



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115210377 A

(43) 申请公布日 2022. 10. 18

(21) 申请号 202180018024.8

(22) 申请日 2021.02.26

(30) 优先权数据

62/983,742 2020.03.01 US

63/111,071 2020.11.08 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.31

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/019874 2021.02.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/178237 EN 2021.09.10

(71) 申请人 波涛生命科学有限公司

地址 新加坡新加坡城

(72) 发明人 阿比·马德琳·马圭尔

普里扬卡·希瓦·波拉卡莎

岩本直树 肯尼斯·艾伦·隆戈

钱德拉·瓦尔格赛 凯文·金

埃琳娜·达勒

帕查穆图·坎德萨米 清水护

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

专利代理师 张福誉 刘振佳

(51) Int.Cl.

G12N 15/113 (2006.01)

A61K 31/7125 (2006.01)

A61K 31/712 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

G08H 21/04 (2006.01)

A61K 31/7115 (2006.01)

权利要求书9页 说明书145页

(54) 发明名称

寡核苷酸组合物及其方法

(57) 摘要

除其他事项外,本披露提供了用于预防和/或治疗各种病症、障碍或疾病的寡核苷酸、组合物和方法。在一些实施例中,提供的技术包含核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰和/或其模式,并且具有改善的特性、活性和/或选择性。在一些实施例中,所提供的技术靶向MAPT。在一些实施例中,本披露提供了用于预防和/或治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病,例如阿尔茨海默病(AD)或额颞叶痴呆(FTD)的MAPT寡核苷酸、组合物和方法。

1. 一种寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT基因或其转录物的碱基序列相同或互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基, 其中该寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖、一个或多个经修饰的核碱基、和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联。

2. 如权利要求1所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT转录物互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

3. 如权利要求1所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT mRNA互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

4. 如权利要求1所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT RNA的内含子11互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

5. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列包含以下序列的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个连续碱基: ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、GTGTTCCTACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU, 其中每个T可以独立地被U取代, 并且反之亦然。

6. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含约20个核碱基, 这些核碱基各自独立地选自任选地取代的A、T、C、G、U及其互变异构体。

7. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含5'-翼-核心-翼-3'部分, 其中该5'-翼和该3'-翼各自独立地包含两个或更多个经修饰的糖。

8. 如权利要求7所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含各自独立地包含2'-OR的两个或更多个糖, 其中R是任选地取代的C₁₋₄脂肪族。

9. 如权利要求8所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。

10. 如权利要求7-9中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼中的每个糖包含2'-修饰的糖。

11. 如权利要求7-10中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼中每个糖包含相同的修饰。

12. 如权利要求7-11中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含4、5、或7个核苷。

13. 如权利要求7-12中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

14. 如权利要求7-13中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。

15. 如权利要求7-14中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'-翼包含一个或多个天然磷酸酯键联。

16. 如权利要求7-15中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'-翼包含各自独立地包含2'-

OR的两个或更多个糖,其中R是任选地取代的C₁₋₄脂肪族。

17.如权利要求7-16中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼的糖修饰模式与该3'-翼的糖修饰模式不同。

18.如权利要求7-17中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含该5'-翼中不存在的糖修饰。

19.如权利要求7-18中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。

20.如权利要求7-19中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼中的每个糖包含2'-修饰的糖。

21.如权利要求7-20中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼中的每个糖包含相同的修饰。

22.如权利要求7-21中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含4、5、或7个核苷。

23.如权利要求7-22中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

24.如权利要求7-23中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。

25.如权利要求7-24中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个天然磷酸酯键联。

26.如权利要求7-25中任一项所述的寡核苷酸,其中5'-翼中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

27.如权利要求7-26中任一项所述的寡核苷酸,其中3'-翼中每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

28.如权利要求7-27中任一项所述的寡核苷酸,其中5'-翼中每个非带负电荷的核苷酸间键联是n001。

29.如权利要求7-28中任一项所述的寡核苷酸,其中3'-翼中的每个非带负电荷的核苷酸间键联是n001。

30.如权利要求28-29中任一项所述的寡核苷酸,其中该n001是Rp。

31.如权利要求7-30中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心不包含2'-OR糖修饰,其中R是任选地经取代的C₁₋₄脂肪族。

32.如权利要求7-31中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心中每个糖是天然DNA糖(包含两个2'-H)。

33.如权利要求7-32中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心包含约7、8、9、10或11个核苷。

34.如权利要求7-33中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心中键合到核苷的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

35.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含[(Rp)_n(Sp)_m]_y,其中n、m、和y各自独立地是1-25。

36.如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含(Sp)_t[(Rp)_n(Sp)_m]_y,其中t、n、m和y各自独立地1-25。

37. 如权利要求7-36中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心的骨架手性中心模式是或包含 $[(Rp) n (Sp) m]_y$,其中n、m、和y各自独立地是1-25。

38. 如权利要求7-37中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心的骨架手性中心模式是或包含 $(Sp) t [(Rp) n (Sp) m]_y$,其中t、n、m、和y各自独立地是1-25。

39. 如权利要求35-38中任一项所述的寡核苷酸,其中至少一个n是1。

40. 如权利要求35-39中任一项所述的寡核苷酸,其中每个n是1。

41. 如权利要求35-40中任一项所述的寡核苷酸,其中每个m独立地是2-25。

42. 如权利要求35-41中任一项所述的寡核苷酸,其中y是1。

43. 如权利要求35-42中任一项所述的寡核苷酸,其中y是2-5。

44. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与MAPT转录物中的碱基序列约90%-100%互补。

45. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、GTGTTCCACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUC、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

46. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCACTATCCTCCUUC,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

47. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCACTATCCTCCUUC。

48. 一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-26758、WV-26759、WV-29875、WV-29876、WV-29877、WV-29878、WV-29879、WV-29880、WV-29881、WV-29882、WV-29883、WV-29884、WV-29885、WV-29886、WV-29887、WV-29888、WV-30672、WV-30673、WV-30674、WV-30970、WV-30971、WV-30972、WV-30973、WV-30974、WV-30975、WV-30976、WV-30977、WV-30978、WV-30979、WV-30980、WV-30981、WV-30982、WV-30983、WV-30984、WV-30985、WV-30986、WV-30987、WV-30988、WV-30989、WV-30990、WV-30991、WV-30992、WV-30993、WV-30994、WV-30995、WV-30996、WV-30997、WV-30998、WV-30999、WV-31000、WV-31001、WV-31002、WV-31003、WV-31004、WV-31005、WV-31006、WV-31007、WV-31008、WV-31009、WV-31010、WV-31011、WV-31012、WV-31013、WV-31014、WV-31015、WV-31016、WV-31017、WV-31018、WV-31019、WV-31020、WV-31021、WV-31022、WV-31023、WV-31024、WV-31025、WV-31026、WV-31027、WV-31028、WV-31029、WV-31030、WV-31031、WV-31032、WV-31033、WV-31034、WV-31035、WV-31036、WV-31037、WV-31038、WV-31039、WV-31040、WV-31041、WV-31042、WV-31043、WV-31044、WV-31045、WV-31046、WV-31048、WV-31049、WV-31050、WV-31051、WV-31052、WV-32808、WV-32809、WV-32810、WV-32811、WV-32812、WV-32813、WV-32814、WV-32815、WV-32816、WV-32817、WV-32818、WV-32819、WV-32820、WV-32821、WV-32822、WV-

32823、WV-32824、WV-32825、WV-32826、WV-32827、WV-33008、WV-33009、WV-33010、WV-33011、WV-33012、WV-33013、WV-33014、WV-33015、WV-33016、WV-33017、WV-33018、WV-33019、WV-33020、WV-33021、WV-33022、WV-33023、WV-33024、WV-33025、WV-33026、WV-33027、WV-33028、WV-33029、WV-33030、WV-33031、WV-33032、WV-33033、WV-33034、WV-33035、WV-33036、WV-33037、WV-33038、WV-33039、WV-33040、WV-33041、WV-33042、WV-33043、WV-33044、WV-33045、WV-33046、WV-33047、WV-33048、WV-33049、WV-33050、WV-33051、WV-33052、WV-33053、WV-33054、WV-33055、WV-33056、WV-33057、WV-33058、WV-33059、WV-33060、WV-33061、WV-33062、WV-33063、WV-33064、WV-33065、WV-33066、WV-33067、WV-33068、WV-33069、WV-33070、WV-33071、WV-33072、WV-33073、WV-33074、WV-33075、WV-33076、WV-33077、WV-33078、WV-33079、WV-33080、WV-33081、WV-33082、WV-33083、WV-33084、WV-33085、WV-33086、WV-33087、WV-33088、WV-33089、WV-33090、WV-36875、WV-36876、WV-36877、WV-37299、WV-37300、WV-37301、WV-37302、WV-37303、WV-37304、或WV-37305。

49. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29883。
50. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32823。
51. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29876。
52. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32824。
53. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32826。
54. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29884。
55. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29886。
56. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29877。
57. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32816。
58. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32817。
59. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29878。
60. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29887。
61. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32827。
62. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-32825。
63. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29885。
64. 如权利要求48所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-29882。
65. 如权利要求48-64中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈盐形式。
66. 如权利要求48-64中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。
67. 如权利要求66所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈钠盐形式。
68. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约60%-100%的非对映异构体纯度。
69. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有至少约60%的非对映异构体纯度。
70. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中在施用至包含MAPT转录物的系统时,该寡核苷酸能够降低该MAPT转录物的水平、表达和/或活性。

71. 一种药物组合物, 该药物组合物递送或包含如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸和药学上可接受的载体。

72. 如权利要求71所述的组合物, 该组合物递送或包含该寡核苷酸的药学上可接受的盐。

73. 如权利要求71-72中任一项所述的组合物, 其中该组合物包含该寡核苷酸的两种或更多种形式。

74. 如权利要求71-73中任一项所述的组合物, 其中该组合物是包含该寡核苷酸的一种或多种溶解的药学上可接受的盐形式的水性组合物。

75. 一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列, 和

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

其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地靶向MAPT。

76. 一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列, 和

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

其中相对于共享该共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂, 该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

