	UCACCAC GGAGCUC AA	593	CAGCAU CACCAC GGAGCU CAC
158	UGUGAG CUCCGU GGUGAU GCU	376	CACCACG GAGCUCA CA	594	AGCAUC ACCACG GAGCUC ACC
159	UGCAUG UUGGAA GGGUGG GUG	377	ACCCUUC CAACAUG CA	595	CACCCAC CCUUC ACAUG CG
160	UCGCAU GUUGGA AGGGUG GGU	378	CCCUUCC ACAUGC GA	596	ACCCACC CUUCCA ACAUGC GC
161	UAGUAG CUGUCC	379	CCAAGGA CAGCUAC	597	CCGCGCC AAGGAC

[0315]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UUGGCG CGG		UA		AGCUAC UC
162	UGAGUA GCUGUC CUUGGC GCG	380	CAAGGAC AGCUACU CA	598	CGCGCC AAGGAC AGCUAC UCU
163	UAGAGU AGCUGU CCUUGG CGC	381	AAGGACA GCUACUC UA	599	GCGCCA AGGACA GCUACU CUC
164	UGAGAG UAGCUG UCCUUG GCG	382	AGGACAG CUACUCU CA	600	CGCCAA GGACAG CUACUC UCU
165	UAGAGA GUAGCU GUCCUU GGC	383	GGACAGC UACUCUC UA	601	GCCAAG GACAGC UACUCU CUG
166	UCAGAG AGUAGC UGUCCU UGG	384	GACAGCU ACUCUCU GA	602	CCAAGG ACAGCU ACUCUC UGG
167	UCCAGA GAGUAG CUGUCC UUG	385	ACAGCUA CUCUCUG GA	603	CAAGGA CAGCUA CUCUCU GGC
168	UGCCAG AGAGUA GCUGUC CUU	386	CAGCUAC UCUCUGG CA	604	AAGGAC AGCUAC UCUCUG GCU
169	UAGCCA GAGAGU AGCUGU CCU	387	AGCUACU CUCUGGC UA	605	AGGACA GCUACU CUCUGG CUC
170	UGAAAG AGCCAG AGAGUA GCU	388	CUCUCUG GCUCUUU CA	606	AGCUAC UCUCUG GCUCUU UCC
171	UGGAAA	389	UCUCUGG	607	GCUACU

[0316]

[0317]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GAGCCA GAGAGU AGC		CUCUUUC CA		CUCUGG CUCUUU CCA
172	UUGGAA AGAGCC AGAGAG UAG	390	CUCUGGC UCUUUCC AA	608	CUACUC UCUGGC UCUUUC CAA
173	UUUGGA AAGAGC CAGAGA GUA	391	UCUGGCU CUUUCCA AA	609	UACUCU CUGGCU CUUUCC AAA
174	UUUUGG AAAGAG CCAGAG AGU	392	CUGGCUC UUUCCAA AA	610	ACUCUC UGGCUC UUUCCA AAC
175	UGUUUG GAAAGA GCCAGA GAG	393	UGGCUCU UUCCAAA CA	611	CUCUCU GGCUCU UUCCAA ACU
176	UAGUUU GGAAAG AGCCAG AGA	394	GGCUCUU UCCAAAC UA	612	UCUCUG GCUCUU UCCAAA CUA
177	UAGGCC AGGUUG GAGCCA UUC	395	GCUCCAA CCUGGCC UA	613	GAAUGG CUCCAA CCUGGC CUU
178	UGAAGG CCAGGU UGGAGC CAU	396	UCCAACC UGGCCUU CA	614	AUGGCU CCAACC UGGCCU UCA
179	UACAUG AAGGCC AGGUUG GAG	397	ACCUGGC CUUCAUG UA	615	CUCCAA CCUGGC CUUCAU GUU
180	UAACAU GAAGGC CAGGUU GGA	398	CCUGGCC UUCAUGU UA	616	UCCAAC CUGGCC UUCAUG UUC

[0318]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
181	UGAACA UGAAGG CCAGGU UGG	399	CUGGCCU UCAUGUU CA	617	CCAACC UGGCCU UCAUGU UCC
182	UGGAAC AUGAAG GCCAGG UUG	400	UGGCCUU CAUGUUC CA	618	CAACCU GGCCUU CAUGUU CCG
183	UGCGGA ACAUGA AGGCCA GGU	401	GCCUUCA UGUCCG CA	619	ACCUUG CCUUCA UGUCC GCC
184	UGCAGG CGGAAC AUGAAG GCC	402	UCAUGUU CCGCCUG CA	620	GGCCUU CAUGUU CCGCCU GCC
185	UGGCAG GCGGAA CAUGAA GGC	403	CAUGUUC CGCCUGC CA	621	GCCUUC AUGUUC CGCCUG CCG
186	UGAAGG ACUGGU AGAGCA GUG	404	CUCUACC AGUCCUU CA	622	CACUGC UCUACC AGUCCU UCG
187	UCGAAG GACUGG UAGAGC AGU	405	UCUACCA GUCCUUC GA	623	ACUGCU CUACCA GUCCUU CGU
188	UACGAA GGACUG GUAGAG CAG	406	CUACCAG UCCUUCG UA	624	CUGCUC UACCAG UCCUUC GUG
189	UCACGA AGGACU GGUAGA GCA	407	UACCAGU CCUUCGU GA	625	UGCUCU ACCAGU CCUUCG UGA
190	UUCACG AAGGAC UGGUAG	408	ACCAGUC CUUCGUG AA	626	GCUCUA CCAGUC CUUCGU

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	AGC				GAA
191	UUUCAC GAAGGA CUGGUA GAG	409	CCAGUCC UUCGUGA AA	627	CUCUAC CAGUCC UUCGUG AAG
192	UCUUCA CGAAGG ACUGGU AGA	410	CAGUCCU UCGUGAA GA	628	UCUACC AGUCCU UCGUGA AGG
193	UCCUUC ACGAAG GACUGG UAG	411	AGUCCUU CGUGAAG GA	629	CUACCA GUCCUU CGUGAA GGA
194	UAUGUA GUCCUU CACGAA GGA	412	CGUGAAG GACUACA UA	630	UCCUUC GUGAAG GACUAC AUG
195	UCAUGU AGUCCU UCACGA AGG	413	GUGAAG GACUACA UGA	631	CCUUCG UGAAGG ACUACA UGA
196	UUCAUG UAGUCC UUCACG AAG	414	UGAAGG ACUACAU GAA	632	CUUCGU GAAGGA CUACAU GAU
197	UAUCAU GUAGUC CUUCAC GAA	415	GAAGGAC UACAUGA UA	633	UUCGUG AAGGAC UACAUG AUC
198	UGAUCA UGUAGU CCUUCA CGA	416	AAGGACU ACAUGAU CA	634	UCGUGA AGGACU ACAUGA UCA
199	UUGAUC AUGUAG UCCUUC ACG	417	AGGACUA CAUGAUC AA	635	CGUGAA GGACUA CAUGAU CAC
200	UGUGAU CAUGUA	418	GGACUAC AUGAUCA	636	GUGAAG GACUAC

[0319]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GUCCUU CAC		CA		AUGAUC ACC
201	UGGUGA UCAUGU AGUCCU UCA	419	GACUACA UGAUCAC CA	637	UGAAGG ACUACA UGAUCA CCA
202	UUGGUG AUCAUG UAGUCC UUC	420	ACUACAU GAUCACC AA	638	GAAGGA CUACAU GAUCAC CAU
203	UGAUGG UGAUCA UGUAGU CCU	421	UACAUGA UCACCAU CA	639	AGGACU ACAUGA UCACCA UCA
204	UUGAUG GUGAUC AUGUAG UCC	422	ACAUGAU CACCAUC AA	640	GGACUA CAUGAU CACCAU CAC
205	UGUGAU GGUGAU CAUGUA GUC	423	CAUGAUC ACCAUCA CA	641	GACUAC AUGAUC ACCAUC ACC
206	UGGUGA UGGUGA UCAUGU AGU	424	AUGAUCA CCAUCAC CA	642	ACUACA UGAUCA CCAUCA CCC
207	UGCGGA UCCACA GGUCGC CCU	425	GACCUGU GGAUCCG CA	643	AGGGCG ACCUGU GGAUCC GCA
208	UGGAAG AGGCGG CCGUAC GUG	426	ACGGCCG CCUCUUC CA	644	CACGUA CGGCCG CCUCUU CCA
209	UCUGGA AGAGGC GGCCGU ACG	427	GGCCGCC UCUCCA GA	645	CGUACG GCCGCC UCUUCC AGA
210	UUCUGG	428	GCCGCCU	646	GUACGG

[0320]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	KCNT1 mRNA 靶 向序列
	AAGAGG CGGCCG UAC		CUUCCAG AA		CCGCCUC UUCCAG AA
211	UUUCUG GAAGAG GCGGCC GUA	429	CCGCCUC UUCCAGA AA	647	UACGGC CGCCUC UUCCAG AAG
212	UGGCGC UGGAGG AGCAGA GCU	430	UGCUCU CCAGCGC CA	648	AGCUCU GCUCCU CCAGCG CCG
213	UCUCGG CGCUGG AGGAGC AGA	431	UCCUCCA GCGCCGA GA	649	UCUGCU CCUCCA GCGCCG AGA
214	UAUCUC GGCGCU GGAGGA GCA	432	CUCCAGC GCCGAGA UA	650	UGCUCU UCCAGC GCCGAG AUC
215	UGAUCU CGGCGC UGGAGG AGC	433	UCCAGCG CCGAGAU CA	651	GCUCCU CCAGCG CCGAGA UCC
216	UGGAUC UCGGCG CUGGAG GAG	434	CCAGCGC CGAGAUC CA	652	CUCCUCC AGCGCC GAGAUC CC
217	UGGGAU CUCGGC GCUGGA GGA	435	CAGCGCC GAGAUCC CA	653	UCCUCC AGCGCC GAGAUC CCC
218	UUGGGA GCUGCU GGCCAC GUG	436	GGCCAGC AGCUCCC AA	654	CACGUG GCCAGC AGCUCC CAG
655	UGGCGG UGUCCA GGAGCG CGC	845	CUCCUGG ACACCGC CA	1035	GCGCGC UCCUGG ACACCG CCG

[0321]

[0322]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
656	UGCAAG GGCAGC ACCUCG GAG	846	AGGUGCU GCCCUUG CA	1036	CUCCGA GGUGCU GCCCUU GCC
657	UGUCGU UCUGGA AGGACG GGU	847	UCCUUC AGAACGA CA	1037	ACCCGU CCUUC AGAACG ACG
658	UGAACU CCACCU GGACCC UGU	848	GUCCAGG UGGAGU UCA	1038	ACAGGG UCCAGG UGGAGU UCU
659	UAGAAC UCCACC UGGACC CUG	849	UCCAGGU GGAGUUC UA	1039	CAGGGU CCAGGU GGAGUU CUA
660	UUAGAA CUCCACC UGGACC CU	850	CCAGGUG GAGUUCU AA	1040	AGGGUC CAGGUG GAGUUC UAC
661	UUGAGC CGCUCC UUGAAG GUG	851	UCAAGGA GCGGCUC AA	1041	CACCUU CAAGGA GCGGCU CAA
662	UCAGCC GGAUCC UCAGGC UCG	852	CUGAGGA UCCGGCU GA	1042	CGAGCC UGAGGA UCCGGC UGU
663	UACAGC CGGAUC CUCAGG CUC	853	UGAGGA UCCGGCU GUA	1043	GAGCCU GAGGAU CCGGCU GUU
664	UAACAG CCGGAU CCUCAG GCU	854	GAGGAUC CGGCUGU UA	1044	AGCCUG AGGAUC CGGCUG UUC
665	UGAACA GCCGGA UCCUCA	855	AGGAUCC GGCUGUU CA	1045	GCCUGA GGAUCC GGCUGU

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GGC				UCA
666	UCAGGG AGAAGU UGAACA GCC	856	UUCAACU UCUCCCU GA	1046	GGCUGU UCAACU UCUCCC UGA
667	UUUCAG GGAGAA GUUGAA CAG	857	CAACUUC UCCCUGA AA	1047	CUGUUC AACUUC UCCCUG AAG
668	UCUUCA GGGAGA AGUUGA ACA	858	AACUUCU CCCUGAA GA	1048	UGUUCA ACUUCU CCCUGA AGC
669	UGUAGU UCUGCU UUGGGC AGC	859	CCAAAGC AGAACUA CA	1049	GCUGCC CAAAGC AGAACU ACU
670	UGAGUA GUUCUG CUUUGG GCA	860	AAAGCAG AACUACU CA	1050	UGCCCA AAGCAG AACUAC UCC
671	UACGAG UCAUUG AAGGAG UAG	861	CCUUCAA UGACUCG UA	1051	CUACUC CUUCAA UGACUC GUC
672	UGAGGA CGAGUC AUUGAA GGA	862	CAAUGAC UCGUCCU CA	1052	UCCUUC AAUGAC UCGUCC UCC
673	UCCAGU UGAUCU CGGAGG ACG	863	UCCGAGA UCAACUG GA	1053	CGUCCU CCGAGA UCAACU GGG
674	UCCCAG UUGAUC UCGGAG GAC	864	CCGAGAU CAACUGG GA	1054	GUCCUC CGAGAU CAACUG GGC
675	UGAGCC	865	AGAUCAA	1055	CUCCGA

[0323]

[0324]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CAGUUG AUCUCG GAG		CUGGGCU CA		GAUCA CUGGGC UCC
676	UGUCAU CUUUCU CUCCACC CA	866	GGAGAG AAAGAU GACA	1056	UGGGUG GAGAGA AAGAUG ACA
677	UCAGUG UCAUCU UUCUCU CCA	867	AGAAAG AUGACAC UGA	1057	UGGAGA GAAAGA UGACAC UGU
678	UCACAG UGUCAU CUUUCU CUC	868	AAAGAU GACACUG UGA	1058	GAGAGA AAGAUG ACACUG UGG
679	UGCCAC GAUGAC CUGGAU CGC	869	CCAGGUC AUCGUGG CA	1059	GCGAUC CAGGUC AUCGUG GCC
680	UGAAGC UUAUUA UGGCCA CGA	870	GCCAUAA UAAGCUU CA	1060	UCGUGG CCAUAA UAAGCU UCC
681	UGGAAG CUUAUU AUGGCC ACG	871	CCAUAAU AAGCUUC CA	1061	CGUGGC CAUAAU AAGCUU CCU
682	UCAGGA AGCUUA UUAUGG CCA	872	AUAAUA AGCUUCC UGA	1062	UGGCCA UAAUAA GCUUCC UGG
683	UGAGGU AGAUGA GAAGCA UCG	873	CUUCUCA UCUACCU CA	1063	CGAUGC UUCUCA UCUACC UCA
684	UUGCUC CCAGAU GUUGCC UUU	874	CAACAUC UGGGAGC AA	1064	AAAGGC ACAUC UGGGAG CAG