77. 一种包含特定寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物, 该寡核苷酸的特征在于:

a) 共同的碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同的骨架手性中心模式;

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含至少一个核苷酸间键联, 该核苷酸间键联包含 S_p 构型的共同键联磷;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂, 该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸; 以及

其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地靶向MAPT。

78. 如权利要求75-76中任一项所述的组合物, 其中在施用至包含MAPT转录物的系统时, 该寡核苷酸能够降低该MAPT转录物的水平、表达和/或活性。

79. 如权利要求75-78中任一项所述的组合物, 其中该寡核苷酸与MAPT转录物中的位点杂交。

80. 如权利要求75-79中任一项所述的组合物, 其中该寡核苷酸包含第一翼、核心、和第

二翼。

81. 如权利要求75-80中任一项所述的组合物,其中该第一翼的糖修饰模式与该第二翼的糖修饰模式不同。

82. 如权利要求75-81中任一项所述的组合物,其中该核心的核苷单元不包含糖修饰。

83. 如权利要求75-82中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸靶向MAPT内含子11。

84. 如权利要求75-82中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸靶向MAPT内含子11并且该寡核苷酸具有包含以下碱基序列的至少10个连续碱基的碱基序列: ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCACTATCCUCCU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCACTATCCUCC、GTGTTCCACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUCA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

85. 一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列,和

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

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求1-67中任一项所述的寡核苷酸。

86. 一种包含特定寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物,该寡核苷酸的特征在于:

a) 共同的碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同的骨架手性中心模式;

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含至少一个核苷酸间键联,该核苷酸间键联包含 S_p 构型的共同键联磷;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸;以及

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求1-67中任一项所述的寡核苷酸。

87. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地在5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25或更多个核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

88. 如权利要求75-76中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是具有相同构造的寡核苷酸,任选地呈一种或多种盐形式。

89. 如权利要求75-88中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

90. 如权利要求75-89中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

91. 如权利要求75-90中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是相同酸形式寡核苷酸的一种或多种药学上可接受的盐。

92. 如权利要求75-91中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同的结构。

93. 如权利要求75-92中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是钠盐。

94. 如权利要求75-93中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸独立地在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

95. 如权利要求75-93中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地在每个手性键联磷处共享相同的键联磷立体化学。

96. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求48所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

97. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求49所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

98. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求50所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

99. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求51所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

100. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求52所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

101. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求53所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

102. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求54所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

103. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求55所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

104. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求56所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

105. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求57所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

106. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求58所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

107. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求59所述的寡核苷酸, 任选地呈药学上可接受的盐形式。

108. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各

自独立地是如权利要求60所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

109. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求61所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

110. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求62所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

111. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求63所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

112. 如权利要求75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如权利要求64所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

113. 如权利要求75-112中任一项所述的组合物,其中该组合物中的共享共同的碱基序列的非随机水平的所有寡核苷酸是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

114. 如权利要求75-113中任一项所述的组合物,其中该组合物中的共享相同构造的非随机水平的所有寡核苷酸是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

115. 如权利要求113-114中任一项所述的组合物,其中该非随机水平是约40%-100%,或约40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

116. 一种药物组合物,该药物组合物包含或递送本披露的寡核苷酸或如权利要求75-115中任一项所述的组合物、和药学上可接受的载体。

117. 一种用于制备如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使用手性助剂。

118. 如权利要求117所述的方法,该方法包括使用包含手性助剂部分的亚磷酰胺。

119. 如权利要求117-118中任一项所述的方法,其中手性助剂是DPSE。

120. 如权利要求117-119中任一项所述的方法,其中手性助剂是PSM。

121. 如权利要求117-120中任一项所述的方法,其中其键联磷与氮键合的每个手性受控的核苷酸间键联是使用PSM独立地制备的。

122. 如权利要求117-121中任一项所述的方法,其中每个手性受控的n001是使用PSM独立地制备的。

123. 如权利要求117-122中任一项所述的方法,其中每个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联是使用DPSE独立地制备的。

124. 如权利要求117-118中任一项所述的方法,其中每个手性受控的核苷酸间键联是使用PSM独立地制备的。

125. 一种用于降低tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法,该方法包括使该蛋白与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

126. 一种用于降低tau细胞内聚集的方法,该方法包括使该蛋白与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

127. 一种用于降低tau扩散的方法,该方法包括使该蛋白与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

128. 一种用于降低tau细胞内聚集和扩散的方法,该方法包括使该蛋白与如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

129. 一种用于降低系统中tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法,该方法包括向该系

统施用有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

130. 一种用于降低系统中tau细胞内聚集的方法,该方法包括向该系统施用有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

131. 一种用于降低系统中tau扩散的方法,该方法包括向该系统施用有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

132. 一种用于降低系统中tau细胞内聚集和扩散的方法,该方法包括向该系统施用有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

133. 如权利要求129-132中任一项所述的方法,其中系统是人类。

134. 一种用于在患有或易患MAPT相关的病症、障碍或疾病或其症状的受试者中治疗或预防MAPT相关的病症、障碍或疾病或其症状的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

135. 一种用于在患有或易患神经退行性疾病的受试者中治疗或预防神经退行性疾病的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

136. 一种用于在患有或易患tau蛋白病的受试者中治疗或预防tau蛋白病的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

137. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是阿尔茨海默病(AD)。

138. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是额颞叶痴呆(FTD)。

139. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是行为变异型FTD(bvFTD)。

140. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)。

141. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是皮质基底节变性(CBD)。

142. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是进行性核上性麻痹(PSP)。

143. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是癫痫。

144. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是Dravet综合征。

145. 如权利要求134-136中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是慢性创伤性脑病变(CTE)。

146. 一种化合物、寡核苷酸、组合物和方法,其在说明书或实施例1-145中描述。

寡核苷酸组合物及其方法

相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求于2020年3月1日提交的美国临时申请系列号62/983,742、以及于2020年11月8日提交的美国临时申请系列号63/111,071的优先权,其各自的全部内容通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本披露尤其提供了寡核苷酸、组合物、及其方法(例如制备方法、使用方法等)。在一些实施例中,提供的技术可用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,包括多种神经退行性障碍。

背景技术

[0003] 寡核苷酸可用于多种应用,例如治疗、诊断和/或研究应用。例如,靶向多种基因的寡核苷酸可用于治疗与此类靶基因有关的病症、障碍或疾病。

发明内容

[0004] 在一些实施例中,本披露提供了具有显著改善的特性和/或高活性的MAPT寡核苷酸及其组合物。除其他事项外,本披露提供了用于设计、制造和利用此类寡核苷酸和组合物的技术。特别地,在一些实施例中,本披露提供了包含核苷酸间键联的有用模式和/或糖修饰的模式寡核苷酸,当与一种或多种其他结构元件例如碱基序列(或其部分)、核苷修饰(及其模式)、另外的化学部分等组合时,其可以提供具有高活性和/或所需特性的MAPT寡核苷酸及其组合物,包括但不限于有效和足够地降低MAPT转录物和由此编码的产物的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸和组合物降低MAPT转录物的水平,并且可用于治疗和/或预防与MAPT相关的病症、障碍或疾病,例如阿尔茨海默病(AD)和额颞叶痴呆(FTD)。

[0005] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导MAPT的敲低,其中MAPT或其产物的水平、表达和/或活性降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导MAPT的泛特异性敲低,其中多个或所有MAPT等位基因的水平、表达和/或活性降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有与多个或所有MAPT等位基因中共有的序列互补的碱基序列。

[0006] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列的序列段(例如10-20个,或10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个连续碱基):
ACGTTGCAGTGTTCCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCACTATCCUCCUU、
ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、
CAGTGTTCCACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、
CGTTGCAGTGTTCCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCACTATCCUCC、
GTGTTCCACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUCCACTATCCTCCTTC、
TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCACTAUCCUC、

TGTTCCACTATCCTCCUUCA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTAUCU,或其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列是这样的序列。

[0007] 本披露尤其证实,控制MAPT寡核苷酸的结构元件可对寡核苷酸特性和/或活性具有显著影响,包括MAPT(或其产物)的敲低(例如,活性、表达和/或水平的降低)。在一些实施例中,MAPT的敲低是由影响翻译和/或干扰mRNA成熟的RNA酶H和/或空间位阻所介导的。在一些实施例中,通过涉及RNA干扰或剪接调节的机制介导MAPT的敲低。在一些实施例中,MAPT的敲低可以通过多种机制进行。在一些实施例中,寡核苷酸的受控结构元件包括但不限于:碱基序列、化学修饰(例如糖、碱基和/或核苷酸间键联的修饰)或其模式,立体化学(例如手性核苷酸间键联中键联磷的立体化学)或其模式的改变,第一或第二翼或核心的结构,和/或与另外的化学部分(例如碳水化合物部分、靶向部分等)的缀合。特别地,在一些实施例中,本披露表明控制骨架手性中心的立体化学(键联磷的立体化学),任选地控制寡核苷酸设计的其他方面,可以极大地改善MAPT寡核苷酸的特性和/或活性。

[0008] 在一些实施例中,本披露是关于经由任何机制起作用且包含本文中所描述的任何序列、结构或形式(或其部分)的任何MAPT寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含碱基、糖或核苷酸间键联的至少一个非天然存在修饰。

[0009] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸包含至少一个手性受控的核苷酸间键联,例如核苷酸间键联,其键联磷在Rp或Sp构型或富含Rp或Sp构型(例如组合物中相同碱基序列的所有寡核苷酸中的约70%-100%(例如约85%-100%、90%-100%、95%-100%、或约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)在键联磷处共享相同的立体化学),而不是Rp和Sp的随机混合物。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联也称为“立体定义的(或立体受控的或手性受控的)核苷酸间键联”。在一些实施例中,这样的寡核苷酸组合物被称为“立体定义的(或立体受控的或手性受控的)寡核苷酸组合物”。在一些实施例中,至少1个核苷酸间键联是手性受控的核苷酸间键联且是Sp。在一些实施例中,至少1个核苷酸间键联是手性受控的核苷酸间键联且是Rp。在一些实施例中,至少1-20,例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个核苷酸间键联各自独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,包含手性键联磷的每个核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

[0010] 在一些实施例中,本披露提供了一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT基因或其转录物的碱基序列相同或互补的碱基序列的至少10个连续碱基,其中该寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸间键联(不是天然磷酸酯键联的核苷酸间键联(可能以各种盐形式存在)),并且其中寡核苷酸能够降低MAPT靶基因或其基因产物的水平、表达和/或活性。

[0011] 在一些实施例中,本披露涉及MAPT寡核苷酸组合物,其中该MAPT寡核苷酸包含至少一个非手性受控的手性核苷酸间键联(例如核苷酸间键联是立体随机的)。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联是非带负电荷的核苷酸间键联,例如n001。

[0012] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含非带负电荷的或中性的核苷酸间键联。

[0013] 在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含另外的化学部分,例如碳水化合物部分,靶向部分等。在一些实施例中,当掺入到寡核苷酸中时,这样的部分可以改善一种或多种特性和/或活性。

[0014] 在一些实施例中,本披露提供了一种手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其包含多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列;

2) 共同的骨架键联模式;以及

3) 共同的骨架手性中心模式,该组合物是基本上纯的单一寡核苷酸制剂,因为该组合物中非随机或受控水平的寡核苷酸具有共同的碱基序列、共同的骨架键联模式及共同的骨架手性中心模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸包含糖修饰的共同模式、碱基修饰的共同模式(如果有的话)、和共同的另外的化学部分(如果有的话)。

[0015] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸组合物是包含多种特定寡核苷酸类型的寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,该组合物是手性受控的,因为相对于具有相同碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂而言,该组合物富集特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸(例如,具有是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列的序列段的MAPT:本文披露的碱基序列的至少15个连续碱基)是立体随机的(或非手性受控的)。

[0016] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个嵌段。在一些实施例中,嵌段包含一个或多个连续核苷、和/或核苷酸、和/或糖、或碱基、和/或核苷酸间键联,它们共享共同的化学(例如至少一个糖、碱基或核苷酸间键联的共同的修饰,或其组合或模式,或立体化学的模式),这些在相邻嵌段中是不存在的,或者反之亦然。在一些实施例中,嵌段是翼或核心。

[0017] 在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个部分,例如,至少一个翼和至少一个核心。在一些实施例中,翼在结构上与核心不同,寡核苷酸的翼包含不存在于核心中的结构[例如,立体化学或在糖、碱基或核苷酸间键联的化学修饰(或其模式)等],或者反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的结构包含翼-核心-翼结构。在一些实施例中,寡核苷酸的结构包含翼-核心-翼结构,其中一个翼在结构[例如立体化学、另外的化学部分,或糖、碱基或核苷酸间键联处的化学修饰(或其模式)]上不同于另一个翼及核心(例如,不对称寡核苷酸)。在一些实施例中,寡核苷酸的结构具有或包含翼-核心、核心-翼或翼-核心-翼结构,且嵌段是翼或核心。在一些实施例中,核心称为缺口。

[0018] 在一些实施例中,翼包含在核心中不存在的糖修饰或其模式。在一些实施例中,翼包含在核心中不存在的糖修饰。在一些实施例中,翼中的每个糖是相同的。在一些实施例中,翼中的至少一个糖不同于翼中的另一个糖。在一些实施例中,寡核苷酸的第一翼(例如5'翼)中的一个或多个糖修饰和/或糖修饰的模式不同于在寡核苷酸的第二翼(例如3'翼)中的一个或多个糖修饰和/或糖修饰的模式。在一些实施例中,修饰是2'-OR修饰,其中R如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的C₁₋₄烷基。在一些实施例中,修饰是2'-OMe。在一些实施例中,修饰是2'-MOE。在一些实施例中,经修饰的糖是高亲和力糖,例如双环糖(例如,LNA糖),2'-MOE等。在一些实施例中,5'-翼包含2-MOE修饰。在一些实施例中,每个5'-翼糖是2'-MOE修饰的。在一些实施例中,3'-翼包含2-OMe修饰。在一些实施例中,每个3'-翼糖是2'-OMe修饰的。

[0019] 在一些实施例中,连接翼核苷和核心核苷的核苷酸间键联被认为是核心的一部分。在一些实施例中,连接翼核苷和核心核苷的核苷酸间键联被认为是翼的一部分。

[0020] 在一些实施例中,翼包含一个或多个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,如本文所证明的,包含含有非带负电荷的核苷酸间键联的翼的寡核苷酸可以递送高活性和/或选择性。

[0021] 在一些实施例中,核心糖是天然DNA糖,其在2'位不包含取代(在2'-碳处是两个-H)。在一些实施例中,每个核心糖是天然DNA糖,其在2'位不包含取代(在2'-碳处是两个-H)。

[0022] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸或MAPT寡核苷酸组合物可用于在有需要的受试者中预防或治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向患有该病症、障碍或疾病的受试者或该病症、障碍或疾病的受试者施用治疗有效量的所提供的寡核苷酸,或可以递送或包含治疗有效量的所提供的寡核苷酸的药物组合物。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,该药物组合物包含所提供的MAPT寡核苷酸和药学上可接受的载体。在一些实施例中,药物组合物中的寡核苷酸呈一种或多种药学上可接受的盐形式,例如钠盐形式、铵盐形式等。

[0023] 在一些实施例中,寡核苷酸或寡核苷酸组合物可用于制造药物,该药物用于预防或治疗有需要的受试者的与MAPT相关的病症、障碍或疾病,例如阿尔茨海默病(AD)和额颞叶痴呆(FTD)。

[0024] 可以利用所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)来预防和/或治疗与MAPT相关的多种病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是阿尔茨海默病(AD)。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是额颞叶痴呆(FTD)。

具体实施方式

[0025] 通过参考某些实施例的以下详细描述,可以更容易地理解本披露的技术。

定义

[0026] 如本文所用,除非另外指明,否则应当应用下列定义。出于本披露的目的,根据元素周期表(Periodic Table of the Elements),CAS版本,Handbook of Chemistry and Physics[化学与物理手册],第75版来鉴别化学元素。另外,有机化学的一般原理在“Organic Chemistry[有机化学]”,Thomas Sorrell,University Science Books[大学科学书籍],索萨利托(Sausalito):1999以及“March's Advanced Organic Chemistry[马奇高级有机化学]”,第5版,编者:Smith,M.B.和March,J.,约翰威利父子公司(John Wiley & Sons),纽约:2001。

[0027] 如本文在本披露中使用的,除非上下文另有明确说明,否则(i)术语“一个(a)”或“一种(an)”可以理解为是指“至少一个”;(ii)术语“或”可以理解为“和/或”;(iii)术语“含有(comprising)”,“包含(comprise)”,“包括(including)”(无论是否与“不限于”一起使用)和“包括(include)”(无论是否与“不限于”一起使用)可以理解为涵盖逐项列出的组分或步骤,无论是单独显示还是与一个或多个其他组分或步骤一起显示;(iv)术语“另一个”

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

[0028] 除非另有说明, 否则寡核苷酸及其元件 (例如, 碱基序列、糖修饰、核苷酸间键联、键联磷立体化学、其模式等) 的描述是从5'至3'进行的。如本领域的技术人员将理解, 在一些实施例中, 寡核苷酸可以作为盐形式, 特别是药学上可接受的盐形式 (例如, 钠盐) 提供和/或使用。除非另有说明, 否则寡核苷酸包括多种形式的寡核苷酸。如本领域技术人员也将理解的, 在一些实施例中, 组合物中的单一寡核苷酸可被认为具有相同的构成和/或结构, 即使在这样的组合物 (例如, 液体组合物) 中, 特别地, 这样的寡核苷酸在特定时间可能处于不同的一种或多种盐形式 (并且例如在液体组合物中时, 其可以溶解并且寡核苷酸链可以阴离子形式存在)。例如, 本领域技术人员将理解, 在给定的pH下, 沿着寡核苷酸链的单个核苷酸间键联可以呈酸(H)形式, 或呈多种可能的盐形式之一 (例如, 钠盐或不同阳离子的盐, 取决于制备物或组合物中可能存在哪些离子), 并且将会理解, 只要它们的酸形式 (例如, 用 H^+ 替换所有阳离子, 如果有的话) 具有相同的构成和/或结构, 这样的单一寡核苷酸可以适当地认为具有相同的构成和/或结构。

[0029] 类似物: 术语“类似物”包括在结构上与参考化学部分或部分类别不同但能执行这种参考化学部分或部分类别的至少一种功能的任何化学部分。作为非限制性实例, 核苷酸类似物在结构上与核苷酸不同, 但能执行核苷酸的至少一种功能; 核碱基类似物在结构上与核碱基不同, 但能执行核碱基的至少一种功能; 等等。

[0030] 反义: 如本文所用, 术语“反义”是指寡核苷酸或其他核酸的特征, 该寡核苷酸或其他核酸具有与其能够杂交的靶核酸互补或基本互补的碱基序列。在一些实施例中, 靶核酸是靶基因mRNA。在一些实施例中, 杂交对于一种活性是必需的或导致一种活性, 例如, 靶核酸或其基因产物的水平、表达或活性的降低。如本文所用, 术语“反义寡核苷酸”是指与靶核酸互补的寡核苷酸。在一些实施例中, 反义寡核苷酸能够指导靶核酸或其产物的水平、表达或活性的降低。在一些实施例中, 反义寡核苷酸能够通过涉及RNA酶H、空间位阻和/或RNA干扰的机制指导靶核酸或其产物的水平、表达或活性的降低。