[0325]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
685	UCUGCU CCCAGA UGUUGC CUU	875	AACAUCU GGGAGCA GA	1065	AAGGCA ACAUCU GGGAGC AGA
686	UGGACG AAGGAC ACGCGG AAG	876	GCGUGUC CUUCGUC CA	1066	CUUCCG CGUGUC CUUCGU CCU
687	UCAGGA CGAAGG ACACGC GGA	877	GUGUCCU UCGUCCU GA	1067	UCCGCG UGUCCU UCGUCC UGG
688	UUGAUC AUCUCC AGGACG AAG	878	UCCUGGA GAUGAUC AA	1068	CUUCGU CCUGGA GAUGAU CAA
689	UUUGAU CAUCUC CAGGAC GAA	879	CCUGGAG AUGAUCA AA	1069	UUCGUC CUGGAG AUGAUC AAC
690	UGUUGA UCAUCU CCAGGA CGA	880	CUGGAGA UGAUCAA CA	1070	UCGUCC UGGAGA UGAUCA ACA
691	UUGUUG AUCAUC UCCAGG ACG	881	UGGAGA UGAUCAA CAA	1071	CGUCCU GGAGAU GAUCAA CAC
692	UAGUGU UGAUCA UCUCCA GGA	882	GAGAUG AUCAACA CUA	1072	UCCUGG AGAUGA UCAACA CUC
693	UGAGUG UUGAUC AUCUCC AGG	883	AGAUGA UCAACAC UCA	1073	CCUGGA GAUGAU CAACAC UCU
694	UAGAGU GUUGAU CAUCUC	884	GAUGAUC AACACUC UA	1074	CUGGAG AUGAUC AACACU

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CAG				CUG
695	UCAGAG UGUUGA UCAUCU CCA	885	AUGAUCA ACACUCU GA	1075	UGGAGA UGAUCA ACACUC UGC
696	UAUGAU GAAGGG CAGAGU GUU	886	UCUGCCC UUCAUCA UA	1076	AACACU CUGCCC UUCAUC AUC
697	UGAUGA UGAAGG GCAGAG UGU	887	CUGCCCU UCAUCAU CA	1077	ACACUC UGCCCU UCAUCA UCA
698	UUCGUG AUGAUG AAGGGC AGA	888	CCUUCAU CAUCACG AA	1078	UCUGCC CUUCAU CAUCAC GAU
699	UAUCGU GAUGAU GAAGGG CAG	889	CUUCAUC AUCACGA UA	1079	CUGCCC UUCAUC AUCACG AUC
700	UGAUCG UGAUGA UGAAGG GCA	890	UUCAUCA UCACGAU CA	1080	UGCCCU UCAUCA UCACGA UCU
701	UAGAAG AUCGUG AUGAUG AAG	891	UCAUCAC GAUCUUC UA	1081	CUUCAU CAUCAC GAUCUU CUG
702	UCAGGU UCCGCA GCGGCG GCC	892	CCGCUGC GGAACCU GA	1082	GGCCGC CGCUGC GGAACC UGU
703	UACAGG UUCCGC AGCGGC GGC	893	CGCUGCG GAACCUG UA	1083	GCCGCC GCUGCG GAACCU GUU
704	UAACAG	894	GCUGCGG	1084	CCGCCGC

[0326]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GUUCCG CAGCGG CGG		AACCUUGU UA		UGCGGA ACCUUGU UC
705	UGAACA GGUUCC GCAGCG GCG	895	CUGCGGA ACCUUGU CA	1085	CGCCGC UGCGGA ACCUUGU UCA
706	UCAGCG CGUGCU UGGCCA GCC	896	GCCAAGC ACGCGCU GA	1086	GGCUGG CCAAGC ACGCGC UGG
707	UCCAGC GCGUGC UUGGCC AGC	897	CCAAGCA CGCGCUG GA	1087	GCUGGC CAAGCA CGCGCU GGA
708	UUC CAG CGCGUG CUUGGC CAG	898	CAAGCAC GCGCUGG AA	1088	CUGGCC AAGCAC GCGCUG GAA
709	UAAUCA UGUUUU CCAGCG CGU	899	CUGGAAA ACAUGAU UA	1089	ACGCGC UGGAAA ACAUGA UUA
710	UGUUGA ACAUGG CUGACU GUG	900	UCAGCCA UGUUCAA CA	1090	CACAGU CAGCCA UGUUCA ACC
711	UGGUUG AACAUG GCUGAC UGU	901	CAGCCAU GUUCAAC CA	1091	ACAGUC AGCCAU GUUCA CCA
712	UUGGUU GAACAU GGCUGA CUG	902	AGCCAUG UUCAACC AA	1092	CAGUCA GCCAUG UUCAAC CAG
713	UCUGGU UGAACA UGGCUG ACU	903	GCCAUGU UCAACCA GA	1093	AGUCAG CCAUGU UCAACC AGG

[0327]

[0328]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
714	UACCUG GUUGAA CAUGGC UGA	904	CAUGUUC AACCAGG UA	1094	UCAGCC AUGUUC AACCAG GUC
715	UGACCU GGUUGA ACAUGG CUG	905	AUGUUCA ACCAGGU CA	1095	CAGCCA UGUUCA ACCAGG UCC
716	UGGACC UGGUUG ACAUG GCU	906	UGUUCAA CCAGGUC CA	1096	AGCCAU GUUCAA CCAGGU CCU
717	UAGGAC CUGGUU GAACAU GGC	907	GUUCAAC CAGGUCC UA	1097	GCCAUG UUCAAC CAGGUC CUC
718	UAGGAU GAGGAC CUGGUU GAA	908	CCAGGUC CUCAUCC UA	1098	UUCAAC CAGGUC CUCAUC CUC
719	UCAGGG UGCAGA AGAGGA UGA	909	CUCUUCU GCACCCU GA	1099	UCAUCC UCUUCU GCACCC UGC
720	UCAGCA GGGUGC AGAAGA GGA	910	UUCUGCA CCCUGCU GA	1100	UCCUCU UCUGCA CCCUGC UGU
721	UAGAAG GAGGUC AGGAGG GAC	911	UCCUGAC CUCCUUC UA	1101	GUCCCU CCUGAC CUCCUU CUA
722	UGUAGA AGGAGG UCAGGA GGG	912	CUGACCU CCUUCUA CA	1102	CCCUCCU GACCUC CUUCUA CU
723	UAAGUA GAAGGA GGUCAG	913	GACCUCC UUCUACU UA	1103	CUCCUG ACCUCC UUCUAC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GAG				UUC
724	UCAGAA GUAGAA GGAGGU CAG	914	CUCCUUC UACUUCU GA	1104	CUGACC UCCUUC UACUUC UGC
725	UGACGA UGCAGA AGUAGA AGG	915	UACUUCU GCAUCGU CA	1105	CCUUCU ACUUCU GCAUCG UCA
726	UUGACG AUGCAG AAGUAG AAG	916	ACUUCUG CAUCGUC AA	1106	CUUCUA CUUCUG CAUCGU CAC
727	UGAUCA UGAUGA CCACCA GCA	917	GUGGUCA UCAUGAU CA	1107	UGCUGG UGGUCA UCAUGA UCU
728	UGGAAG UCCAUG AGAAGG UCG	918	UUCUCAU GGACUUC CA	1108	CGACCU UCUCAU GGACUU CCU
729	UAGGAA GUCCAU GAGAAG GUC	919	UCUCAUG GACUUC UA	1109	GACCUU CUCAUG GACUUC CUG
730	UGUUCA GGAAGU CCAUGA GAA	920	AUGGACU UCCUGAA CA	1110	UUCUCA UGGACU UCCUGA ACG
731	UCGUUC AGGAAG UCCAUG AGA	921	UGGACUU CCUGAAC GA	1111	UCUCAU GGACUU CCUGAA CGA
732	UUCGUU CAGGAA GUCCAU GAG	922	GGACUUC CUGAACG AA	1112	CUCAUG GACUUC CUGAAC GAG
733	UGUAAU	923	CUCCAGG	1113	CCCGGC

[0329]

[0330]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	AGUCCU GGAGCC GGG		ACUAUUA CA		UCCAGG ACUAUU ACG
734	UAUGAC CACGUA AUAGUC CUG	924	CUAUUAC GUGGUCA UA	1114	CAGGAC UAUUAC GUGGUC AUC
735	UUUCAG GUUUGA GGAUCU GGA	925	AUCCUCA AACCUGA AA	1115	UCCAGA UCCUCA AACCUG AAA
736	UAACUU GUUUUC AGGUUU GAG	926	ACCUGAA ACAAGU UA	1116	CUCAAA CCUGAA ACAAG UUU
737	UAAACU UGUUUU CAGGUU UGA	927	CCUGAAA ACAAGUU UA	1117	UCAAAC CUGAAA ACAAGU UUC
738	UACACC ACGUGG UCAGCA AAC	928	CUGACCA CGUGGUG UA	1118	GUUUGC UGACCA CGUGGU GUG
739	UCAGAU GCAGUU CAGCGC CAG	929	GCUGAAC UGCAUCU GA	1119	CUGGCG CUGAAC UGCAUC UGC
740	UGAACU UGCUGU CACCCA UGC	930	GGUGACA GCAAGUU CA	1120	GCAUGG GUGACA GCAAGU UCU
741	UAGAAC UUGCUG UCACCC AUG	931	GUGACAG CAAGUUC UA	1121	CAUGGG UGACAG CAAGUU CUU
742	UAGCCC GAUGAG GCACAC GCC	932	GUGCCUC AUCGGGC UA	1122	GGCGUG UGCCUC AUCGGG CUG

[0331]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
743	UCUUCA GCCCCGA UGAGGC ACA	933	CUCAUCG GGCUGAA GA	1123	UGUGCC UCAUCG GGCUGA AGC
744	UCCGCU UCAGCC CGAUGA GGC	934	AUCGGGC UGAAGCG GA	1124	GCCUCA UCGGGC UGAAGC GGG
745	UGAUGU AGAAGC AGGUGU CAG	935	ACCUGCU UCUACAU CA	1125	CUGACA CCUGCU UCUACA UCA
746	UUGGUG AUGUUG AUGUAG AAG	936	ACAUCA CAUCACC AA	1126	CUUCUA CAUCA CAUCAC CAA
747	UCAGCC CUUGUC CAGCCG CAG	937	GCUGGAC AAGGGCU GA	1127	CUGC GG CUGGAC AAGGGC UGC
748	UUUGUU CUUGAA CCCGUA GGC	938	CGGGUUC AAGAACA AA	1128	GCCUAC GGGUUC AAGAAC AAG
749	UCUUGU UCUUGA ACCCGU AGG	939	GGGUUCA AGAACAA GA	1129	CCUACG GGUUCA AGAACA AGC
750	UGAUCA GCUUGU UCUUGA ACC	940	AAGAACA AGCUGAU CA	1130	GGUUCA AGAACA AGCUGA UCA
751	UUGAUC AGCUUG UUCUUG AAC	941	AGAACAA GCUGAUC AA	1131	GUUCA GAACAA GCUGAU CAU
752	UAUGAU CAGCUU GUUCUU	942	GAACAAG CUGAUCA UA	1132	UUCAAG AACAAG CUGAUC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	GAA				AUC
753	UGGAUC UGUAGU AGGCC GCA	943	GCCUACU ACAGAUC CA	1133	UGC GGG CCUACU ACAGAU CCC
754	UGGGAU CUGUAG UAGGCC CGC	944	CCUACUA CAGAUCC CA	1134	GCGGGC CUACUA CAGAUCC CCG
755	UGAAGU GGUGGU CGGGCU UGU	945	CCCGACC ACCACUU CA	1135	ACAAGC CCGACC ACCACU UCC
756	UGGAAG UGGUGG UCGGGC UUG	946	CCGACCA CCACUUC CA	1136	CAAGCC CGACCA CCACUU CCU
757	UAGGAA GUGGUG GUCGGG CUU	947	CGACCAC CACUUC UA	1137	AAGCCC GACCAC CACUUC CUG
758	UCAGGA AGUGGU GGUCGG GCU	948	GACCACC ACUUCCU GA	1138	AGCCCG ACCACC ACUUCC UGG
759	UUUCCA GGAAGU GGUGGU CGG	949	CACCACU UCCUGGA AA	1139	CCGACC ACCACU UCCUGG AAG
760	UCUUC AGGAAG UGGUGG UCG	950	ACCACUU CCUGGAA GA	1140	CGACCA CCACUU CCUGGA AGC
761	UGCUUC CAGGAA GUGGUG GUC	951	CCACUUC CUGGAAG CA	1141	GACCAC CACUUC CUGGAA GCC
762	UCUCUC	952	GGUGGAC	1142	GUGGUG

[0332]

[0333]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CUUGUC CACCACC AC		AAGGAG AGA		GUGGAC AAGGAG AGC
763	UUAGUU UGGAAA GAGCCA GAG	953	GCUCUUU CCAAACU AA	1143	CUCUGG CUCUUU CCAAAC UAG
764	UCUAGU UUGGAA AGAGCC AGA	954	CUCUUUC CAAACUA GA	1144	UCUGGC UCUUUC CAAACU AGA
765	UUCUAG UUUGGA AAGAGC CAG	955	UCUUUCC AAACUAG AA	1145	CUGGCU CUUUC AAACUA GAA
766	UUUCUA GUUUGG AAAGAG CCA	956	CUUUGCA AACUAGA AA	1146	UGGCUC UUUGCA AACUAG AAA
767	UUUUCU AGUUUG GAAAGA GCC	957	UUUGCAA ACUAGAA AA	1147	GGCUCU UUUGCA ACUAGA AAA
768	UCUCUU UUCUAG UUUGGA AAG	958	CAAACUA GAAAAG AGA	1148	CUUUGC AAACUA GAAAAG AGG
769	UCCCUC UUUUCU AGUUUG GAA	959	AACUAGA AAAGAG GGA	1149	UUUGCA ACUAGA AAAGAG GGA
770	UCCCCU CUUUUC UAGUUU GGA	960	ACUAGAA AAGAGG GAA	1150	UCCAAA CUAGAA AAGAGG GAG
771	UGGCGG ACAUG AAGGCC AGG	961	CCUUCAU GUUCCGC CA	1151	CCUGGC CUUCAU GUUCCG CCU