[0031] 手性控制: 如本文所用, “手性控制”是指控制寡核苷酸内的手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学标识。如本文所用, 手性核苷酸间键联是其键联磷为手性的核苷酸间键联。在一些实施例中, 通过寡核苷酸的糖和碱基部分中不存在的手性元件实现控制, 例如, 在一些实施例中, 通过在寡核苷酸制备期间使用一种或多种手性助剂实现控制, 如在本披露中描述的, 手性助剂通常是寡核苷酸制备期间使用的手性亚磷酰胺的一部分。与手性控制相反, 本领域普通技术人员认识到, 如果使用常规寡核苷酸合成来形成手性核苷酸间键联, 则不使用手性助剂的这样的常规寡核苷酸合成不能控制手性核苷酸间键联处的立体化学。在一些实施例中, 控制寡核苷酸内每个手性核苷酸间键联中的每个手性键联磷的立体化学标识。

[0032] 手性受控的寡核苷酸组合物: 如本文所用, 术语“手性受控的寡核苷酸组合物”、“手性受控的核酸组合物”等是指包含多个寡核苷酸 (或核酸) 的组合物, 该多个寡核苷酸 (或核酸) 共享: 1) 共同的碱基序列, 2) 共同的骨架键联模式, 以及 3) 共同的骨架磷修饰模式, 其中该多个寡核苷酸 (或核酸) 在一个或多个手性核苷酸间键联 (手性受控的或立体定义的核苷酸间键联, 其手性键联磷在组合物 (“立体定义的”) 中呈 R_p 或 S_p , 而非如同非手性

受控的核苷酸间键联一样的随机Rp和Sp混合物)处共享相同的键联磷立体化学。手性受控的寡核苷酸组合物中该多个寡核苷酸(或核酸)的水平是预定的/受控的(例如,通过手性受控的寡核苷酸制备以立体选择性地形成一个或多个手性核苷酸间键联)。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物中的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物中共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架磷修饰模式的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)是该多个寡核苷酸。在一些实施例中,水平为组合物中的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列(例如,多个寡核苷酸或一种寡核苷酸类型的碱基序列)的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架磷修饰模式的所有寡核苷酸的;或组合物中共享共同的碱基序列、共同碱基修饰模式、共同糖修饰模式、共同核苷酸间键联类型模式、和/或共同核苷酸间键联修饰模式的所有寡核苷酸的约1%-100%(例如,约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%,或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%)。在一些实施例中,多个寡核苷酸在约1-50个手性核苷酸间键联处共享相同的立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸在手性核苷酸间键联的约1%-100%处共享相同的立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸(或核酸)具有相同的构造(如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中可以以一种或多种形式存在,例如酸形式、盐形式等)。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸(或核酸)的水平为与多个寡核苷酸中的寡核苷酸(或核酸)共享相同构造的组合物中所有寡核苷酸(或核酸)的约1%-100%。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性受控的核苷酸间键联,并且组合物是完全手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)在结构上相同。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,典型地至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的非对映纯度。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联链具有至少95%的非对映纯度。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少96%的非对映纯度。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少97%的非对映纯度。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少98%的非对映纯度。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少99%的非对映纯度。在一些

实施例中,百分比(例如,本文所述的水平)是或至少是(DS)^{nc},其中DS是如本披露中所述的非对映纯度(例如,90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更高),并且nc是本披露中描述的手性受控的核苷酸间键联的数目(例如1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,百分比(例如,本文所述的水平)是或至少是(DS)^{nc},其中DS是95%-100%。例如,当DS为99%并且nc为10时,该百分比为或至少为90%((99%)¹⁰≈0.90=90%)。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的水平表示为寡核苷酸中每个手性受控的核苷酸间键联链的非对映纯度的乘积。在一些实施例中,连接寡核苷酸(或核酸)中的两个核苷的核苷酸间键联的非对映纯度由连接相同的两个核苷的二聚体的核苷酸间键联的非对映纯度表示,其中使用可比较的条件,在一些情况下,相同的合成循环条件制备二聚体(例如,对于寡核苷酸.....N_xN_y.....中N_x与N_y之间的键联,二聚体是N_xN_y)。在一些实施例中,不是所有的手性核苷酸间键联都是手性受控的核苷酸间键联,并且组合物是部分地手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,如在立体随机寡核苷酸组合物(例如,如本领域技术人员所理解的,来自传统寡核苷酸合成,例如亚磷酸酰胺方法)中通常观察到的,非手性受控的核苷酸间键联具有小于约80%、75%、70%、65%、60%、55%或约50%的非对映纯度。在一些实施例中,多个寡核苷酸(或核酸)具有相同的类型。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含非随机水平或控制水平的各个寡核苷酸类型或核酸类型。例如,在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含一种且不超过一种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含超过一种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含多种寡核苷酸类型。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物是一种寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物,该组合物包含非随机水平或控制水平的该寡核苷酸类型的多个寡核苷酸。

[0033] 核苷酸间键联:如本文所用,短语“核苷酸间键联”通常是指连接寡核苷酸或核酸的核苷单元的键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸二酯键联,如在天然存在的DNA和RNA分子中广泛发现的(天然磷酸酯键联(-OP(=O)(OH)O-),如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在)。在一些实施例中,核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联(不是天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,核苷酸间键联是“经修饰的核苷酸间键联”,其中磷酸二酯键联的至少一个氧原子或-OH被不同的有机或无机部分替换。在一些实施例中,这种有机或无机部分选自=S、=Se、=NR'、-SR'、-SeR'、-N(R')₂、B(R')₃、-S-、-Se-和-N(R')-,其中每个R'独立地如本披露中所定义和描述。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸三酯键联、硫代磷酸酯键联(或硫代磷酸酯二酯键联,即-OP(=O)(SH)O-,如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在),或硫代磷酸三酯键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是例如PNA(肽核酸)或PMO(二氨基磷酸酯吗啉基寡聚物)键联之一。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联(例如,某些所提供的寡核苷酸中的n001)。本领域普通技术人员理解,由于键联中存在酸或碱部分,核苷酸间键联可以在给定pH下作为阴离子或阳离子存在。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是命名为s、s1、s2、s3、s4、s5、s6、s7、s8、s9、s10、s11、s12、s13、s14、s15、s16、s17和s18的经修饰的核苷酸间键联,如WO 2017/210647中所述。

[0034] 体外:如本文所用,术语“体外”是指在人造环境中(例如在试管或反应容器中、在细胞培养物中等)而不是在生物体(例如,动物、植物和/或微生物)内发生的事件。

[0035] 体内:如本文所用,术语“体内”是指在生物体(例如,动物、植物和/或微生物)内发生的事件。

[0036] 键联磷:如本文所定义,短语“键联磷”用于指示所提及的特定磷原子是存在于核苷酸间键联中的磷原子,该磷原子对应于如天然存在的DNA和RNA中存在的磷酸二酯核苷酸间键联的磷原子。在一些实施例中,键联磷原子位于经修饰的核苷酸间键联中,其中磷酸二酯键联的每个氧原子任选地且独立地被有机或无机部分替换。在一些实施例中,键联磷原子是如本文所述的式I的P。在一些实施例中,键联磷原子是手性的。在一些实施例中,键联磷原子是非手性的(例如,如在天然磷酸酯键联中)。

[0037] 连接子:术语“连接子”,“连接子部分”等是指将一个化学部分连接至另一化学部分的任何化学部分。如本领域技术人员所理解的,取决于连接子连接的化学部分的数目,连接子可以是二价或三价或更高。在一些实施例中,连接子是将一个寡核苷酸与多聚体中的另一个寡核苷酸连接的部分。在一些实施例中,连接子是任选地位于末端核苷与固体支持物之间或末端核苷与另一个核苷、核苷酸或核酸之间的部分。在一些实施例中,在寡核苷酸中,连接子将化学部分(例如,靶向部分、脂质部分、碳水化合物部分等)与寡核苷酸链(例如,通过其5'端、3'端、核碱基、糖、核苷酸间键联等)连接

[0038] 经修饰的核碱基:术语“经修饰的核碱基”、“经修饰的碱基”等是指与核碱基化学上不同但能执行核碱基的至少一种功能的化学部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是包含修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基能够具有核碱基的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,在寡核苷酸的上下文中,经修饰的核碱基是指不是A、T、C、G或U的核碱基。

[0039] 经修饰的核苷:术语“经修饰的核苷”是指衍生自天然核苷或在化学上类似于天然核苷但包含使其与天然核苷有区别的化学修饰的部分。经修饰的核苷的非限制性实例包括在碱基和/或糖处包含修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例包括在糖上具有2'修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例还包括无碱基核苷(其缺乏核碱基)。在一些实施例中,经修饰的核苷能够具有核苷的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成部分。

[0040] 经修饰的核苷酸:术语“经修饰的核苷酸”包括在结构上与天然核苷酸不同但能执行天然核苷酸的至少一种功能的任何化学部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸包含在糖、碱基和/或核苷酸间键联处的修饰。在一些实施例中,经修饰的核苷酸包含经修饰的糖、经修饰的核碱基、和/或经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸能够具有核苷酸的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成亚基。

[0041] 经修饰的糖:术语“经修饰的糖”是指可以替换糖的部分。经修饰的糖模仿糖的空间排列、电子特性、或一些其他物理化学特性。在一些实施例中,如本披露中所述,经修饰的糖是经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。有用的2'-修饰的实例在本领域中被广泛使用并在本文中描述。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OR,其中R

是任选地经取代的 C_{1-10} 脂肪族。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OMe。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖(例如,LNA、BNA等中使用的糖)。在一些实施例中,在寡核苷酸的情况下,经修饰的糖是不是通常在天然RNA或DNA中发现的核糖或脱氧核糖的糖。

[0042] 核酸:如本文所用,术语“核酸”包括任何核苷酸及其聚合物。如本文所用,术语“多核苷酸”是指任何长度的核苷酸(核糖核苷酸(RNA)或脱氧核糖核苷酸(DNA)或其组合)的聚合形式。这些术语是指分子的一级结构,并且包括双链和单链DNA,以及双链和单链RNA。这些术语包括作为等效物的RNA或DNA的类似物,其包含经修饰的核苷酸和/或经修饰的多核苷酸(诸如但不限于甲基化、被保护和/或封端的核苷酸或多核苷酸)。这些术语涵盖多核糖核苷酸或寡核糖核苷酸(RNA)和多脱氧核糖核苷酸或寡脱氧核糖核苷酸(DNA);衍生自核碱基和/或经修饰的核碱基的N-糖苷或C-糖苷的RNA或DNA;衍生自糖和/或经修饰的糖的核酸;以及衍生自磷酸酯桥和/或经修饰的核苷酸间键联的核酸。该术语涵盖含有核碱基、经修饰的核碱基、糖、经修饰的糖、磷酸酯桥或经修饰的核苷酸间键联的任何组合的核酸。实例包括且不限于含有核糖部分的核酸、含有脱氧核糖部分的核酸、含有核糖部分和脱氧核糖部分的核酸、含有核糖部分和经修饰的核糖部分的核酸。除非另有说明,否则前缀“聚(poly-)”是指含有2至约10,000个核苷酸单体单元的核酸,并且其中前缀“寡(oligo-)”是指含有2至约200个核苷酸单体单元的核酸。

[0043] 核碱基:术语“核碱基”是指核酸中参与氢键结合的部分,该氢键结合以序列特异性方式将一条核酸链与另一条互补链结合。最常见的天然存在的核碱基是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)。在一些实施例中,天然存在的核碱基是经修饰的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,天然存在的核碱基是甲基化的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,核碱基包含杂芳基环,其中环原子是氮,并且当在核苷中时,氮键合到糖部分。在一些实施例中,核碱基包含杂环,其中环原子是氮,并且当在核苷中时,氮键合到糖部分。在一些实施例中,核碱基是“经修饰的核碱基”,即除腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)之外的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,经修饰的核碱基是A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,经修饰的核碱基是甲基化的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,经修饰的核碱基模拟核碱基的空间排列、电子特性或一些其他物理化学特性,并保留氢键结合的以序列特异性方式将一条核酸链与另一条核酸链结合的特性。在一些实施例中,经修饰的核碱基可与所有五种天然存在的碱基(尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、或鸟嘌呤)配对,而基本上不影响解链行为、被细胞内酶识别、或寡核苷酸双链体的活性。如本文所用,术语“核碱基”还涵盖用于代替天然的核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物,诸如经修饰的核碱基和核碱基类似物。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。在一些实施例中,“核碱基”是指在寡核苷酸或核酸中的核碱基单元(例如,在寡核苷酸或核酸中的A、T、C、G或U)。

[0044] 核苷:术语“核苷”是指其中核碱基或经修饰的核碱基与糖或经修饰的糖共价结合的部分。在一些实施例中,核苷是天然核苷,例如腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷或脱氧胞苷。在一些实施例中,核苷是经修饰的核苷,例如选自腺苷、脱氧腺苷、鸟

苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷和脱氧胞苷的经取代的天然核苷。在一些实施例中，核苷是经修饰的核苷，例如选自腺苷、脱氧腺苷、鸟苷、脱氧鸟苷、胸苷、尿苷、胞苷和脱氧胞苷的天然核苷的经取代的互变异构体。在一些实施例中，“核苷”是指寡核苷酸或核酸中的核苷单元。

[0045] 核苷酸：如本文所用，术语“核苷酸”是指多核苷酸的单体单元，其由核碱基、糖和一个或多个核苷酸间键联（例如，天然DNA和RNA中的磷酸酯键联）组成。天然存在的碱基[鸟嘌呤(G)、腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)、胸腺嘧啶(T)和尿嘧啶(U)]是嘌呤或嘧啶的衍生物，但应当理解也包括天然存在的和非天然存在的碱基类似物。天然存在的糖是戊糖（五碳糖），即脱氧核糖（其形成DNA）或核糖（其形成RNA），但应当理解，也包括天然存在的和非天然存在的糖类似物。将核苷酸经由核苷酸间键联进行连接以形成核酸、或多核苷酸。许多核苷酸间键联是本领域已知的（诸如但不限于磷酸酯、硫代磷酸酯、硼烷磷酸酯等）。人工核酸包括PNA（肽核酸）、磷酸三酯、硫代磷酸酯、H-磷酸酯、氨基磷酸酯、硼烷磷酸酯、甲基磷酸酯、膦酰乙酸酯（phosphonoacetate）、硫代膦酰乙酸酯，以及天然核酸的磷酸酯骨架的其他变体，诸如本文所述的那些。在一些实施例中，天然核苷酸包含天然存在的碱基、糖和核苷酸间键联。如本文所用，术语“核苷酸”还涵盖用于代替天然核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物，诸如经修饰的核苷酸和核苷酸类似物。在一些实施例中，“核苷酸”是指寡核苷酸或核酸中的核苷酸单元。

[0046] 寡核苷酸：术语“寡核苷酸”是指核苷酸的聚合物或寡聚物，并且可以包含天然和非天然核碱基、糖和核苷酸间键联的任何组合。

[0047] 寡核苷酸可以是单链或双链的。单链寡核苷酸可以具有双链区域（由单链寡核苷酸的两个部分形成），并且包含两个寡核苷酸链的双链寡核苷酸可以具有单链区域，例如其中两个寡核苷酸链彼此不互补的区域。示例寡核苷酸包括但不限于结构基因、包含控制区和终止区的基因、自我复制系统（诸如病毒DNA或质粒DNA）、单链和双链RNAi试剂和其他RNA干扰试剂（RNAi试剂或iRNA试剂）、shRNA、反义寡核苷酸、核酶、微RNA、微RNA模拟物、supermir、适体、antimir、antagomir、U1衔接子、形成三链体的寡核苷酸、G-四链体寡核苷酸、RNA激活子、免疫刺激性寡核苷酸和诱饵寡核苷酸。

[0048] 本披露的寡核苷酸可以具有多种长度。在特定的实施例中，寡核苷酸的长度可以为约2至约200个核苷。在多个相关实施例中，（单链的、双链的、或三链的）寡核苷酸的长度范围可以从约4至约10个核苷、从约10至约50个核苷、从约20至约50个核苷、从约15至约30个核苷、从约20至约30个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为约9至约39个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少19个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少20个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少25个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少30个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸是长度为至少18个核苷的互补链的双链体。在一些实施例中，寡核苷酸是长度为至少21个核苷的互补链的双链体。在一些实施例中，寡核苷酸长度中计数的每个核苷独立地包含A、T、C、G或U，或任选地经取代的A、T、C、G或U，或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

[0049] 寡核苷酸类型：如本文所用，短语“寡核苷酸类型”用于定义具有特定碱基序列、骨架键联模式（即，核苷酸间键联类型（例如磷酸酯、硫代磷酸酯、硫代磷酸三酯等）的模式）、

骨架手性中心模式[即,键联磷立体化学模式(R_p/S_p)]、以及骨架磷修饰模式(例如,本文所述的式I中的“-XLR¹”基团的模式)的寡核苷酸。在一些实施例中,共同的指定“类型”的寡核苷酸彼此在结构上相同。

[0050] 本领域技术人员将理解,本披露的合成方法在合成寡核苷酸链期间提供一定程度的控制,使得可以提前设计和/或选择寡核苷酸链的每个核苷酸单元以在键联磷处具有特定的立体化学和/或在键联磷处具有特定的修饰、和/或具有特定的碱基、和/或具有特定的糖。在一些实施例中,提前设计和/或选择寡核苷酸链以在键联磷处具有立体中心的特定组合。在一些实施例中,设计和/或确定寡核苷酸链以在键联磷处具有修饰的特定组合。在一些实施例中,设计和/或选择寡核苷酸链以具有碱基的特定组合。在一些实施例中,设计和/或选择寡核苷酸链以具有一个或多个以上结构特征的特定组合。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸分子或由其组成的组合物(例如,手性受控的寡核苷酸组合物)。在一些实施例中,所有此类分子属于同一类型(即,在结构上彼此相同)。然而,在一些实施例中,所提供的组合物包含多个不同类型的寡核苷酸(通常以预定的相对量)。

[0051] 任选地经取代的:如本文所述,本披露的化合物(例如寡核苷酸)可以含有任选地经取代的部分和/或经取代的部分。通常,术语“经取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,均意指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基替换。除非另外指明,否则“任选地经取代的”基团可以在该基团的每个可取代位置处具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的超过一个位置可以被选自指定群组的超过一个取代基取代时,在每一位置处的取代基可以相同或不同。在一些实施例中,任选地经取代的基团是未经取代的。本披露所设想的取代基的组合优选是导致形成稳定的或化学上可行的化合物的组合。如本文所用,术语“稳定”是指如下化合物,在出于本文所披露的一个或多个目的而经历其制备、检测以及在某些实施例中经历其回收、纯化和使用的条件时,它们基本上不发生改变。某些取代基描述如下。