[0334]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
772	UCGGCA GGCGGA ACAUGA AGG	962	AUGUUC GCCUGCC GA	1152	CCUUCA UGUUC GCCUGC CGU
773	UACGGC AGGCGG AAC AUG AAG	963	UGUUC CCUGCC UA	1153	CUUCA GUUC CCUGCC GUU
774	UAACGG CAGGCG GAACAU GAA	964	GUUC CUGCC UA	1154	UUCA UUC CUGCC UUC
775	UGAACG GCAGG GGAACA UGA	965	UUC UGCC CA	1155	UCAUG UCC UGCC UCG
776	UCUGAU GCUGAA GACGCG GCC	966	CGUC AGCAU GA	1156	GGCC GUC AGCAU AGC
777	UGACUG GUAGAG CAGUGU GUC	967	ACUG UACCAG CA	1157	GACAC CUGC UACCAG UCC
778	UGGACU GGUAGA GCAGUG UGU	968	CUGC ACCAG CA	1158	ACAC UGC ACCAG CCU
779	UUCU CACGAA GGACUG GUA	969	GUCC GUGAAG GAA	1159	UACCAG UCCU GUGAAG GAC
780	UGUCCU UCACGA AGGACU GGU	970	UCCU UGAAGG ACA	1160	ACCAGU CCUUCG UGAAGG ACU
781	UUAGUC CUUCAC GAAGGA	971	CUUCGUG AAGGACU AA	1161	CAGUCC UUCGUG AAGGAC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CUG				UAC
782	UGUAGU CCUUCA CGAAGG ACU	972	UUCGUGA AGGACUA CA	1162	AGUCCU UCGUGA AGGACU ACA
783	UUGUAG UCCUUC ACGAAG GAC	973	UCGUGAA GGACUAC AA	1163	GUCCUU CGUGAA GGACUA CAU
784	UGGGUG AUGGUG AUCAUG UAG	974	UGAUCAC CAUCACC CA	1164	CUACAU GAUCAC CAUCAC CCG
785	UCGGGU GAUGGU GAUCAU GUA	975	GAUCACC AUCACCC GA	1165	UACAUG AUCACC AUCACC CGG
786	UCCGGG UGAUGG UGAUCA UGU	976	AUCACCA UCACCCG GA	1166	ACAUGA UCACCA UCACCC GGC
787	UGCCGG GUGAUG GUGAUC AUG	977	UCACCAU CACCCGG CA	1167	CAUGAU CACCAU CACCCG GCU
788	UCGGUG AUUUUC AUGGCA CAG	978	CCAUGAA AAUCACC GA	1168	CUGUGC CAUGAA AAUCAC CGA
789	UUUCAC CGAGAU CUGGGA CUG	979	CCAGAUC UCGGUGA AA	1169	CAGUCC CAGAUC UCGGUG AAC
790	UGAGAG CUCCUG GCGCUC AGA	980	GCGCCAG GAGCUCU CA	1170	UCUGAG CGCCAG GAGCUC UCC
791	UGCGGU	981	CUGGUGA	1171	CCGAGC

[0335]

[0336]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UCUUCA CCAGCU CGG		AGAACCG CA		UGGUGA AGAACC GCA
792	UGGUCG UUCAUC UCGUCG UAG	982	ACGAGAU GAACGAC CA	1172	CUACGA CGAGAU GAACGA CCA
793	UCCACG UCCUUC CUGAGG ACC	983	UCAGGAA GGACGUG GA	1173	GGUCCU CAGGAA GGACGU GGA
794	UGUCCU CACACG CUCCUCC AC	984	GGAGCGU GUGAGG ACA	1174	GUGGAG GAGCGU GUGAGG ACA
795	UCCAGG GUGGAG UCCCAG GAG	985	GGGACUC CACCCUG GA	1175	CUCCUG GGACUC CACCCU GGA
796	UUCAG GGUGGA GUCCCA GGA	986	GGACUCC ACCCUGG AA	1176	UCCUGG GACUCC ACCCUG GAA
797	UUUCCA GGGUGG AGUCCC AGG	987	GACUCCA CCUGGA AA	1177	CCUGGG ACUCCA CCUGG AAA
798	UUUCC AGGGUG GAGUCC CAG	988	ACUCCAC CCUGGAA AA	1178	CUGGGA CUCCACC CUGGAA AG
799	UACUCU CCUCAC UAGCCU GCA	989	GCUAGUG AGGAGA GUA	1179	UGCAGG CUAGUG AGGAGA GUU
800	UAAACU CUCCUC ACUAGC CUG	990	UAGUGA GGAGAG UUUA	1180	CAGGCU AGUGAG GAGAGU UUU

[0337]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
801	UGGACU GCAUCG ACGUGU AAA	991	ACGUCGA UGCAGUC CA	1181	UUUACA CGUCGA UGCAGU CCA
802	UACAUC UGUGUA AAGAGA AGU	992	UCUUUAC ACAGAUG UA	1182	ACUUCU CUUUAC ACAGAU GUA
803	UGUACA UCUGUG UAAAGA GAA	993	UUUACAC AGAUGU ACA	1183	UUCUCU UUACAC AGAUGU ACC
804	UGCCCU GGUCAC GAGUUG CGG	994	ACUCGUG ACCAGGG CA	1184	CCGCAA CUCGUG ACCAGG GCU
805	UCAGAA AGGUCC UCGGCG ACA	995	CCGAGGA CCUUUCU GA	1185	UGUCGC CGAGGA CCUUUC UGA
806	UUGGCG UCUUCU GCUUCC UUC	996	AAGCAGA AGACGCC AA	1186	GAAGGA AGCAGA AGACGC CAU
807	UGAAAU GGCGUC UUCUGC UUC	997	AGAAGAC GCCAUUU CA	1187	GAAGCA GAAGAC GCCAUU UCC
808	UGGAAA UGGCGU CUUCUG CUU	998	GAAGACG CCAUUUC CA	1188	AAGCAG AAGACG CCAUUU CCU
809	UAGAGG AAAUGG CGUCU CUG	999	GACGCCA UUUCCUC UA	1189	CAGAAG ACGCCA UUUCCU CUA
810	UUAGAG GAAAUG GCGUCU	1000	ACGCCAU UUCCUCU AA	1190	AGAAGA CGCCAU UUCCUC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UCU				UAC
811	UAAGUA GAGGAA AUGGCG UCU	1001	CCAUUUC CUCUACU UA	1191	AGACGC CAUUUC CUCUAC UUC
812	UUGAAG UAGAGG AAAUGG CGU	1002	AUUUCCU CUACUUC AA	1192	ACGCCA UUUCCU CUACUU CAC
813	UGUGUG AAGUAG AGGAAA UGG	1003	UCCUCUA CUUCACA CA	1193	CCAUUU CCUCUA CUUCAC ACU
814	UUCAGU GUGAAG UAGAGG AAA	1004	UCUACUU CACACUG AA	1194	UUUCCU CUACUU CACACU GAA
815	UUUCAG UGUGAA GUAGAG GAA	1005	CUACUUC ACACUGA AA	1195	UUCCUC UACUUC ACACUG AAC
816	UGAAAU GCACCA UCUUCC GCC	1006	AAGAUG GUGCAUU UCA	1196	GGCGGA AGAUGG UGCAUU UCC
817	UGGAAA UGCACC AUCUUC CGC	1007	AGAUGG UGCAUUU CCA	1197	GCGGAA GAUGGU GCAUUU CCA
818	UGGUCC AUGGAA AUGCAC CAU	1008	GCAUUUC CAUGGAC CA	1198	AUGGUG CAUUUC CAUGGA CCA
819	UUAAGU GUAAA UGGUCC AUG	1009	ACCAUUU UACACUU AA	1199	CAUGGA CCAUUU UACACU UAC
820	UGUAAG	1010	CCAUUUU	1200	AUGGAC

[0338]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	UGUAAA AUGGUC CAU		ACACUUA CA		CAUUUU ACACUU ACC
821	UGGUAA GUGUAA AAUGGU CCA	1011	CAUUUUA CACUAC CA	1201	UGGACC AUUUUA CACUUA CCU
822	UAGGUA AGUGUA AAAUGG UCC	1012	AUUUUAC ACUUACC UA	1202	GGACCA UUUUAC ACUUAC CUU
823	UAAAGG UAAGUG UAAAAU GGU	1013	UUUACAC UUACCUU UA	1203	ACCAUU UUACAC UUACCU UUU
824	UAAAAG GUAAGU GUAAAA UGG	1014	UUACACU UACCUUU UA	1204	CCAUUU UACACU UACCUU UUA
825	UUAAAA GGUAAG UGUAAA AUG	1015	UACACUU ACCUUUU AA	1205	CAUUUU ACACUU ACCUUU UAA
826	UUUAAA AGGUAA GUGUAA AAU	1016	ACACUUA CCUUUUA AA	1206	AUUUUA CACUUA CCUUUU AAA
827	UUUUAA AAGGUA AGUGUA AAA	1017	CACUUAC CUUUUAA AA	1207	UUUUAC ACUUAC CUUUUA AAG
828	UUGCUU UAAAAG GUAAGU GUA	1018	UUACCUU UAAAAGC AA	1208	UACACU UACCUU UAAAAG CAA
829	UUUGCU UUAAAA GGUAAG UGU	1019	UACCUUU UAAAGCA AA	1209	ACACUU ACCUUU UAAAGC AAA

[0339]

[0340]

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
830	UUUUGC UUUAAA AGGUAA GUG	1020	ACCUUUU AAAGCAA AA	1210	CACUUA CCUUUU AAAGCA AAG
831	UCUUUG CUUUAA AAGGUA AGU	1021	CCUUUUA AAGCAAA GA	1211	ACUUAC CUUUUA AAGCAA AGC
832	UGCUUU GCUUUA AAAGGU AAG	1022	CUUUUAA AGCAAAG CA	1212	CUUACC UUUUAA AGCAAA GCC
833	UAGGCU UUGCUU UAAAAG GUA	1023	UUUAAA GCAAAGC CUA	1213	UACCUU UUAAG CAAAGC CUC
834	UAUGAG GCUUUG CUUUAA AAG	1024	AAAGCAA AGCCUCA UA	1214	CUUUUA AAGCAA AGCCUC AUU
835	UAAAAU GAGGCU UUGCUU UAA	1025	GCAAAGC CUCAUUU UA	1215	UUAAG CAAAGC CUCAUU UUC
836	UGGGAU CUCGCC UUGCUG AGA	1026	GCAAGGC GAGAUCC CA	1216	UCUCAG CAAGGC GAGAUC CCG
837	UAGCAA AGGACG CAGGGU GGC	1027	CCUGCGU CCUUUGC UA	1217	GCCACCC UGCGUC CUUUGC UG
838	UAAGGA ACCAGC AGCAAA GGA	1028	UGCUGCU GGUCCU UA	1218	UCCUUU GCUGCU GGUCC UUA
839	UCAGUA AGGAAC CAGCAG	1029	GCUGGUU CCUUACU GA	1219	UUGCUG CUGGUU CCUUAC

反义 SEQ ID NO:	反义链	有义 SEQ ID NO:	有义链	靶向区 域 SEQ ID NO:	<i>KCNT1</i> mRNA 靶 向序列
	CAA				UGG
840	UGCUGA CCGUAC AAACCA GUA	1030	GUUUGU ACGGUCA GCA	1220	UACUGG UUUGUA CGGUCA GCG
841	UAUAGA AGUUUC CAGCGC UGA	1031	GCUGGAA ACUUCUA UA	1221	UCAGCG CUGGAA ACUUCU AUU
842	UAAUAG AAGUUU CCAGCG CUG	1032	CUGGAAA CUUCUAU UA	1222	CAGCGC UGGAAA CUUCUA UUA
843	UUUAAA UAGAAG UUUCCA GCG	1033	GAAACUU CUAUAAA AA	1223	CGCUGG AAACUU CUAUUA AAU
844	UAGAAU GCAUCC AUUAAA UAG	1034	AAAUGG AUGCAUU CUA	1224	CUAUUA AAUGGA UGCAUU CUG

[0342] siRNA结构

[0343] 本公开的siRNA分子可以是单链(ss)或双链(ds)寡核苷酸结构的形式。在一些实施方案中,siRNA分子可以是二分支、三分支或四分支的分子。此外,本公开的siRNA分子可含有一个或多个磷酸二酯核苷间键联和/或其类似物,诸如硫代磷酸酯核苷间键联。本公开的siRNA分子还可含有具有2'糖修饰的经化学修饰的核苷。

[0344] 最简单的siRNA由包含ss-或ds-结构的核糖核酸组成,所述结构由第一链(即,反义链)形成,并且在ds-siRNA的情况下还有第二链(即,有义链)。第一链包括与靶核酸至少部分互补的连续核苷酸链段。第二链也包括连续核苷酸链段,其中第二链段与靶核酸至少部分相同。第一链和所述第二链可以彼此杂交以形成双链结构。杂交通常通过沃森-克里克碱基配对发生。

[0345] 根据第一链和第二链的序列,杂交或碱基配对不一定是完全或完美的,这意味着第一链和第二链由于错配而不是100%碱基配对。双链体内也可能存在一个或多个错配,但不一定影响siRNA RNAi活性。

[0346] 第一链含有与靶核酸基本上互补的连续核苷酸链段。通常,根据干扰核糖核酸的作用模式,靶核酸序列是ss-RNA,优选mRNA。此类杂交最有可能通过沃森-克里克碱基配对

发生,但不一定限于此。第一链具有与靶核酸序列互补的连续核苷酸链段的程度可以介于80%和100%之间,例如80%、85%、90%、95%或100%互补。

[0347] 本文所述的siRNA分子可以采用对核碱基、磷酸骨架、核糖核心、5'-末端和3'-末端以及分支的修饰,其中siRNA的多条链可共价连接。

[0348] 小干扰RNA分子的长度

[0349] 在本公开的范围,本领域已知的和先前未知的任何长度都可以用于本发明。如本文所述,本公开的siRNA分子的反义链的可能长度为10至30个核苷酸(例如,10个核苷酸、11个核苷酸、12个核苷酸、13个核苷酸、14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸、25个核苷酸、26个核苷酸、27个核苷酸、28个核苷酸、29个核苷酸或30个核苷酸)、15至25个核苷酸(例如,15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸或25个核苷酸)或18至23个核苷酸(例如,18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸或23个核苷酸)。在一些实施方案中,反义链为20个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为21个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为22个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为23个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为24个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为25个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为26个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为27个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为28个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为29个核苷酸。在一些实施方案中,反义链为30个核苷酸。

[0350] 在一些实施方案中,本公开的siRNA分子的有义链为12至30个核苷酸(例如,12个核苷酸、13个核苷酸、14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸、23个核苷酸、24个核苷酸、25个核苷酸、26个核苷酸、27个核苷酸、28个核苷酸、29个核苷酸或30个核苷酸)或14至23个核苷酸(例如,14个核苷酸、15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸、20个核苷酸、21个核苷酸、22个核苷酸或23个核苷酸)。在一些实施方案中,有义链为15个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为16个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为17个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为18个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为19个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为20个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为21个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为22个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为23个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为24个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为25个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为26个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为27个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为28个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为29个核苷酸。在一些实施方案中,有义链为30个核苷酸。

[0351] 2'糖修饰

[0352] 本公开可包括ss-和ds-siRNA分子组合物,其包含至少一种(例如,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11种或更多种)具有2'糖修饰的核苷。可能的2'-修饰包括所有可能取向的OH;F;O-烷基、S-烷基或N-烷基;O-烯基、S-烯基或N-烯基;O-炔基、S-炔基或N-炔基;或O-烷基-O-烷基,其中烷基、烯基和炔基可以是经取代或未取代的C1至C10烷基或C2至C10烯基和炔基。在一些实施方案中,修饰包括2'-O-甲基(2'-O-Me)修饰。其他可能的糖取代基基团包括:C1至C10低级烷基、经取代的低级烷基、烯基、炔基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷

基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、杂环烷基、杂环烷基芳基、氨基烷基氨基、多烷基氨基、经取代的甲硅烷基、用于改善寡核苷酸的药代动力学性质的基团或用于改善寡核苷酸的药效学性质的基团,以及具有类似性质的其他取代基。在一些实施方案中,修饰包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O-CH₂CH₂OCH₃,也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)。在一些实施方案中,修饰包括2'-二甲基氨基氧基乙氧基,即O(CH₂)₂ON(CH₃)₂基团,也称为2'-DMAOE;和2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基(在本领域中也称为2'-O-二甲基氨基-乙氧基-乙基或2'-DMAEOE),即2'-O-CH₂OCH₂N(CH₃)₂。其他可能的糖取代基基团包括例如氨基丙氧基(-OCH₂CH₂CH₂NH₂)、烯丙基(-CH₂-CH=CH₂)、-O-烯丙基(-O-CH₂-CH=CH₂)和氟(F)。2'-糖取代基可以位于阿拉伯糖(上)位置或核糖(下)位置。在一些实施方案中,2'-阿拉伯糖修饰是2'-F。还可在siRNA分子上的其他位置上进行类似的修饰,具体地在3'末端核苷上或在2'-5'连接的寡核苷酸中的糖的3'位置和5'末端核苷酸的5'位置。寡核苷酸还可具有糖模拟物诸如环丁基部分来代替戊呋喃糖基糖。

[0353] 核碱基修饰

[0354] 本公开的siRNA分子还可包括核苷或其他替代或模拟单体亚基,这些亚基包括核碱基(在本领域中通常简称为“碱基”或“杂环碱基部分”)。核碱基是已被广泛修饰或取代的另一部分并且此类经修饰和或经取代的核碱基适用于本公开。如本文所用,“未修饰”或“天然”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G),以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。经修饰的核碱基(本文也称为杂环碱基部分)包括其他合成和天然的核碱基诸如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基衍生物和其他烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基衍生物和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶和胞嘧啶以及嘧啶碱基的其他炔基衍生物、6-偶氮基尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代、8-氨基、8-巯基、8-硫烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤代(具体为5-溴)、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基-腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤。核碱基还可包括其中嘌呤或嘧啶碱基被其他杂环例如7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤、2-氨基吡啶和2-吡啶酮置换的那些。另外的核碱基包括公开于US 3,687,808中的那些、公开于Kroschwitz, J.I. 编辑The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, New York, John Wiley & Sons, 1990, 第858-859页中的那些;由Englisch等人, Angewandte Chemie, 国际版, 30:613, 1991公开的那些;以及由Sanghvi, Y.S., 第16章, Antisense Research and Applications, CRC Press, Gait, M.J. 编辑, 1993, 第289-302页公开的那些。本公开的siRNA分子还可以包括多环杂环化合物来代替一个或多个杂环碱基部分。先前已报道了许多三环杂环化合物。这些化合物通常用于反义应用,以增加经修饰的链与靶链的结合性质。

[0355] 与第二链中的鸟苷产生三个氢键的代表性胞嘧啶类似物包括1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮(Kurchavov等人, Nucleosides and Nucleotides, 16:1837-46, 1997)、1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮(Lin等人, Am. Chem. Soc., 117:3873-4, 1995)和6,7,8,9-四氟-1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮(Wang等人, Tetrahedron Lett., 39:8385-8, 1998)。经证实掺入寡核苷酸中的这些碱基修饰与互补鸟嘌呤杂交,并且经证实后者也与腺嘌呤杂交并通过扩展的堆积相互作用

增强螺旋热稳定性(也参见US10/155,920和US 10/013,295,两者均通过引用整体并入本文)。当胞嘧啶类似物/取代物具有附接到刚性1,3-二氮杂吩噁嗪-2-酮支架上的氨基乙氧基部分时,已经观察到了进一步的螺旋稳定性质(Lin等人,Am.Chem.Soc.,120:8531-2,1998)。

[0356] 核苷间键联修饰

[0357] 本公开设计中的另一个变量是构成siRNA分子的磷酸骨架的核苷间键联。尽管此处可采用天然RNA磷酸骨架,但可以使用增强siRNA分子的所需特征的其衍生物。虽然不是限制性的,但在本公开中特别重要的是保护siRNA分子的部分或整体免于水解。降低水解速率的修饰的一个实例是硫代磷酸酯。骨架的任何部分或整体可以含有磷酸酯取代基(例如,硫代磷酸酯等)。例如,核苷间键联可以是0至100%硫代磷酸酯,例如0至100%、10至100%、20至100%、30至100%、40至100%、50至100%、60至100%、70至100%、80至100%、90至100%、0至90%、0至80%、0至70%、0至60%、0至50%、0至40%、0至30%、0至20%、0至10%、10至90%、20至80%、30至70%、40至60%、10至40%、20至50%、30至60%、40至70%、50至80%或60至90%硫代磷酸酯键联。类似地,核苷间键联可以是0至100%磷酸二酯键联,例如0至100%、10至100%、20至100%、30至100%、40至100%、50至100%、60至100%、70至100%、80至100%、90至100%、0至90%、0至80%、0至70%、0至60%、0至50%、0至40%、0至30%、0至20%、0至10%、10至90%、20至80%、30至70%、40至60%、10至40%、20至50%、30至60%、40至70%、50至80%或60至90%磷酸二酯键联。

[0358] 可用于本发明的一些可能的siRNA分子的具体实例包括含有经修饰的(例如非天然存在的)核苷间键联的寡核苷酸。如本说明书中所定义,具有经修饰的核苷间键联的寡核苷酸包括保留磷原子的核苷间键联和不具有磷原子的核苷间键联。出于本说明书的目的,并且如本领域有时所提及的,在其核苷间骨架中不具有磷原子的经修饰的寡核苷酸也可以被认为是寡核苷。优选含磷的经修饰的核苷间键联是硫代磷酸酯核苷间键联。在一些实施方案中,其中含有磷原子的经修饰的寡核苷酸骨架包括例如,硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯(包括3'-亚烷基磷酸酯、5'-亚烷基磷酸酯)、亚磷酸酯、氨基磷酸酯(包括3'-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯)、硫代氨基磷酸酯、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酯、硒代磷酸酯和具有正常3'-5'键联的硼代磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物以及具有反极性的那些,其中一个或多个核苷酸间键联为3'至3'、5'至5'或2'至2'键联。描述含磷键联的制备的示例性美国专利包括但不限于美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,023,243;5,177,195;5,188,897;5,264,423;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,939;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,476,925;5,519,126;5,536,821;5,541,316;5,550,111;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,625,050;6,028,188;6,124,445;6,160,109;6,169,170;6,172,209;6,239,265;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;和美国专利RE39464,这些专利中的每一个的全部内容特此通过引用并入本文。

[0359] 在一些实施方案中,不包括磷原子的经修饰的寡核苷酸骨架具有由短链烷基或环烷基核苷间键联、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间键联或者一个或多个短链杂原子核苷

间键联或杂环核苷间键联形成的骨架。这些包括具有以下的那些：吗啉代键联（部分地由核苷的糖部分形成）；硅氧烷骨架；硫化物、亚砷和砷骨架；甲酰乙酰基和硫代甲酰乙酰基骨架；亚甲基甲酰乙酰基和硫代甲酰乙酰基骨架；核糖乙酰基（riboacetyl）骨架；含烯烃的骨架；氨基磺酸酯骨架；亚甲基亚胺基和亚甲基胍基骨架；磺酸酯和磺酰胺骨架；酰氨骨架；以及具有混合N、O、S和CH₂组成部分的其他骨架。教导非磷骨架的制备的美国专利的非限制性实例包括但不限于美国专利号5,034,506；5,166,315；5,185,444；5,214,134；5,216,141；5,235,033；5,64,562；5,264,564；5,405,938；5,434,257；5,466,677；5,470,967；5,489,677；5,541,307；5,561,225；5,596,086；5,602,240；5,608,046；5,610,289；5,618,704；5,623,070；5,663,312；5,633,360；5,677,437；和5,677,439,这些专利中的每一个的全部内容特此通过引用并入本文。

[0360] siRNA分子的修饰模式

[0361] 以下部分提供了一组示例性支架,本公开的siRNA分子可以并入其中。

[0362] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式I表示的区域的反义链,其中式I按5'至3'方向是

[0363] $A-B-(A')_j-C-P^2-D-P^1-(C'-P^1)_k-C'$

[0364] 式I;

[0365] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;每个A'由式C-P²-D-P²表示;B由式C-P²-D-P²-D-P²-D-P²表示;每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;每个D是2'-F核糖核苷;每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;每个P²是磷酸二酯核苷间键联;j是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7);并且k是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,j为4。在一些实施方案中,k为4。在一些实施方案中,j为4并且k为4。反义与靶核酸序列互补(例如,完全或部分互补)。

[0366] 在一些实施方案中,反义链包括式A1表示的结构,其中式A1按5'至3'方向为:

[0367] A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A

[0368] 式A1;

[0369] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0370] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式II表示的区域的反义链,其中式II按5'至3'方向是:

[0371] $A-B-(A')_j-C-P^2-D-P^1-(C-P^1)_k-C'$

[0372] 式II;

[0373] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;每个A'由式C-P²-D-P²表示;B由式C-P²-D-P²-D-P²-D-P²表示;每个C是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-氟(2'-F)核糖核苷;每个D是2'-F核糖核苷;每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;每个P²是磷酸二酯核苷间键联;j是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7);并且k是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,j为4。在一些实施方案中,k为4。在一些实施方案中,j为4并且k为4。反义与靶核酸序列互补(例如,完全或部分互补)。

[0374] 在本公开的一些实施方案中,反义链包括式A2表示的结构,其中式A2按5'至3'方

向为:

[0375] A-S-B-S-A-O-B-O-B-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-S-A-S-A-S-A-S-A-S-A

[0376] 式A2;

[0377] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0378] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式III表示的结构,其中式III按5'至3'方向是:

[0379] E-(A')_m-F

[0380] 式III;

[0381] 其中E由式(C-P¹)₂表示;F由式(C-P²)₃-D-P¹-C-P¹-C、(C-P²)₃-D-P²-C-P²-C、(C-P²)₃-D-P¹-C-P¹-D或(C-P²)₃-D-P²-C-P²-D表示;A'、C、D、P¹和P²如式I中所定义;并且m是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,m为4。在一些实施方案中,有义链与反义链互补(例如,完全或部分互补)。

[0382] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S1表示的结构,其中式S1按5'至3'方向为:

[0383] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-S-A-S-A

[0384] 式S1;

[0385] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0386] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S2表示的结构,其中式S2按5'至3'方向为:

[0387] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-A

[0388] 式S2;

[0389] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0390] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S3表示的结构,其中式S3按5'至3'方向为:

[0391] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-S-A-S-B

[0392] 式S3;

[0393] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0394] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S4表示的结构,其中式S4按5'至3'方向为:

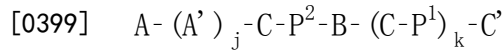
[0395] A-S-A-S-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-B-O-A-O-A-O-A-O-B-O-A-O-B

[0396] 式S4;

[0397] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0398] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式IV表示的区域的反义链,其中

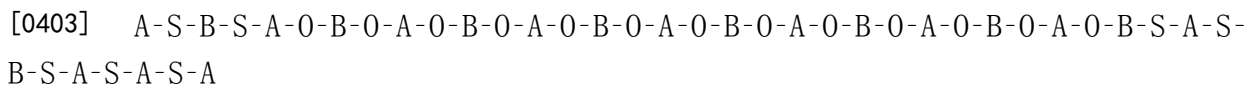
式IV按5'至3'方向是:



[0400] 式IV;

[0401] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;每个A'由式C-P²-D-P²表示;B由式D-P¹-C-P¹-D-P¹表示;每个C是2'-O-Me核糖核苷;每个C'独立地是2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷;每个D是2'-F核糖核苷;每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;每个P²是磷酸二酯核苷间键联;j是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7);并且k是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,j为6。在一些实施方案中,k为4。在一些实施方案中,j为6且k为4。反义链与靶核酸互补(例如,完全或部分互补)。

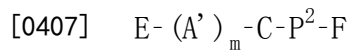
[0402] 在本公开的一些实施方案中,反义链包括式A3表示的结构,其中式A3按5'至3'方向为:



[0404] 式A3;

[0405] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

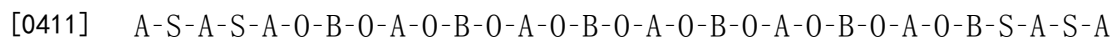
[0406] 在本公开的一些实施方案中,本公开的siRNA可以具有式V表示的有义链,其中式V按5'至3'方向是:



[0408] 式V;

[0409] 其中E由式(C-P¹)₂表示;F由式D-P¹-C-P¹-C、D-P²-C-P²-C、D-P¹-C-P¹-D或D-P²-C-P²-D表示;A'、C、D、P¹和P²如式IV中所定义;并且m是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,m为5。在一些实施方案中,有义链与反义链互补(例如,完全或部分互补)。