[0052] 在可取代原子(例如,合适的碳原子)上的合适的单价取代基独立地是卤素;- (CH₂)₀₋₄R⁰; - (CH₂)₀₋₄OR⁰; -O (CH₂)₀₋₄R⁰; -O- (CH₂)₀₋₄C (O) OR⁰; - (CH₂)₀₋₄CH (OR⁰)₂; - (CH₂)₀₋₄Ph, 其可经R⁰取代; - (CH₂)₀₋₄O (CH₂)₀₋₁Ph, 其可经R⁰取代; -CH=CHPh, 其可经R⁰取代; - (CH₂)₀₋₄O (CH₂)₀₋₁-吡啶基, 其可经R⁰取代; -NO₂; -CN; -N₃; - (CH₂)₀₋₄N (R⁰)₂; - (CH₂)₀₋₄N (R⁰) C (O) R⁰; -N (R⁰) C (S) R⁰; - (CH₂)₀₋₄N (R⁰) C (O) NR⁰₂; -N (R⁰) C (S) NR⁰₂; - (CH₂)₀₋₄N (R⁰) C (O) OR⁰; -N (R⁰) N (R⁰) C (O) R⁰; -N (R⁰) N (R⁰) C (O) NR⁰₂; -N (R⁰) N (R⁰) C (O) OR⁰; - (CH₂)₀₋₄C (O) R⁰; -C (S) R⁰; - (CH₂)₀₋₄C (O) OR⁰; - (CH₂)₀₋₄C (O) SR⁰; - (CH₂)₀₋₄C (O) OSiR⁰₃; - (CH₂)₀₋₄OC (O) R⁰; -OC (O) (CH₂)₀₋₄SR⁰; -SC (S) SR⁰; - (CH₂)₀₋₄SC (O) R⁰; - (CH₂)₀₋₄C (O) NR⁰₂; -C (S) NR⁰₂; -C (S) SR⁰; - (CH₂)₀₋₄OC (O) NR⁰₂; -C (O) N (OR⁰) R⁰; -C (O) C (O) R⁰; -C (O) CH₂C (O) R⁰; -C (NOR⁰) R⁰; - (CH₂)₀₋₄SSR⁰; - (CH₂)₀₋₄S (O)₂R⁰; - (CH₂)₀₋₄S (O)₂OR⁰; - (CH₂)₀₋₄OS (O)₂R⁰; -S (O)₂NR⁰₂; - (CH₂)₀₋₄S (O) R⁰; -N (R⁰) S (O)₂NR⁰₂; -N (R⁰) S (O)₂R⁰; -N (OR⁰) R⁰; -C (NH) NR⁰₂; -Si (R⁰)₃; -OSi (R⁰)₃; -B (R⁰)₂; -OB (R⁰)₂; -OB (OR⁰)₂; -P (R⁰)₂; -P (OR⁰)₂; -P (R⁰) (OR⁰)₂; -OP (R⁰)₂; -OP (OR⁰)₂; -OP (R⁰) (OR⁰)₂; -P (O) (R⁰)₂; -P (O) (OR⁰)₂; -OP (O) (R⁰)₂; -OP (O) (OR⁰)₂; -OP (O) (OR⁰) (SR⁰)₂; -SP (O) (R⁰)₂; -SP (O) (OR⁰)₂; -N (R⁰) P (O) (R⁰)₂; -N (R⁰) P (O) (OR⁰)₂; -P (R⁰)₂ [B (R⁰)₃]; -P (OR⁰)₂ [B (R⁰)₃]; -OP (R⁰)₂ [B (R⁰)₃]; -OP (OR⁰)₂ [B (R⁰)₃]; - (C₁₋₄直链或支链亚烷基) O-N (R⁰)₂; 或- (C₁₋₄直链或支链亚烷基) C (O) O-N (R⁰)₂, 其中每个R⁰可如本文所定义取代且独立地是氢; C₁₋₂₀脂肪族; 具有1至5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的C₁₋₂₀杂脂肪族; -CH₂- (C₆₋₁₄芳基); -O (CH₂)₀₋₁ (C₆₋₁₄芳基); -CH₂- (5元至14

元杂芳基环) ; 具有0至5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的5元至20元单环、双环或多环的饱和环、部分不饱和环或芳基环; 或者不管上述定义, 两个独立出现的 R^0 与居于它们之间的一个或多个原子合在一起形成具有0至5个独立地选自氮、氧、硫、硅和磷的杂原子的5元至20元单环、双环或多环的饱和环、部分不饱和环或芳基环, 其可如下文所定义取代。

[0053] R^0 (或由两个独立出现的 R^0 与居于它们之间的原子共同形成的环) 上的适合的单价取代基独立地是卤素、 $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$ 、 $-(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$ 、 $-O(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR_2^\bullet$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR_3^\bullet$ 、 $-OSiR_3^\bullet$ 、 $-C(O)SR^\bullet$ 、 $-(C_{1-4}\text{直链或支链亚烷基})C(O)OR^\bullet$ 、或 $-SSR^\bullet$, 其中每个 $R^\bullet$ 是未经取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代, 且独立地选自 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。在 R^0 的饱和碳原子上的合适的二价取代基包括 $=O$ 及 $=S$ 。

[0054] 例如在合适的碳原子上的合适的二价取代基独立地是以下: $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR_2^*$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R_2^*))_{2-3}O-$ 或 $-S(C(R_2^*))_{2-3}S-$, 其中每个独立出现的 R^* 选自氢、可以如下文所定义地被取代的 C_{1-6} 脂肪族, 以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。与“任选地经取代的”基团的邻位可取代碳结合的合适的二价取代基包括: $-O(CR_2^*)_{2-3}O-$, 其中每个独立出现的 R^* 选自氢、可以如下文所定义地被取代的 C_{1-6} 脂肪族, 以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0055] R^* 的脂肪族基团上的合适的取代基独立地是卤素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR_2^\bullet$ 、或 $-NO_2$, 其中每个 $R^\bullet$ 是未经取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代, 且独立地是 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0至4个独立地选自氮、氧及硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0056] 在一些实施例中, 可取代氮上的合适取代基独立地是 $-R^\dagger$ 、 $-NR_2^\dagger$ 、 $-C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)OR^\dagger$ 、 $-C(O)C(O)R^\dagger$ 、 $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$ 、 $-S(O)_2R^\dagger$ 、 $-S(O)_2NR_2^\dagger$ 、 $-C(S)NR_2^\dagger$ 、 $-C(NH)NR_2^\dagger$ 、或 $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$; 其中每个 $R^\dagger$ 独立地是氢, 可按以下定义经取代的 C_{1-6} 脂肪族, 未经取代的 $-OPh$ 或具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环, 或尽管有上述定义, 但两个独立出现的 $R^\dagger$ 与居于它们之间的一个或多个原子合在一起形成未经取代的具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3-12元饱和的、部分不饱和的或芳基的单环或双环。

[0057] $R^\dagger$ 的脂肪族基团上的合适的取代基独立地是卤素、 $-R^\bullet$ 、 $-(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-OH$ 、 $-OR^\bullet$ 、 $-O(\text{卤代}R^\bullet)$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)OH$ 、 $-C(O)OR^\bullet$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR^\bullet$ 、 $-NR_2^\bullet$ 、或 $-NO_2$, 其中每个 $R^\bullet$ 是未经取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代, 且独立地是 C_{1-4} 脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 或具有0至4个独立地选自氮、氧及硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0058] 口服: 如本文所用的短语“口服施用(oral administration和administered orally)”具有其领域所理解的含义, 是指通过口施用化合物或组合物。

[0059] 肠胃外:如本文所用的短语“肠胃外施用(parenteral administration和administered parenterally)”具有其领域所理解的含义,是指除了肠内和局部施用之外的施用方式,通常是通过注射,并且包括但不局限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眼眶内、心内、真皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内、囊下、蛛网膜下、脊髓内以及胸骨内注射和输注。

[0060] 部分不饱和的:如本文使用的,术语“部分不饱和的”是指包括至少一个双键或三键的环部分。术语“部分不饱和的”意在涵盖具有多个不饱和的位点的环,但是如在此定义的不意在包括芳基或杂芳基部分。

[0061] 药物组合物:如本文所用,术语“药物组合物”是指与一种或多种药学上可接受的载剂一起配制的活性剂。在一些实施例中,活性剂以适合于在治疗方案中施用的单位剂量存在,其显示当施用于相关群体时实现预定的治疗效果的统计学显著概率。在一些实施例中,药物组合物能以固体或液体形式被特别配制以进行施用,包括适用于以下的那些:口服施用,例如,浸液(drench)(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如针对口腔、舌下和全身吸收的那些)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、糊剂(应用于舌);肠胃外施用,例如,作为例如无菌溶液或悬浮液或持续释放的配制品通过皮下、肌肉、静脉内或硬膜外注射;局部应用,例如,作为乳膏剂、软膏剂、或控制释放贴剂或喷雾剂应用于皮肤、肺或口腔;阴道内或直肠内,例如作为阴道栓剂、乳膏剂或泡沫剂;舌下;眼部;透皮;或经鼻、肺以及应用于其他粘膜表面。

[0062] 药学上可接受的:如本文所用,短语“药学上可接受的”是指在合理医学判断的范围内适合于与人类和动物的组织接触使用而无过多毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症,与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0063] 药学上可接受的载体:如本文所用,术语“药学上可接受的载剂”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物,诸如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂或溶剂包封材料,其涉及将主题化合物从一个器官(或身体的一部分)携带或运输到另一个器官或身体的一部分。在与配制品的其他成分相容并且对患者无害的意义上,每种载剂必须是“可接受的”。可充当药学上可接受的载剂的材料的一些实例包括:糖,诸如乳糖、葡萄糖和蔗糖;淀粉,诸如玉米淀粉和马铃薯淀粉;纤维素及其衍生物,诸如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和乙酸钠;粉状黄芪胶;麦芽;明胶;滑石;赋形剂,诸如可可脂和栓剂蜡;油,诸如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;二醇,诸如丙二醇;多元醇,诸如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;酯,诸如油酸乙酯和月桂酸乙酯;琼脂;缓冲剂,诸如氢氧化镁和氢氧化铝;海藻酸;无热原水;等渗盐水;林格氏溶液;乙醇;pH缓冲溶液;聚酯、聚碳酸酯和/或聚酰胺;以及在药物配制品中采用的其他无毒相容的物质。

[0064] 药学上可接受的盐:如本文所用,术语“药学上可接受的盐”是指适合于在制药环境中使用的此类化合物的盐,即,在合理医学判断的范围内,适合于与人类和低等动物的组织接触使用而无不当毒性、刺激、过敏反应等并且与合理的效益/风险比相称的盐。药学上可接受的盐是本领域公知的。例如,S.M.Berge等人在J.Pharmaceutical Sciences[药物科学杂志],66:1-19(1977)中详细地描述了药学上可接受的盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐包括但不限于无毒的酸加成盐,其是使用无机酸诸如盐酸、氢溴酸、磷酸、硫酸和高氯酸或使用有机酸诸如乙酸、马来酸、酒石酸、柠檬酸、琥珀酸或丙二酸或通过使用本领域中所使用的其他方法诸如离子交换形成的具有氨基的盐。在一些实施例中,药学上可接受