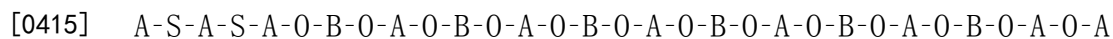
[0410] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S5表示的结构,其中式S5按5'至3'方向为:



[0412] 式S5;

[0413] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

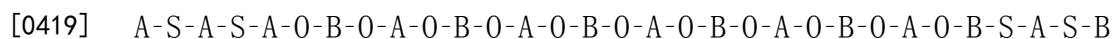
[0414] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S6表示的结构,其中式S6按5'至3'方向为:



[0416] 式S6;

[0417] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0418] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S7表示的结构,其中式S7按5'至3'方向为:



[0420] 式S7;

[0421] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0422] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S8表示的结构,其中式S8按5'至3'方向为:

[0423] A-S-A-S-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B-0-A-0-B

[0424] 式S8;

[0425] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0426] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式VI表示的区域的反义链,其中式VI按5'至3'方向是:

[0427] $A-B_j-E-B_k-E-F-G_1-D-P^1-C'$

[0428] 式VI;

[0429] 其中A由式C-P¹-D-P¹表示;每个B由式C-P²表示;每个C为2'-O-Me核糖核苷;每个C'独立地为2'-O-Me核糖核苷或2'-F核糖核苷;每个D为2'-F核糖核苷;每个E由式D-P²-C-P²表示;F由式D-P¹-C-P¹表示;每个G由式C-P¹表示;每个P¹是硫代磷酸酯核苷间键联;每个P²是磷酸二酯键联;j是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7);k是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7);并且l是1至7的整数(例如,1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,j为3。在一些实施方案中,k为6。在一些实施方案中,l为2。在一些实施方案中,j为3,k为6且l为2。反义链与靶核酸互补(例如,完全或部分互补)。

[0430] 在本公开的一些实施方案中,反义链包括式A4表示的结构,其中式A4按5'至3'方向为:

[0431] A-S-B-S-A-0-A-0-A-0-B-0-A-0-A-0-A-0-A-0-A-0-A-0-A-0-A-0-B-0-A-0-B-S-A-S-A-S-A-S-B-S-A

[0432] 式A4;

[0433] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,0表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0434] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式VII表示的区域的有义链,其中式VII按5'至3'方向是:

[0435] $H-B_m-I_n-A'-B_o-H-C$

[0436] 式VII;

[0437] 其中A'由式C-P²-D-P²表示;每个H由式(C-P¹)₂表示;每个I由式(D-P²)表示;B、C、D、P¹和P²如式VI中所定义;m是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);n是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7);并且o是1至7的整数(例如1、2、3、4、5、6或7)。在一些实施方案中,m为3。在一些实施方案中,n为3。在一些实施方案中,o为3。在一些实施方案中,m为3,n为3,并且o为3。反义链与有义链互补(例如,完全或部分互补)。

[0438] 在本公开的一些实施方案中,有义链包括式S9表示的结构,其中式S9按5'至3'方向为:

[0439] A-S-A-S-A-0-A-0-A-0-B-0-B-0-B-0-A-0-B-0-A-0-A-0-A-0-A-S-A-S-A

[0440] 式S9;

[0441] 其中A表示2'-O-Me核糖核苷,B表示2'-F核糖核苷,O表示磷酸二酯核苷间键联,并且S表示硫代磷酸酯核苷间键联。

[0442] 在本公开的一些实施方案中,siRNA可以含有包括式VIII表示的区域的反义链:

[0443] $Z - ((A-P)_n (B-P)_m)_q$;

[0444] 式VIII

[0445] 其中Z是5'磷稳定部分;每个A是2'-O-甲基(2'-O-Me)核糖核苷;每个B是2'-氟-核糖核苷;每个P独立地是选自磷酸二酯键联和硫代磷酸酯键联的核苷间键联;n是1至5的整数(例如1、2、3、4或5);m是1至5的整数(例如1、2、3、4或5);并且q是介于1和30之间的整数(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)。

[0446] siRNA合成方法

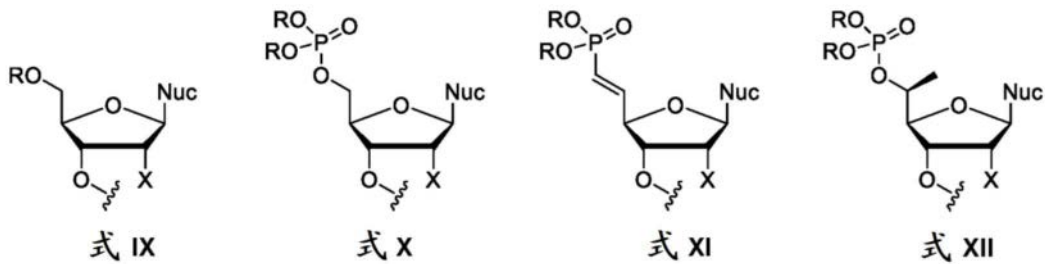
[0447] 本公开的siRNA分子可通过本领域已知的标准方法合成,如下文进一步讨论的,例如通过使用自动DNA合成仪,诸如可从例如Biosearch,Applied Biosystems,Inc.商购获得的。

[0448] siRNA试剂可以使用溶液相或固相有机合成或两者来制备。有机合成提供的优点是可以容易地制备包括非天然或修饰的核苷酸的寡核苷酸。本公开的siRNA分子可以使用溶液相或固相有机合成或两者来制备。

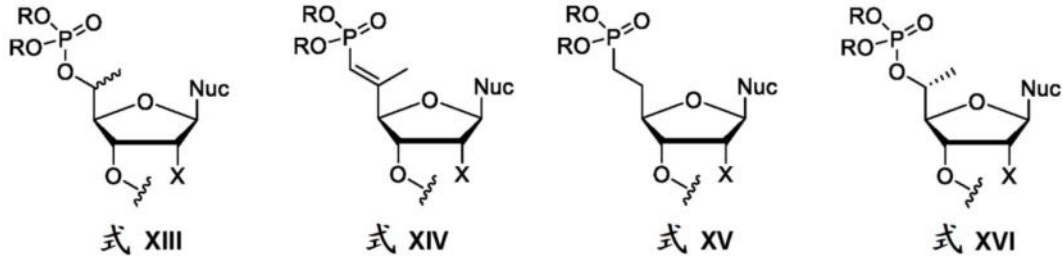
[0449] 此外,考虑到对于本文公开的任何siRNA试剂,可以通过系统地添加或去除连接的核苷以产生更长或更短的序列来实现进一步优化。此外,此类优化序列可以通过例如引入本文所述或本领域已知的修饰核苷和/或修饰核苷间键联,包括如本领域已知和/或本文讨论的替代核苷、替代糖部分和/或替代核苷间键联来调整,以进一步优化分子(例如,增加血清稳定性或循环半衰期、增加热稳定性、增强跨膜递送和/或靶向特定位置或细胞类型)。

[0450] 5'磷稳定部分

[0451] 为了进一步保护本公开的siRNA分子免于降解,可以采用5'-磷稳定部分。5'-磷稳定部分置换5'-磷酸盐以防止磷酸盐水解。5'-磷酸盐的水解防止与RISC的结合,这是基因沉默的必要步骤。本公开中考虑了任何不妨碍与RISC结合的磷酸盐置换。在一些实施方案中,5'-磷酸的替代品对体内水解也是稳定的。siRNA分子的每条链可以独立地并且任选地采用任何合适的5'-磷稳定部分。



[0452]



[0453] 一些示例性端帽在式IX-XVI中展示。式IX-XVI中的Nuc表示如本文所述的核碱基或核碱基衍生物或置换。式IX-XVI中的X表示如本文所述的2'-修饰。一些实施方案采用如式IX中的羟基、如式X中的磷酸酯、如式XI和式XIV中的乙烯基磷酸酯、如式XII、XIII和XVI中的5'-甲基取代的磷酸酯、如式XV中的亚甲基磷酸酯、或如式XI中展示的乙烯基5'-乙烯基磷酸酯作为5'-磷稳定部分。

[0454] 疏水部分

[0455] 本公开还提供了具有一个或多个与其附接的疏水部分的siRNA分子。疏水部分可以共价附接至本公开的siRNA分子的5'末端或3'末端。适合与本公开的siRNA分子一起使用的疏水部分的非限制性实例可包括胆固醇、维生素D、生育酚、磷脂酰胆碱(PC)、二十二碳六烯酸、二十二烷酸、PC-二十二烷酸、二十碳五烯酸、石胆酸或上述疏水部分与PC的任何组合。

[0456] siRNA分支

[0457] 本公开的siRNA分子可以是分支的。例如,本公开的siRNA分子可以具有几种分支模式之一,如本文所述。

[0458] 根据本公开,本文公开的siRNA分子可以是分支siRNA分子。siRNA分子可以不是分支的,或者可以是二分支、三分支的或四分支的,通过接头连接。每个主分支可以进一步分支以允许2、3、4、5、6、7或8条单独的RNA单链或双链。接头上的分支点可以源自同一原子,或沿着接头的单独原子。表2中列出了一些示例性实施方案。

[0459] 表2:分支siRNA结构

二分支	三支	四分支
$\begin{array}{c} \text{RNA-L-RNA} \\ \text{式 XVII} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-L-RNA} \\ \text{式 XX} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-L-RNA} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXIV} \end{array}$
$\begin{array}{c} \text{RNA} \quad \text{RNA} \\ \diagdown \quad / \\ \text{X-L-X} \\ / \quad \diagdown \\ \text{RNA} \quad \text{RNA} \\ \text{式 XVIII} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXI} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXV} \end{array}$
$\begin{array}{c} \text{RNA} \quad \text{RNA} \\ \diagdown \quad / \\ \text{X-L-X} \\ / \quad \diagdown \\ \text{RNA} \quad \text{RNA} \\ \text{式 XIX} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXII} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXVI} \end{array}$
	$\begin{array}{c} \text{RNA-X-RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXIII} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{RNA-X-RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA} \\ \text{式 XXVII} \end{array}$
		$\begin{array}{c} \text{RNA-X-RNA} \\ \\ \text{RNA-X-L-X} \\ \\ \text{RNA-X-RNA} \\ \text{式 XXVIII} \end{array}$

[0460]

[0461] 在一些实施方案中, siRNA分子是分支siRNA分子。在一些实施方案中, 所述分支siRNA分子是二分支、三支或四分支的。在一些实施方案中, 二分支siRNA分子由式XVII-XIX中的任一个表示, 其中每个RNA独立地是siRNA分子, L是接头, 并且每个X独立地表示分支点部分 (例如, 亚磷酰胺、甲苯磺酰化丙酮缩甘油、1,3-二氨基丙醇、季戊四醇、或US10,478,503中描述的分支点部分中的任一种)。

[0462] 在一些实施方案中, 三支siRNA分子由式XX-XXIII中的任一个表示, 其中每个RNA独立地是siRNA分子, L是接头, 并且每个X独立地表示分支点部分。

[0463] 在一些实施方案中, 四分支siRNA分子由式XXIV-XXVIII中的任一个表示, 其中每个RNA独立地是siRNA分子, L是接头, 并且每个X独立地表示分支点部分。

[0464] 接头

[0465] 本文所述的siRNA的多条链可以通过接头共价附接。这种分支的作用尤其改善细胞渗透性, 从而允许更好地进入CNS中的细胞 (例如, 神经元或小胶质细胞)。可以采用与本发明的siRNA不相容的任何连接部分。接头包括2至10个亚基 (例如2、3、4、5、6、7、8、9或10个亚基) 的乙二醇链、烷基链、碳水化合物链、嵌段共聚物、肽、RNA、DNA等。在一些实施方案中, 接头的任何碳或氧原子任选地被氮原子置换, 带有羟基取代基, 或带有氧取代基。在一些

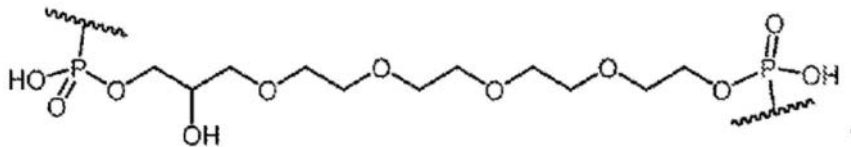
实施方案中,接头是聚乙二醇(PEG)接头。适合与所公开的组合物和方法一起使用的PEG接头包括线性或非线性PEG接头。非线性PEG接头的实例包括分支PEG、线性叉状PEG或分支叉状PEG。

[0466] 各种重量的PEG接头可以与所公开的组合物和方法一起使用。例如,PEG接头可以具有介于5至500道尔顿之间的重量。在一些实施方案中,可以使用重量介于500至1,000道尔顿之间的PEG接头。在一些实施方案中,可以使用重量介于1,000至10,000道尔顿之间的PEG接头。在一些实施方案中,可以使用重量介于200至20,000道尔顿之间的PEG接头。在一些实施方案中,接头共价附接至siRNA的有义链。在一些实施方案中,接头共价附接至siRNA的反义链。在一些实施方案中,PEG接头是三乙二醇(TrEG)接头。在一些实施方案中,PEG接头是四乙二醇(TEG)接头。

[0467] 在一些实施方案中,接头是烷基链接头。在一些实施方案中,接头是肽接头。在一些实施方案中,接头是RNA接头。在一些实施方案中,接头是DNA接头。

[0468] 接头可以共价连接2、3、4或5条独特的siRNA链。接头可以共价结合至siRNA寡聚物的任何部分。在一些实施方案中,接头附接至每条siRNA链的核苷的3'末端。在一些实施方案中,接头附接至每条siRNA链的核苷的5'末端。在一些实施方案中,接头通过共价键形成部分附接至siRNA链(例如有义链或反义链)的核苷。在一些实施方案中,共价键形成部分选自烷基、酯、酰胺、碳酸酯、氨基甲酸酯、三唑、脲、甲缩醛、磷酸酯、磷酸酯和磷酸酯衍生物(例如,硫代磷酸酯、氨基磷酸酯等)。

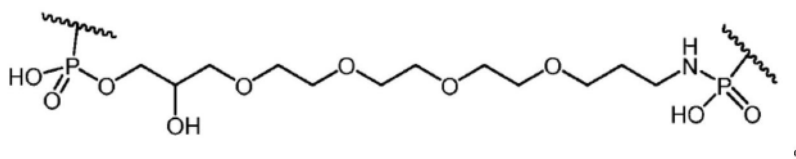
[0469] 在一些实施方案中,所述接头具有式L1的结构:



[0470]

(式 L1)

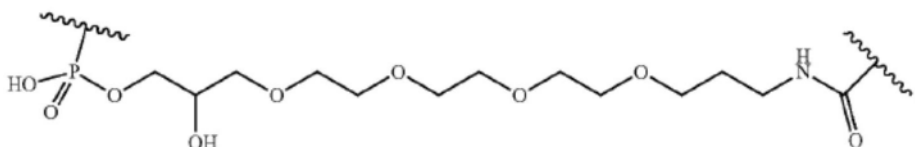
[0471] 在一些实施方案中,所述接头具有式L2的结构:



[0472]

(式 L2)

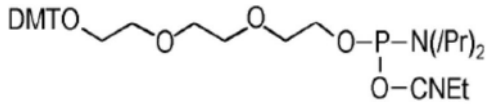
[0473] 在一些实施方案中,所述接头具有式L3的结构:



[0474]

(式 L3)

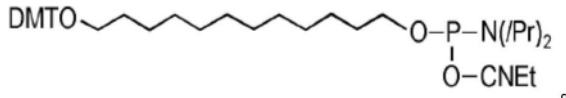
[0475] 在一些实施方案中,所述接头具有式L4的结构:



[0476]

(式 L4)

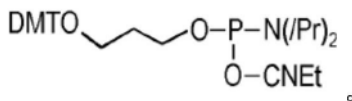
[0477] 在一些实施方案中,所述接头具有式L5的结构:



[0478]

(式 L5)

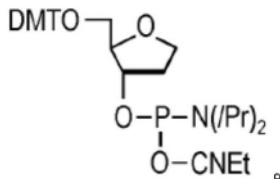
[0479] 在一些实施方案中,所述接头具有式L6的结构:



[0480]

(式 L6)

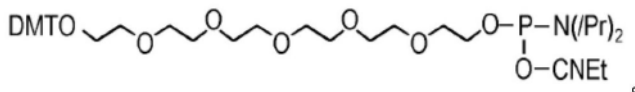
[0481] 在一些实施方案中,接头具有式L7的结构,如下所示:



[0482]

(式 L7)

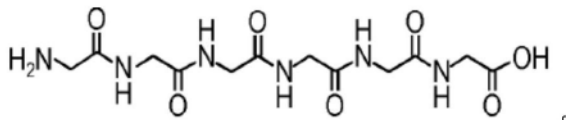
[0483] 在一些实施方案中,所述接头具有式L8的结构:



[0484]

(式 L8)

[0485] 在一些实施方案中,所述接头具有式L9的结构:



[0486]

(式 L9)

[0487] 在一些实施方案中,与本文公开的一种或多种分支siRNA分子一起使用的接头的选择可以基于接头的疏水性,使得例如,对于本公开的一种或多种分支siRNA分子实现期望的疏水性。例如,与具有较低疏水性接头或亲水性接头的分支siRNA分子相比,含有烷基链

的接头可用于增加分支siRNA分子的疏水性。

[0488] 本文公开的siRNA试剂可以通过本领域充分确立的方法合成和/或修饰,诸如Beaucage, S.L.等人(编辑), *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*, John Wiley&Sons, Inc., New York, N.Y., 2000中描述的那些方法,其特此通过引用并入本文。

[0489] 治疗方法

[0490] 本公开的靶向KCNT1的siRNA分子可以例如作为抗惊厥药递送至受试者,从而减少癫痫事件的持续时间或频率和/或减轻癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血或心律失常)。此外,本公开的siRNA分子还可递送至具有KCNT1基因变体的受试者,对于该受试者而言,siRNA介导的KCNT1变体基因的基因沉默降低KCNT1转录物的表达水平,从而减少癫痫事件的持续时间或频率和/或减轻癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血或心律失常)。

[0491] 许多驱动癫痫的病理性KCNT1变体会导致功能增加,表现为通过KCNT1通道的钾离子电流更大。因此,药理学上降低KCNT1表达水平应该会提供治疗益处。本公开提供了通过用本文所述的一种或多种siRNA分子进行KCNT1基因沉默来治疗受试者的方法。相对于健康受试者,可以在受试者中进行基因沉默,以使野生型KCNT1转录物、突变型KCNT1转录物、KCNT1转录物的剪接同种型和/或其过表达的KCNT1转录物沉默。该方法可以包括通过任何适当的施用途径(例如,脑室内、鞘内注射或通过导管插入在小脑延髓池内注射)将本公开的siRNA分子或包含其的药物组合物递送至受试者(例如,人)的CNS。活性化合物可以以任何合适的剂量施用。施用给患者的本公开组合物的实际剂量可以通过物理和生理因素确定,诸如体重、病状的严重程度、先前或同时的治疗干预、患者的特发症以及施用途径。根据剂量和施用途径,优选剂量和/或有效量的施用次数可根据受试者的反应而变化。在任何情形下,负责施用的从业者将确定组合物中活性成分的浓度以及个体受试者的适当剂量。施用可以每天进行任何合适的次数,并且持续时间只要有必要。受试者可以是患有或未患共存疾病的成人或儿童。

[0492] 受试者选择

[0493] 可用本文公开的siRNA分子治疗的受试者是需要治疗例如癫痫、癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血或心律失常)和/或与KCNT1基因中功能获得性突变相关的任何其他医疗风险的受试者。另外,需要治疗的受试者可表征为患有特定的癫痫综合征。例如,受试者可能被诊断患有额叶癫痫、枕叶癫痫、内侧颞叶癫痫、顶叶癫痫、婴儿良性肌阵挛性癫痫、青少年肌阵挛性癫痫、儿童失神性癫痫、青少年失神性癫痫、儿童期癫痫伴全身性强直性阵挛发作、婴儿痉挛、Lennox-Gastaut综合征、West综合征、睡眠相关性过度运动性癫痫、进行性肌阵挛癫痫、发热性痉挛、癫痫伴慢波睡眠期持续棘慢波、Laudau Kleffner综合征、Rasmussen综合征、先天性代谢缺陷引起的癫痫、婴儿期癫痫伴迁移局灶性发作、常染色体显性夜间额叶癫痫、Ohtahara综合征、早期肌阵挛性脑病、局灶性癫痫和/或多灶性癫痫。可用本文公开的siRNA分子治疗的受试者可以包括例如人、猴子、大鼠、小鼠、猪和含有KCNT1基因的至少一个直系同源拷贝的其他哺乳动物。受试者可以是患有或未患共存疾病的成人或儿童。

[0494] 药物组合物

[0495] 本公开中的siRNA分子可以配制成药物组合物,以适合体内施用的生物相容形式

施用于受试者。因此,本公开提供了一种药物组合物,所述药物组合物包含与合适的稀释剂、载体或赋形剂混合的本公开的siRNA分子。siRNA分子可以例如直接施用到受试者的CNS或受影响的组织中(例如,通过脑室内注射、纹状体内注射、鞘内注射、通过导管插入在小脑延髓池内注射、实质内注射、静脉内注射、皮下注射或肌肉内注射)。

[0496] 用于选择和制备合适制剂的常规程序和成分例如在Remington,J.P.The Science and Practice of Pharmacy,Easton,PA.Mack Publishers,2012,第22版和The United States Pharmacopeial Convention,The National Formulary,United States Pharmacopeial,2015,USP 38NF 33)中有描述。

[0497] 在普通储存和使用条件下,药物组合物可含有防腐剂,例如以防止微生物生长。药物组合物可包含无菌水性溶液、分散液,或例如用于临时制备无菌溶液或分散液的粉末。在所有情况下,所述形式可使用本领域已知的技术灭菌,并且可流化至可容易地施用给需要治疗的受试者的程度。

[0498] 药物组合物可单独或与如本文所述的药学上可接受的载体组合施用给受试者,例如,人类受试者,其比例可通过化合物的溶解度和/或化学性质、所选的施用途径以及标准药物实践来确定。

[0499] 给药方案

[0500] 本领域普通技术的医师可以容易地确定向有需要的哺乳动物受试者(例如,人)施用的siRNA分子的有效量。例如,医师可以以低于获得期望治疗效果所需要的水平开始本公开siRNA分子之一的处方剂量,并逐渐增加剂量直至实现期望效果。可替代地,医师可以通过施用高剂量的本公开siRNA分子之一来开始治疗方案,并且随后逐渐施用较低的剂量,直至达到实现治疗效果(例如,靶基因序列的表达减少)的最低剂量。一般而言,本公开的siRNA分子之一的合适日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的siRNA分子的量。本公开的ss-或ds-siRNA分子可以通过注射施用,例如经鞘内、脑室内、通过导管插入在小脑延髓池内注射、实质内、静脉、皮下或肌肉内施用。本公开的siRNA分子的治疗组合物的日剂量可以作为单剂量施用,或者作为在一天、一周、一个月或一年中以适当的间隔单独施用的两个、三个、四个、五个、六个或更多个剂量来施用,任选地,以单位剂型施用。虽然本公开的siRNA分子可以单独施用,但它也可以作为与赋形剂、载体和任选地另外的治疗剂组合的药物制剂施用。

[0501] 施用途径

[0502] 本公开的方法考虑了治疗组合物耐受的任何施用途径。所述方法的一些实施方案包括经鞘内或脑室内注射或通过导管插入在小脑延髓池内注射。

[0503] 鞘内注射是直接注射到脊柱或蛛网膜下腔。通过直接注射到脊柱的CSF中,本公开的siRNA分子可以直接进入脊柱中的细胞(例如,神经元和小胶质细胞),并且具有可以绕过血脑屏障进入脑部中的细胞的途径。

[0504] 脑室内(ICV)注射是直接注射到脑室CSF中的方法。与鞘内注射类似,ICV是一种绕过血脑屏障的注射方法。使用ICV的优点是可以进入脑部和脊柱的细胞,而不存在治疗剂在血液中降解的危险。

[0505] 纹状体内注射是直接注射到纹状体(striatum)或纹状体(corpus striatum)中。纹状体是脑部皮层下基底神经节的一个区域。注射到纹状体中绕过了血脑屏障和注射到血

流中的药代动力学挑战,并且允许直接进入脑部细胞。

[0506] 实质内施用是直接注射到实质(例如脑实质)中。注射到脑实质中允许直接注射到受疾病或病症影响的脑部区域,同时绕过血脑屏障。

[0507] 通过导管插入在小脑延髓池内注射是直接注射到小脑延髓池中。小脑延髓池是位于小脑和延髓背侧表面之间的脑部区域。注射到小脑延髓池中引起更直接地输送到小脑、脑干和脊髓的细胞。

[0508] 在本文所述的方法的一些实施方案中,治疗组合物可以通过全身施用的方式(例如静脉内、肌内或皮下)递送至受试者。

[0509] 静脉(IV)注射是一种直接注射到受试者血液中的方法。IV施用可以是推注剂量的形式或通过连续输注的方式,或治疗组合物耐受的任何其他方法。

[0510] 肌内(IM)注射是注射到受试者的肌肉,诸如三角肌或臀肌中。IM可以允许治疗组合物的快速吸收。

[0511] 皮下注射是注射到皮下组织中。皮下递送的组合物的吸收可能比IV或IM注射慢,这对于需要连续吸收的组合物可能是有益的。

[0512] 实施例

[0513] 提出以下实施例以便为本领域普通技术人员提供可以如何使用、制备和评价本文所述的组合物和方法的描述,并且这些实施例仅旨在作为本公开的示例而不旨在限制发明人认为是他们的公开的范围。

[0514] 实施例1.用本公开的siRNA分子敲低KCNT1

[0515] 所有筛选测定通过以下方式进行:使用标准试剂和Applied Biosystems TaqMan测定法,经由逆转录定量聚合酶链反应(RT-qPCR)测量细胞培养裂解物中KCNT1和管家基因(ATP5B)的mRNA水平。对于被动筛选(下表3),将SK-N-BE(2)细胞在浓度为 $2\mu\text{M}$ 或 $0.5\mu\text{M}$ 的KCNT1 siRNA的存在下培养。对于主动筛选(下表4),将稳定表达KCNT1的HEK细胞(HEK-KCNT1)用 20nM 或 0.2nM 浓度的KCNT1 siRNA主动转染。为了进行化合物效力分析,用浓度为 10fM 至 100nM 的KCNT1 siRNA主动转染HEK-KCNT1细胞,并计算 IC_{50} 。对于所有测定法,在裂解和下游分析之前对细胞进行siRNA给药72小时。结果呈现为相同测定法中相对于未处理的对照细胞残留的KCNT1 mRNA百分比(%UNT KCNT1 mRNA)。STDEV=标准偏差,ND=未测定。

[0516] 表3.在被动筛选中用本公开的siRNA分子敲低KCNT1

[0517]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
1	219	74.98	1.25	80.64	10.07
2	220	70.06	0.32	82.48	0.68
3	221	70.62	2.74	87.30	2.57
4	222	69.09	0.63	88.36	3.68
5	223	54.47	1.33	71.50	3.08
6	224	66.00	1.58	74.82	1.92
7	225	56.17	2.22	70.32	3.04
8	226	62.54	1.10	75.93	3.69
9	227	63.08	3.55	71.77	3.29
10	228	58.14	0.51	68.63	4.77
11	229	56.24	5.75	60.96	2.72
12	230	60.31	0.88	75.71	2.89
13	231	72.87	2.88	88.94	1.02
14	232	57.36	1.86	82.06	4.92
15	233	48.51	4.13	73.40	6.23
16	234	56.71	2.44	80.92	0.68
17	235	62.37	2.65	72.77	2.16

[0518]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
18	236	58.59	2.96	76.18	1.90
19	237	48.39	2.15	67.31	3.04
20	238	91.39	9.23	91.73	2.41
21	239	72.14	5.23	68.44	4.46
22	240	63.45	6.65	70.23	2.40
24	242	73.86	0.08	90.41	1.21
28	246	66.38	4.04	89.74	1.54
29	247	59.06	3.80	75.35	7.36
30	248	61.65	5.42	81.08	0.82
31	249	54.71	11.09	72.67	4.17
32	250	63.46	8.27	87.52	2.59
33	251	54.92	0.50	84.31	7.03
34	252	65.19	5.12	97.48	10.15
35	253	71.01	10.49	122.27	ND
36	254	82.87	2.76	97.08	10.50
37	255	70.67	4.62	98.42	10.69
38	256	58.81	2.41	82.23	5.19
39	257	75.15	3.12	97.43	6.49
40	258	84.62	5.29	88.19	1.25
41	259	49.57	2.81	82.98	1.51
42	260	58.43	1.24	66.94	6.58
43	261	67.23	0.28	88.21	3.16
44	262	79.76	4.06	90.78	1.30
45	263	64.06	7.83	79.15	12.64
46	264	74.63	5.61	90.93	10.23
47	265	70.32	2.78	87.55	2.39
48	266	80.31	2.15	96.56	3.09
49	267	80.73	2.25	101.59	3.24
50	268	76.35	2.19	86.04	0.86
51	269	65.55	0.32	78.90	2.77
52	270	61.85	4.39	86.84	2.08
53	271	59.62	0.60	86.18	4.87
54	272	72.51	4.09	86.19	2.97
55	273	74.82	4.90	96.32	5.11
56	274	68.93	1.78	80.83	10.98