的盐包括但不限于己二酸盐、藻酸盐、抗坏血酸盐、天冬氨酸盐、苯磺酸盐、苯甲酸盐、硫酸氢盐、硼酸盐、丁酸盐、樟脑酸盐、樟脑磺酸盐、柠檬酸盐、环戊烷丙酸盐、二葡萄糖酸盐、十二烷基硫酸盐、乙磺酸盐、甲酸盐、富马酸盐、葡庚糖酸盐、甘油磷酸盐、葡萄糖酸盐、半硫酸盐(hemisulfate)、庚酸盐、己酸盐、氢碘化物、2-羟基-乙磺酸盐、乳糖酸盐(lactobionate)、乳酸盐、月桂酸盐、月桂基硫酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、丙二酸盐、甲磺酸盐、2-萘磺酸盐、烟酸盐、硝酸盐、油酸盐、草酸盐、棕榈酸盐、双羟萘酸盐、果胶酸盐、过硫酸盐、3-苯基丙酸盐、磷酸盐、苦味酸盐、新戊酸盐、丙酸盐、硬脂酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐、酒石酸盐、硫氰酸盐、对甲苯磺酸盐、十一酸盐、戊酸盐等。在一些实施例中,所提供的化合物(例如,寡核苷酸)包含一个或多个酸性基团,并且药学上可接受的盐是碱金属盐、碱土金属盐或铵盐(例如, $N(R)_3$ 的铵盐,其中每个R在本披露中被独立地定义和描述)。代表性碱金属或碱土金属盐包括钠盐、锂盐、钾盐、钙盐、镁盐等。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钾盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钙盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐适当地包括使用平衡离子(诸如卤离子、氢氧根、羧酸根、硫酸根、磷酸根、硝酸根、具有从1至6个碳原子的烷基、磺酸根以及芳基磺酸根)形成的无毒铵、季铵以及胺阳离子。在一些实施例中,所提供的化合物包含多于一个酸性基团,例如,寡核苷酸可以包含两个或更多个酸性基团(例如,天然磷酸酯键联和/或经修饰的核苷酸间键联)。在一些实施例中,这种化合物的药学上可接受的盐(或者通常,盐)包含两个或更多个阳离子,该两个或更多个阳离子可以是相同的或不同的。在一些实施例中,在药学上可接受的盐(或一般地说,盐)中,酸性基团中的所有可电离的氢(例如,在具有不超过约11、10、9、8、7、6、5、4、3或2;在一些实施例中,不超过约7;在一些实施例中,不超过约6;在一些实施例中,不超过约5;在一些实施例中,不超过约4;在一些实施例中,不超过约3的pKa的水溶液中被阳离子替换。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯和磷酸酯基团独立地以其盐形式存在(例如,如果是钠盐,则分别是 $-O-P(O)(SNa)-O-$ 和 $-O-P(O)(ONa)-O-$)。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键联独立地以其盐形式存在(例如,如果是钠盐,则分别是 $-O-P(O)(SNa)-O-$ 和 $-O-P(O)(ONa)-O-$)。在一些实施例中,药学上可接受的盐是寡核苷酸的钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是寡核苷酸的钠盐,其中每个酸性磷酸酯和经修饰的磷酸酯基团(例如,硫代磷酸酯,磷酸酯等)(如果有的话)以盐形式存在(所有均以钠盐)。

[0065] 保护基团:如本文所用,术语“保护基团”是本领域熟知的并且包括在Protecting Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基团]T.W.Greene和P.G.M.Wuts,第3版,约翰威利父子公司,1999中详细描述的那些,将该文献的全部内容通过引用并入本文。还包括那些特别适用于核苷和核苷酸化学的保护基团,这些保护基团描述于由Serge L.Beaucage等人在2012年06月编辑的Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry[核酸化学实验室指南]中,将章节2的全部内容通过引用并入本文。合适的氨基保护基团包括但不限于描述于本文和/或以下:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、和/或WO 2019/075357,或美国临时专利申请62/825766和62/911339,其各自的保护基的描述通过引用独立地并入本文。

[0066] 样品:如本文所用的,术语“样品”通常是指从感兴趣的来源获得或衍生的材料的

等分试样。在一些实施例中,感兴趣的来源是生物或环境来源。在一些实施例中,感兴趣的来源可以是或包含细胞或生物,例如微生物、植物或动物(例如,人)。在一些实施例中,感兴趣的来源是或包含生物组织或体液。在一些实施例中,生物组织或流体可以是或包括羊水、房水、腹水、胆汁、骨髓、血液、母乳、脑脊液、叮叮、乳糜、chime、前列腺液、内淋巴、渗出物、排泄物、胃酸、胃液、淋巴、粘液、心包液、外淋巴、腹膜液、腹膜液、胸膜液、脓、炎性分泌物、唾液、皮脂、精液、血清、包皮垢、痰、滑液、汗液、眼泪、尿液、阴道分泌物、玻璃状液、呕吐物、和/或其组合或一种或多种成分。在一些实施例中,生物流体可以是或包括细胞内流体、细胞外流体、血管内流体(血浆)、间质流体、淋巴液和/或细胞透过液。在一些实施例中,生物流体可以是或包含植物分泌物。在一些实施例中,可以例如通过抽吸、活检(例如,细针或组织活检)、拭子(例如,口腔、鼻、皮肤或阴道拭子)、刮擦、手术、洗涤或灌洗(例如,支气管肺泡、导管、鼻、眼、口腔、子宫、阴道或其他洗涤或灌洗)来获得生物组织或样品。在一些实施例中,生物样品是或包含获得自个体的细胞。在一些实施例中,样品是通过任何适当方法直接获得自目的来源的“初级样品”。在一些实施例中,如上下文可以清楚地看出,术语“样品”是指通过处理初级样品(例如,通过去除初级样品的一种或多种组分和/或通过向初级样品中添加一种或多种试剂)而获得的制备物。例如,使用半透膜进行过滤。这种“经处理的样品”可以包含例如核酸或蛋白,这些核酸或蛋白提取自样品或通过使初级样品经受如扩增或核酸的反转录、分离和/或某些组分的纯化等一种或多种技术而获得。

[0067] 受试者:如本文所用,术语“受试者”或“测试受试者”是指任何生物体,根据本披露向该生物体施用所提供的化合物(例如,所提供的寡核苷酸)或组合物,例如用于实验、诊断、预防和/或治疗目的。典型的受试者包括动物(例如,哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长动物和人;昆虫;蠕虫;等)和植物。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者可能患有和/或易患疾病、障碍和/或病症。

[0068] 基本上:如在此所使用,术语“基本上”是指展示出一个所感兴趣的特征或特性的总体的或接近总体的范围或程度的定性的状态。与第二序列基本上互补的碱基序列与第二序列不相同,但与第二序列在大部分相同或几乎相同。此外,生物和/或化学领域的普通技术人员应当理解的是生物学和化学现象(如果有的话)很少会达到完成和/或进行到完成或实现或避免绝对的结果。因此,术语“基本上”被用在此处用来获得在许多生物学和/或化学现象中潜在地缺少的内在的完全性。

[0069] 糖:术语“糖”是指呈封闭和/或开放形式的单糖或多糖。在一些实施例中,糖是单糖。在一些实施例中,糖是多糖。糖包括但不限于核糖、脱氧核糖、戊呋喃糖、戊吡喃糖和己吡喃糖部分。如本文所用,术语“糖”还涵盖用于代替常规糖分子的结构类似物,诸如二醇、形成核酸类似物的骨架的聚合物、二醇核酸(“GNA”)等。如本文所用,术语“糖”还涵盖用于代替天然核苷酸或天然存在的核苷酸的结构类似物,诸如经修饰的糖和核苷酸糖。在一些实施例中,糖是RNA或DNA糖(核糖或脱氧核糖)。在一些实施例中,糖是经修饰的核糖或脱氧核糖,例如2'-修饰的、5'-修饰的等。如本文所述,在一些实施例中,当用于寡核苷酸和/或核酸时,经修饰的糖可以提供一种或多种所需的特性、活性等。在一些实施例中,糖是任选地经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,“糖”是指寡核苷酸或核酸中的糖单元。

[0070] 易患:“易患”疾病、障碍和/或病症的个体是比一般公众成员具有更高的发展疾病、障碍和/或病症的风险的个体。在一些实施例中,易患疾病、障碍和/或病症的个体有患

该疾病、障碍和/或病症的倾向。在一些实施例中，易患疾病、障碍和/或病症的个体可以未被诊断出患有该疾病、障碍和/或病症。在一些实施例中，易患疾病、障碍和/或病症的个体可以表现出该疾病、障碍和/或病症的症状。在一些实施例中，易患疾病、障碍和/或病症的个体可以不表现出该疾病、障碍和/或病症的症状。在一些实施例中，易患疾病、障碍和/或病症的个体将会发展出该疾病、障碍和/或病症。在一些实施例中，易患疾病、障碍和/或病症的个体将不会发展出该疾病、障碍和/或病症。

[0071] 治疗剂：如本文所用，术语“治疗剂”通常是指当施用于受试者时引起期望的作用（例如，期望的生物学、临床或药理作用）的任何药剂。在一些实施例中，如果药剂在整个合适群体中表现出统计学上显著的作用，则认为该药剂是治疗剂。在一些实施例中，合适的人群是患有和/或易患疾病、障碍或病症的受试者的群体。在一些实施例中，合适的群体是模型生物的群体。在一些实施例中，可以通过一项或多项标准来定义合适的群体，这些标准诸如为年龄组、性别、遗传背景、在接受疗法之前预先存在的临床病症。在一些实施例中，当以有效量向受试者施用，治疗剂是减轻以下，改善以下，缓解以下，抑制以下，预防以下，延迟以下的发作，降低以下的严重性和/或降低以下的发生率的物质：受试者中的疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征。在一些实施例中，“治疗剂”是在可以被销售施用于人之前已经或需要被政府机构批准的药剂。在一些实施例中，“治疗剂”是需要药物处方才能施用于人的药剂。在一些实施例中，治疗剂是所提供的化合物，例如所提供的寡核苷酸。