[0519]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
57	275	80.49	18.79	64.50	4.95
58	276	69.02	7.73	66.57	2.09
59	277	80.40	7.71	77.02	1.79
60	278	75.78	3.55	83.44	5.25
61	279	58.29	30.15	108.66	3.20
62	280	70.60	5.27	82.29	8.45
63	281	102.81	1.00	102.28	0.05
64	282	97.44	0.49	113.21	13.66
65	283	106.57	6.42	118.17	6.89
66	284	100.33	9.06	105.80	4.41
67	285	98.37	8.09	76.09	2.69
68	286	65.96	0.39	88.92	4.20
69	287	71.68	6.44	99.43	7.16
70	288	80.83	2.13	95.37	4.76
71	289	62.52	1.51	82.85	6.91
72	290	69.34	5.50	90.11	1.02
73	291	81.34	2.50	95.31	5.71
86	304	88.73	13.44	103.78	5.52
87	305	90.23	18.07	107.98	0.28
88	306	89.79	6.96	104.43	5.40
89	307	71.47	2.47	78.04	4.64
90	308	72.25	8.63	96.37	4.92
91	309	77.49	0.97	94.06	4.59
92	310	70.61	2.23	82.79	14.06
93	311	65.84	5.17	95.80	3.99
94	312	82.72	15.55	91.67	0.61
96	314	66.28	0.47	88.28	1.68
98	316	76.57	0.27	103.01	0.46
99	317	69.15	5.75	83.34	5.96
100	318	80.66	0.94	99.11	3.91
101	319	77.06	0.34	94.91	0.39
102	320	69.85	0.38	93.29	0.82
103	321	112.43	4.95	106.95	4.12
104	322	95.79	1.75	100.46	1.16
105	323	74.47	1.13	106.33	6.09

[0520]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
106	324	70.13	0.96	94.72	3.29
107	325	90.76	1.89	97.64	0.61
108	326	91.68	1.67	108.23	5.77
109	327	148.92	16.98	109.74	7.15
110	328	95.45	0.63	106.31	3.97
111	329	83.30	3.29	98.75	2.04
112	330	77.98	5.45	96.97	4.02
113	331	195.39	25.60	126.49	0.30
114	332	87.94	0.45	104.09	1.72
115	333	69.63	3.50	96.37	1.56
116	334	90.84	2.66	96.18	0.75
117	335	73.66	2.09	97.86	2.18
118	336	83.04	3.33	104.29	7.00
119	337	79.33	2.67	109.47	1.03
120	338	82.01	0.43	106.43	1.80
121	339	70.51	2.15	98.78	2.83
122	340	64.60	1.29	95.18	0.57
123	341	97.26	6.25	78.62	6.09
127	345	91.78	12.93	83.25	9.73
128	346	73.30	7.49	109.32	7.18
129	347	92.92	13.32	110.86	12.57
130	348	87.34	1.84	99.02	3.55
131	349	83.35	1.26	96.41	1.98
132	350	82.55	12.14	85.24	9.72
133	351	66.86	0.11	75.18	8.69
134	352	56.40	1.97	78.68	5.03
135	353	60.47	0.10	72.54	2.54
136	354	65.57	5.67	78.59	9.12
137	355	74.76	1.06	95.31	2.75
138	356	59.74	24.46	89.58	7.26
139	357	59.90	0.06	103.66	3.76
140	358	144.53	6.22	115.67	0.38
141	359	79.97	4.06	94.81	5.12
142	360	73.09	4.80	79.10	2.25
143	361	72.96	4.40	110.27	6.05

[0521]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
144	362	67.88	7.44	96.13	6.85
145	363	62.34	4.42	86.70	6.14
146	364	71.12	9.08	85.53	2.57
147	365	67.32	2.91	93.31	1.25
148	366	84.88	0.38	91.61	4.31
149	367	75.70	1.85	98.57	8.01
150	368	96.60	1.51	84.09	1.48
151	369	67.54	4.24	ND	ND
152	370	95.14	15.91	86.26	3.60
153	371	84.51	6.75	92.36	10.47
154	372	98.08	9.13	91.24	1.94
155	373	80.29	14.00	103.38	3.20
156	374	82.71	4.67	103.49	5.64
157	375	90.55	7.12	98.98	3.75
158	376	90.02	8.87	105.89	7.41
162	380	113.46	13.78	96.17	18.73
163	381	97.19	7.32	98.74	17.40
164	382	113.15	10.24	99.15	4.26
165	383	87.49	2.07	90.22	10.15
166	384	84.38	9.74	92.48	2.45
167	385	75.66	4.16	90.57	1.96
169	387	87.08	7.19	103.40	2.40
170	388	81.29	8.99	102.94	5.48
171	389	111.74	6.19	101.33	0.02
172	390	80.28	1.27	112.53	2.83
173	391	80.62	4.86	100.60	0.90
174	392	90.57	6.27	85.70	2.19
175	393	99.03	0.30	86.37	9.04
176	394	88.27	0.19	65.92	8.13
177	395	87.61	12.58	82.94	4.23
178	396	106.70	15.95	81.20	1.47
179	397	90.15	4.33	82.90	9.56
180	398	92.38	2.75	86.07	0.31
181	399	71.94	2.54	71.63	13.00
182	400	76.27	2.26	77.93	7.78

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 2 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表达	STDEV	在 0.5 uM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
183	401	71.18	4.10	90.08	2.40
184	402	66.84	8.13	99.51	1.18
185	403	61.73	0.04	92.54	5.55
186	404	61.34	1.29	101.22	2.97
187	405	55.50	1.31	95.55	5.52
188	406	53.24	1.43	107.19	6.01
189	407	57.43	1.02	98.28	0.24
190	408	60.82	2.68	93.81	4.18
191	409	68.55	ND	85.47	3.77
192	410	75.80	4.18	87.36	1.12
193	411	70.32	2.35	89.17	0.15
195	413	58.88	2.24	92.64	1.15
196	414	43.37	2.55	87.70	1.02
197	415	46.22	1.67	93.29	3.13
198	416	37.58	1.21	85.69	9.76
199	417	43.73	2.78	89.76	9.14
200	418	55.75	2.37	99.37	4.34
201	419	57.30	0.85	95.06	3.96
202	420	53.22	2.70	77.16	4.92
203	421	90.15	0.36	101.16	0.10
204	422	65.44	2.87	91.48	3.06
205	423	66.94	2.76	92.80	4.49
206	424	64.80	3.90	103.87	0.49
207	425	74.78	1.96	98.32	8.27
208	426	81.68	2.12	100.12	0.66
209	427	76.30	0.76	78.24	3.56
210	428	105.27	1.91	85.97	6.58
211	429	117.48	4.70	87.41	1.39
212	430	97.28	1.26	91.71	7.71
213	431	91.49	7.57	95.61	1.46
214	432	155.17	63.85	103.05	0.01
215	433	99.66	6.64	100.20	9.29
216	434	99.65	8.17	94.26	2.46
217	435	122.16	3.68	101.47	1.63
218	436	121.76	1.17	103.56	0.04

[0522] 表4. 在主动筛选中用本公开的siRNA分子敲低KCNT1

[0524]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 20 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV	在 0.2 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
124	342	84.48	0.71	48.79	1.51
194	412	65.24	0.33	21.93	0.35
655	845	116.15	3.18	80.63	14.17
656	846	67.17	4.22	59.88	8.89
657	847	95.53	0.13	67.07	7.05
658	848	87.71	4.38	65.26	7.35
659	849	39.58	0.56	52.83	0.63
660	850	24.39	0.46	76.27	1.94
661	851	37.16	0.53	61.78	1.04
662	852	39.31	1.37	81.23	5.35
663	853	24.51	0.23	33.75	1.94
664	854	84.55	1.94	73.64	11.95
665	855	41.00	0.10	65.67	1.78
666	856	26.64	0.13	59.77	1.62
667	857	64.25	3.08	66.81	3.23
668	858	32.33	0.83	37.79	5.69
669	859	15.72	0.59	34.59	0.14
670	860	32.74	ND	27.63	0.65
671	861	30.19	1.51	33.68	1.20
672	862	ND	ND	41.11	1.83
673	863	65.65	2.85	77.40	6.23
674	864	28.04	1.52	29.92	1.37
675	865	26.86	1.80	30.83	2.36
676	866	12.05	0.39	25.67	2.82
677	867	29.56	0.63	37.35	1.96
678	868	22.21	1.43	86.71	6.55
679	869	13.12	0.23	64.03	5.26
680	870	43.38	0.90	65.20	15.47
681	871	19.99	0.54	30.38	0.37
682	872	18.27	0.54	32.14	2.85
683	873	30.77	0.91	40.48	1.33
684	874	90.59	4.90	76.68	2.00
685	875	67.79	1.50	71.54	4.47

[0525]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 20 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV	在 0.2 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV
686	876	31.81	0.72	37.36	1.38
687	877	29.59	0.74	38.54	0.55
688	878	25.19	0.83	43.29	0.84
689	879	21.00	0.10	37.36	0.79
690	880	26.79	0.03	42.53	1.83
691	881	25.50	0.40	61.71	0.47
692	882	42.45	1.45	27.04	0.61
693	883	20.03	1.47	38.58	1.18
694	884	16.37	0.50	23.17	1.46
695	885	36.88	0.39	28.29	1.99
696	886	48.82	2.20	37.86	1.28
697	887	20.86	1.11	21.96	0.10
698	888	46.31	1.52	37.69	0.53
699	889	39.13	0.39	60.49	4.52
700	890	50.00	0.31	45.42	1.52
701	891	32.25	1.10	20.87	0.23
702	892	64.37	2.43	70.25	1.17
703	893	36.96	1.64	85.69	2.41
704	894	35.78	2.33	62.13	1.14
705	895	38.26	1.61	48.78	0.64
706	896	115.36	3.52	92.00	2.47
707	897	68.48	0.76	50.64	1.12
708	898	52.11	6.16	49.25	2.91
709	899	22.52	ND	33.36	3.69
710	900	34.74	1.75	23.83	0.27
711	901	46.21	1.01	52.28	0.03
712	902	90.81	6.06	58.63	2.87
713	903	34.50	0.60	39.43	3.26
714	904	42.15	5.60	65.37	12.74
715	905	58.15	1.68	54.41	5.88
716	906	32.39	2.23	26.11	2.57
717	907	72.48	0.75	54.77	1.73
718	908	24.63	1.73	25.32	1.49
719	909	49.30	5.47	40.18	5.18
720	910	ND	ND	49.46	5.42

[0526]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 20 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV	在 0.2 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV
721	911	60.40	3.12	53.10	1.48
722	912	20.71	0.24	26.97	0.24
723	913	75.32	0.67	51.05	1.48
724	914	51.01	2.80	30.61	1.30
725	915	23.08	0.02	23.32	3.21
726	916	18.66	1.98	61.31	1.30
727	917	67.43	4.44	58.84	ND
728	918	44.35	6.52	42.83	1.80
729	919	47.10	1.12	46.68	3.84
730	920	45.41	2.35	20.60	1.08
731	921	26.88	1.24	14.75	0.48
732	922	92.37	2.67	54.18	1.21
733	923	69.65	ND	50.60	3.20
734	924	24.95	1.98	29.13	0.49
735	925	58.24	6.09	37.94	0.03
736	926	31.05	2.26	17.51	0.90
737	927	10.94	1.16	9.66	0.29
738	928	26.59	0.45	63.00	3.94
739	929	28.28	0.83	48.21	1.29
740	930	32.97	1.94	46.95	0.41
741	931	63.31	0.58	59.26	0.22
742	932	102.22	4.06	71.06	3.14
743	933	116.69	1.94	52.06	0.91
744	934	88.66	6.99	48.42	4.38
745	935	10.53	0.31	15.56	1.10
746	936	23.87	0.73	36.53	0.08
747	937	40.13	0.28	56.89	2.73
748	938	46.26	3.22	39.70	3.25
749	939	26.34	0.26	61.16	0.65
750	940	19.07	0.38	24.44	2.82
751	941	13.73	0.27	17.87	0.69
752	942	48.27	1.78	14.80	1.02
753	943	81.59	1.23	48.98	1.47
754	944	69.15	3.62	49.62	6.01
755	945	87.80	4.89	52.87	ND

[0527]

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 20 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV	在 0.2 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA表 达	STDEV
756	946	49.00	1.51	54.71	3.42
757	947	48.70	1.09	52.56	9.51
758	948	126.61	0.70	105.59	8.37
759	949	56.89	8.41	65.78	6.80
760	950	30.84	2.72	65.57	7.23
761	951	72.28	2.66	105.38	7.61
762	952	15.50	0.09	42.54	0.48
763	953	53.48	7.57	58.44	0.38
764	954	74.07	3.04	51.32	2.45
765	955	32.08	2.76	36.08	2.39
766	956	25.44	2.71	31.36	0.82
767	957	75.61	ND	55.97	3.27
768	958	53.62	0.44	62.13	0.97
769	959	75.11	7.01	75.26	15.47
770	960	89.94	1.74	90.85	5.35
771	961	16.76	1.69	34.84	4.30
772	962	54.87	0.22	58.28	5.87
773	963	44.97	3.60	62.58	2.48
774	964	112.84	2.38	100.26	4.44
775	965	103.57	7.01	77.71	3.90
776	966	70.23	0.44	56.96	2.00
777	967	26.87	2.25	48.77	3.13
778	968	48.67	1.24	46.70	0.81
779	969	110.30	0.88	115.21	10.85
780	970	132.73	0.00	126.35	1.37
781	971	114.50	2.07	87.77	11.57
782	972	104.57	0.82	113.05	1.83
783	973	27.51	0.68	33.33	1.41
784	974	16.25	0.78	25.93	3.90
785	975	90.20	4.55	66.84	7.52
786	976	63.15	1.20	60.61	3.09
787	977	68.93	4.67	48.44	4.13
788	978	10.25	0.46	12.13	0.16
789	979	15.84	0.09	21.17	0.36
790	980	100.54	4.78	66.60	2.70

反义 SEQ ID NO:	有义 SEQ ID NO:	在 20 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV	在 0.2 nM 下的% UNT KCNT1 mRNA 表 达	STDEV
791	981	35.84	2.04	30.72	0.25
792	982	9.78	0.83	11.67	ND

[0529] 实施例2. 本公开的siRNA分子的IC50测定

[0530] 为了进行化合物效力分析,用浓度为10fM至100nM的KCNT1siRNA主动转染HEK-KCNT1细胞,并计算IC50。在裂解和下游分析之前对细胞进行siRNA给药72小时。使用上述方法测定表达。在该测定法中测试具有SEQ ID NO:19的反义链和SEQ ID NO:237的有义链的siRNA分子。确定IC50为0.0415。IC50曲线示于图1中。

[0531] 实施例3. 生成靶向KCNT1的siRNA分子

[0532] 本公开的siRNA分子可通过本领域已知的标准方法合成,如下文进一步讨论的,例如通过使用自动DNA合成仪,诸如可从例如Biosearch, Applied Biosystems, Inc. 商购获得的。

[0533] siRNA试剂可以使用溶液相或固相有机合成或两者来制备。有机合成提供的优点是可以容易地制备包括非天然或修饰的核苷酸的寡核苷酸。上表1中示出了siRNA分子的具体实例和有义链和反义链的核苷酸序列,以及钠活化钾通道亚家族T成员1 (KCNT1)mRNA靶序列。可以理解的是,本领域技术人员可以将反义(AS)链与相应的有义(S)链退火以产生ds-siRNA分子。可替代地,本领域技术人员可以仅使用反义链来获得ss-siRNA分子。

[0534] 实施例4. 优化靶向KCNT1的siRNA分子

[0535] 对于本文公开的任何小干扰RNA (siRNA) 试剂,预期对siRNA的修饰可进一步优化分子的功效或生物物理特性(例如,增加血清稳定性或循环半衰期、增加热稳定性、增强跨膜递送和/或靶向特定位置或细胞类型)。此类优化可以通过系统地添加或去除连接的核苷以生成更长或更短的序列来实现。进一步的siRNA优化可以包括并入例如一个或多个替代核苷、替代2'糖部分和/或替代核苷间键联。此外,此类优化的siRNA分子可以包括在5'和/或3'末端引入疏水部分和/或稳定部分。

[0536] 用替代核苷进行siRNA优化

[0537] 本公开的siRNA分子的优化包括以下核苷修饰中的一种或多种:5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基衍生物和其他烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基衍生物和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶和胞嘧啶以及嘧啶碱基的其他炔基衍生物、6-偶氮基尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代、8-氨基、8-巯基、8-硫烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤代(具体为5-溴)、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基-腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮腺嘌呤。siRNA分子还可包括其中嘌呤或嘧啶碱

基被其他杂环例如7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤、2-氨基吡啶和/或2-吡啶酮置换的核碱基。本公开的siRNA分子的进一步优化可以包括以下文献中公开的核碱基:US 3,687,808; Kroschwitz, J.I. 编辑; The Concise Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, New York, John Wiley & Sons, 1990, 第858-859页; Englisch等人, Angewandte Chemie, 国际版, 30:613, 1991; 以及Sanghvi, Y.S., 第16章, Antisense Research and Applications, CRC Press, Gait, M.J. 编辑, 1993, 第289-302页。

[0538] 用替代糖修饰进行siRNA优化

[0539] 本公开的siRNA分子的优化可以包括以下2'糖修饰中的一种或多种:2'-O-甲基(2'-O-Me)、2'-甲氧基乙氧基(2'-O-CH₂CH₂OCH₃, 也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)、2'-二甲基氨基氧基乙氧基(即O(CH₂)₂ON(CH₃)₂基团, 也称为2'-DMAOE), 和/或2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基(在本领域中也称为2'-O-二甲基氨基-乙氧基-乙基或2'-DMAEOE), 即2'-O-CH₂OCH₂N(CH₃)₂。可以优化本公开的siRNA分子的其他可能的2'-修饰包括所有可能取向的OH; F; O-烷基、S-烷基或N-烷基; O-烯基、S-烯基或N-烯基; O-炔基、S-炔基或N-炔基; 或O-烷基-O-烷基, 其中烷基、烯基和炔基可以是经取代或未取代的C1至C10烷基或C2至C10烯基和炔基。其他可能的糖取代基基团包括例如氨基丙氧基(-OCH₂CH₂CH₂NH₂)、烯丙基(-CH₂-CH=CH₂)、-O-烯丙基(-O-CH₂-CH=CH₂)和氟(F)。2'-糖取代基可以位于阿拉伯糖(上)位置或核糖(下)位置。在一些实施方案中, 2'-阿拉伯糖修饰是2'-F。还可在siRNA分子上的其他位置上进行类似的修饰, 具体地在3'末端核苷上或在2'-5'连接的寡核苷酸中的糖的3'位置和5'末端核苷酸的5'位置。寡核苷酸还可具有糖模拟物诸如环丁基部分来代替戊呋喃糖基糖。

[0540] 用替代核苷间键联进行siRNA优化

[0541] 本公开的siRNA分子的优化包括以下核苷间修饰中的一种或多种:硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯(包括3'-亚烷基磷酸酯、5'-亚烷基磷酸酯)、亚磷酸酯、氨基磷酸酯(包括3'-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯)、硫代氨基磷酸酯、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酯、硒代磷酸酯和具有正常3'-5'键联的硼代磷酸酯、这些的2'-5'连接类似物以及具有反极性的那些, 其中一个或多个核苷酸间键联为3'至3'、5'至5'或2'至2'键联。

[0542] 用疏水部分进行siRNA优化

[0543] 本公开的siRNA分子的优化可以包括共价衔接至5'末端或3'末端的疏水部分。适合与本公开的siRNA分子一起使用的疏水部分的非限制性实例可包括胆固醇、维生素D、生育酚、磷脂酰胆碱(PC)、二十二碳六烯酸、二十二烷酸、PC-二十二烷酸、二十碳五烯酸、石胆酸或上述疏水部分与PC的任何组合。

[0544] 用稳定部分进行siRNA优化

[0545] 本公开的siRNA分子的优化可以包括保护siRNA分子免于降解的5'-磷稳定部分。5'-磷稳定部分置换5'-磷酸盐以防止磷酸盐水解。5'-磷酸盐的水解防止与RISC的结合, 这是基因沉默的必要步骤。本公开中考虑了任何不妨碍与RISC结合的磷酸盐置换。在一些实施方案中, 5'-磷酸的替代品对体内水解也是稳定的。每条siRNA链可以独立地并且任选地采用任何合适的5'-磷稳定部分。适合与本公开的siRNA分子一起使用的5'稳定部分的非限制性实例可以包括上文式IX-XVI所示的那些。

[0546] 用分支siRNA进行siRNA优化

[0547] 本公开的siRNA分子的优化可以包括并入分支模式,例如通过接头连接的二分支、三分支或四分支siRNA。每个主分支可以进一步分支以允许2、3、4、5、6、7或8条单独的RNA单链或双链。接头上的分支点可以源自同一原子,或沿着接头的单独原子。上表2中列出了一些示例性实施方案。

[0548] 本公开的siRNA组合物可以优化为以下形式:二分支siRNA分子,如式XVII-XIX中的任一个所表示;三分支siRNA分子,如式XX-XXIII中的任一个所表示;和/或四分支siRNA分子,如式XXIV-XXVIII中的任一个所表示,其中每个RNA独立地是siRNA分子,L是接头,并且每个X独立地表示分支点部分(例如,亚磷酰胺、甲苯磺酰化丙酮缩甘油、1,3-二氨基丙醇、季戊四醇、或US10,478,503中描述的分支点部分中的任一种)。

[0549] 实施例5.制备和施用靶向KCNT1的siRNA分子

[0550] 本公开中的siRNA分子可以配制成药物组合物,以适合体内施用的生物相容形式施用于受试者。例如,本公开的siRNA分子可以在合适的稀释剂、载体或赋形剂中施用,并且还可以含有防腐剂,例如,以防止微生物的生长。用于选择和制备合适制剂的常规程序和成分例如在Remington, J.P. The Science and Practice of Pharmacy, Easton, PA. Mack Publishers, 2012, 第22版和The United States Pharmacopeial Convention, The National Formulary, United States Pharmacopeial, 2015, USP 38NF 33) 中有描述。

[0551] 本公开的方法涵盖了本公开的siRNA组合物耐受的向受试者的CNS施用的任何途径。siRNA向CNS注射的非限制性实例包括鞘内注射、脑室内注射或通过导管插入在小脑延髓池内注射。具有本领域普通技术的医师可以容易地确定有效的施用途径。

[0552] 实施例6.使用靶向KCNT1的siRNA分子治疗癫痫的方法

[0553] 需要治疗癫痫和/或癫痫相关表型(例如,癫痫发作、唇周发绀、潮红、呼吸暂停、张力亢进、肺出血或心律失常)的受试者用一定剂量的本公开的siRNA分子或siRNA组合物(配制成盐),以从业者确定的频率进行治疗。本领域普通技术的医师可以容易地确定向有需要的哺乳动物受试者(例如,人)施用的siRNA分子的有效量。例如,医师可以以低于获得期望治疗效果所需要的水平开始本公开siRNA分子之一的处方剂量,并逐渐增加剂量直至实现期望效果。可替代地,医师可以通过施用高剂量的本公开的siRNA分子之一来开始治疗方案,并且随后逐渐施用较低的剂量,直至达到产生治疗效果(例如, KCNT1 mRNA或合适生物标志物的表达减少)的最小剂量。一般而言,本公开的siRNA分子之一的合适日剂量将是有效产生治疗效果的最低剂量的量。本公开的ss-或ds-siRNA分子可以通过注射施用,例如经鞘内、脑室内或经由导管插入在小脑延髓池内注射施用。本公开的siRNA分子之一的治疗组合物的日剂量可以作为单剂量施用,或者作为在一天、一周、一个月或一年中以适当的间隔单独施用的两个、三个、四个、五个、六个或更多个剂量来施用,任选地,以单位剂型施用。虽然本公开的siRNA分子之一可以单独施用,但它也可以作为与赋形剂、载体和任选地另外的治疗剂组合的药物制剂施用。剂量和频率根据受试者的身高、体重、年龄、性别和其他病症来确定。

[0554] 本公开的siRNA分子由从业者根据与受试者的相容性来选择。有单链或双链siRNA分子(例如,非分支siRNA、二分支siRNA、三分支siRNA、四分支siRNA)可供选择。选择的siRNA分子具有反义链,并且可以具有有义链,有义链具有的序列和RNA修饰(例如天然和非

天然核苷间键联、经修饰的糖、5'-磷稳定部分、疏水不分和/或分支结构) 最适合患者。

[0555] 通过最适合患者(例如,经鞘内、脑室内或通过导管插入在小脑延髓池内注射)和病状的途径以患者可耐受的速率递送siRNA分子,直至受试者达到最大耐受剂量,或直至症状得到满意改善。

[0556] 其他实施方案

[0557] 本说明书中所提及的所有出版物、专利和专利申请以引用的方式并入本文,其引用的程度犹如每个独立的出版物或专利申请被具体地和单独地指出以引用的方式并入。

[0558] 尽管本发明已经结合其具体的实施方案进行了描述,但应当了解能够对它进行进一步的修改并且本申请旨在涵盖任何基本根据本发明的原理而对本发明进行的变动、使用或适应性调整,并且包括虽然不属于本发明但属于本发明所属领域的已知或习用实施手段的和属于上文所述的实质特征的以及符合权利要求范围内的变更。

[0559] 其他实施方案在权利要求内。

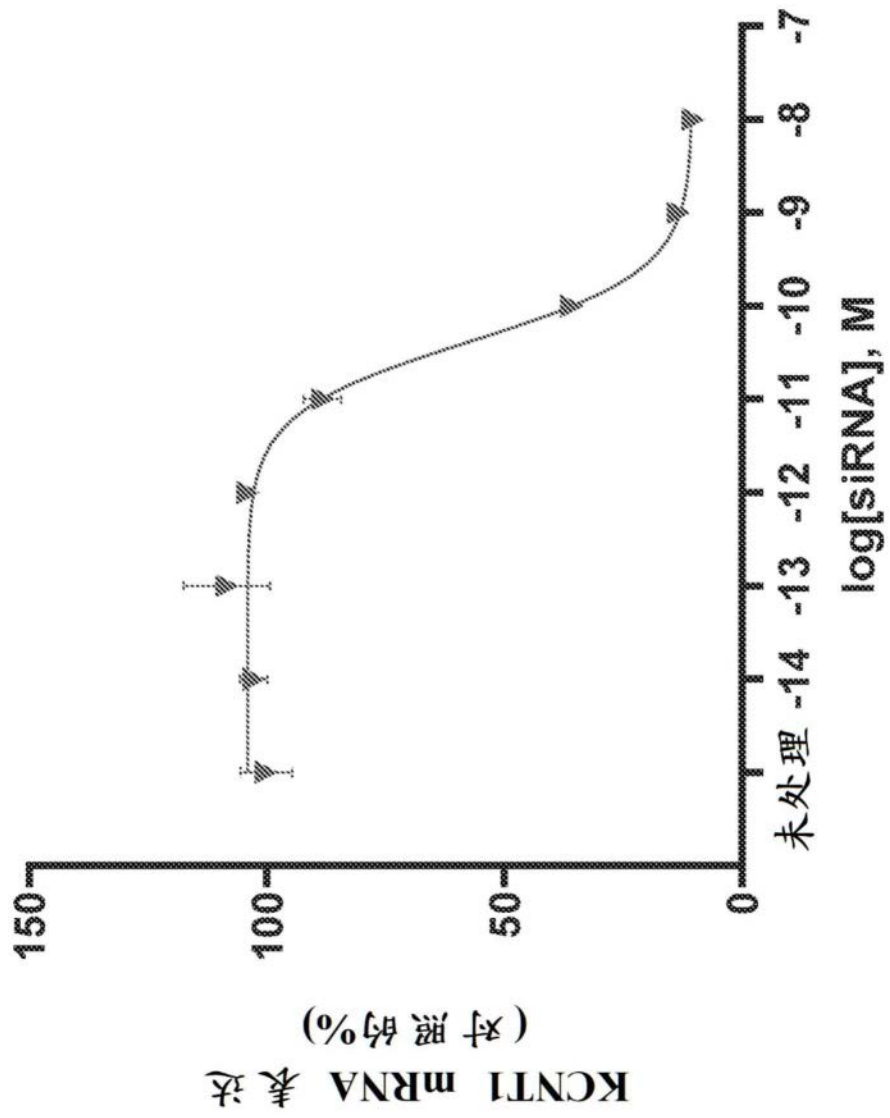


图1