[0072] 治疗有效量：如本文所用，术语“治疗有效量”意指当作为治疗方案的一部分施用时引发所希望的生物反应的物质（例如，治疗剂、组合物和/或配制品）的量。在一些实施例中，物质的治疗有效量是当施用于患有或易患疾病、障碍和/或病症的受试者时，足以治疗、诊断、预防、和/或延迟疾病、障碍和/或病症的发作的量。如本领域的普通技术人员将理解，物质的有效量可取决于以下这类因素变化：如所希望的生物学终点、待递送的物质、靶细胞或组织等。例如，用于治疗疾病、障碍、和/或病症的配制品中化合物的有效量是缓解、改善、减轻、抑制、预防、延迟疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的发作，降低疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的严重程度，和/或降低疾病、障碍、和/或病症的一种或多种症状或特征的发生率的量。在一些实施例中，以单个剂量施用治疗有效量；在一些实施例中，需要多个单位剂量来递送治疗有效量。

[0073] 治疗：如本文所用，术语“治疗（treat、treatment、或treating）”是指用于部分地或完全缓解、改善、减轻、抑制、预防、延迟疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的发作，降低疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的严重程度，和/或降低疾病、障碍和/或病症的一种或多种症状或特征的发生率的任何方法。治疗可以施用于未表现出疾病、障碍和/或病症的迹象的受试者。在一些实施例中，治疗可以施用给仅表现出疾病、障碍和/或病症的早期迹象的受试者，例如出于降低与疾病、障碍和/或病症相关联的病理学风险的目的。

[0074] 不饱和的：如本文所用，术语“不饱和的”意指具有一个或多个不饱和单元的部分。

[0075] 野生型：如本文所用，术语“野生型”具有其本领域理解的含义，其是指具有如在“正常”（与突变体、患病、改变等对比）状态或背景中在自然界中发现的结构和/或活性的实体。本领域普通技术人员将理解，野生型基因和多肽通常以多种不同形式（例如，等位基因）存在。

[0076] 如本领域技术人员将理解的,本文描述的涉及所提供的化合物(例如,寡核苷酸)的方法和组合物通常也适用于此类化合物的药学上可接受的盐。

某些实施例的描述

[0077] 寡核苷酸是用于多种应用的有用工具。例如,MAPT寡核苷酸可用于治疗、诊断和研究应用,包括治疗多种与MAPT相关的病症、障碍和疾病,包括但不限于阿尔茨海默病(AD)和额颞叶痴呆(FTD)。天然存在的核酸(例如,未经修饰的DNA或RNA)的使用受到限制,例如由于其对核酸内切酶及核酸外切酶的易感性而受到限制。这样,已经开发了多种合成的对应物来规避这些缺点和/或进一步改善多种特性和活性。这些合成对应物包括含有化学修饰的合成寡核苷酸,这些化学修饰例如为碱基修饰、糖修饰、骨架修饰等,其尤其使得这些分子不太容易降解且改善了寡核苷酸的其他特性和/或活性。从结构的角度来看,对核苷酸间键联的修饰会引入手性,并且某些特性可能会受到寡核苷酸的键联磷原子构型的影响。例如,骨架键联磷原子的手性尤其会影响结合亲和力、与互补RNA的序列特异性结合、对核酸酶的稳定性、靶核酸的切割、递送、药代动力学等。

[0078] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含与MAPT基因组序列或其转录物(例如,mRNA(例如,前-mRNA、剪接后mRNA等)的10个或更多个(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)连续碱基完全或基本上相同或者完全或基本上互补的序列。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含与MAPT转录物的10个或更多个(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)连续碱基完全互补的序列。在一些实施例中,连续碱基的数目为约15-20。在一些实施例中,连续碱基的数目为约20。在一些实施例中,靶向MAPT的寡核苷酸可以与MAPT转录物(例如,前mRNA、RNA等)杂交,并且可以降低MAPT转录物和/或由MAPT转录物编码的蛋白的水平。

[0079] 在一些实施例中,本披露提供了如本文(例如,在表中)披露的MAPT寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了具有本文(例如,在表中)披露的碱基序列的MAPT寡核苷酸,或其包含10个(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)连续碱基的部分,其中MAPT寡核苷酸是立体随机的或非手性受控的,并且其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

[0080] 在一些实施例中,寡核苷酸的核苷酸间键联包含1-5、1-10、1-15、1-20、1-25、1-30、1-40、1-50、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个手性受控的核苷酸间键联或由其组成。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸组合物,其中MAPT寡核苷酸包含至少一个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸组合物,其中MAPT寡核苷酸是立体随机的或非手性受控的。在一些实施例中,在MAPT寡核苷酸中,至少一个核苷酸间键联是立体随机的,并且至少一个核苷酸间键联是手性受控的。

[0081] 在一些实施例中,寡核苷酸的核苷酸间键联包含一个或多个带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联,天然磷酸酯键联等)或由其组成。在一些实施例中,本披露涉及MAPT寡核苷酸,其包含如本披露中所述的至少一个中性或非带负电荷的核苷酸间键联。

MAPT

[0082] 在一些实施例中,MAPT是指来自任何物种的基因或其基因产物(包括但不限于核

酸,包括但不限于DNA或RNA、转录物、由此编码的蛋白;可以来自任何形式的MAPT,例如,野生型或突变型等位基因),其可以被称为:MAPT、TAU、MSTD、PPND、DDPAC、MAPTL、MTBT1、MTBT2、FTDP-17、或PPP1R103。在一些实施例中,MAPT是指人类中的基因及其产物。在一些实施例中,MAPT是指非人灵长类动物中的基因及其产物。来自人、小鼠、大鼠、猴等的多种MAPT序列,包括其变体,对于本领域技术人员而言是容易获得的。在一些实施例中,MAPT是人或小鼠MAPT,其是野生型或突变体。据报道,MAPT可以具有许多功能。还已经报道了多种技术,例如测定、细胞、动物模型等,并且可以用于根据本披露所提供的技术(例如寡核苷酸、组合物、方法等)进行表征和/或评估。

[0083] 在一些实施例中,MAPT基因、转录物(例如,剪接之前或之后的mRNA)或蛋白变体或同种型包含突变。在一些实施例中,MAPT基因、转录物或蛋白是或剪接的变体或同种型的转录或翻译产物。

与MAPT相关的病症、障碍或疾病

[0084] 据报道多种病症、障碍或疾病都与MAPT有关。通常,如果MAPT和/或其产物(例如,转录物、编码的蛋白等)的存在、水平、活性和/或形式与疾病、障碍或病症的发生率和/或易感性相关(例如,在相关群体中),则疾病、障碍、或病症与MAPT相关。在一些实施例中,可以通过降低MAPT转录物和/或蛋白的表达、水平和/或活性来治疗和/或预防与MAPT相关的病症、障碍或疾病。

[0085] 报道了与MAPT相关的多种病症、障碍或疾病。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是阿尔茨海默病(AD)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是额颞叶痴呆(FTD)。

[0086] 除其他事项外,所提供的技术可用于治疗或预防与MAPT相关的病症、障碍或疾病(例如,阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)等)。在一些实施例中,本披露涉及MAPT寡核苷酸或其组合物在治疗与MAPT相关的障碍、疾病或病症(例如,阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)等)中的用途。

[0087] 阿尔茨海默症协会(Alzheimer's Association)报告称,据估计,年龄在65岁或65岁以上的人中有十分之一患有AD,在美国有将近600万人患有这种疾病。据报道,AD导致认知能力的进行性丧失,独立性的丧失以及最终死亡。据报道AD的特征在于,细胞外淀粉样斑块以及tau聚集体的细胞内积累。除AD外,据报道tau还参与额颞叶痴呆(FTD)的病理生理学。据报道,FTD是一组异质性障碍,在100,000名个体中约有20名患者的患病率。据报道,FTD的特征在于额叶、颞叶和其他皮质区域以及基底神经节、丘脑和其他区域的变性,并且在大约一半的病例中与Tau病理学有关。据报道,与tau病理学相关的FTD亚型包括以神经精神症状为特征的行为变异型FTD(bvFTD)、以单词输出减少和唤词困难为特征的非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA),有时还包括运动综合征(包括皮质基底节变性(CBD)和原发性进行性失语(PSP)。还据报道,与主要影响老年人的AD相反,FTD通常出现在较早的年龄,因此比AD更可能影响仍在工作的个体,并且像AD一样最终是致命的。

[0088] 尽管不希望受到任何理论的束缚,但应指出,根据某些报告,遗传和组织学证据(在遗传和散发性疾病中)证明tau在引起AD和FTD病理、致残和死亡中的重要性。尽管在某些情况下,据报道MAPT对AD本身并不是全基因组范围内重要的,但据报道,对于共享AD/PD风险而言,MAPT对全基因组范围内是重要的(Desikan等人,2015)。据报道,MAPT已被明确证

明是FTD形式的病因,其潜在的tau病理学主要基于家庭遗传学研究 (Greaves和Rohrer, 2019)。在某些情况下,据报道tau病理学已经非常完善。

[0089] 据报道,Tau是一种神经元支架蛋白,在疾病状态下,它在细胞内聚集形成神经原纤维缠结 (NFT),据报道这是定义AD病理的关键。据报道,Tau病理可经由朊病毒样机制从一个神经元扩散到另一个神经元,NFT通常在海马体、内嗅皮层以及新脑皮层III和V层的锥体神经元中发现,而中间神经元不受影响 (Braak等人,2016)。此外,据报道,从AD脑中分离出来的tau注射到啮齿动物的脑中后会致病 (Goedert等人,2017)。

[0090] 在一些实施例中,所提供的技术 (例如,寡核苷酸、组合物、方法等)降低了tau转录物和由此编码的蛋白的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,这样的降低解决了细胞内聚集。在一些实施例中,这样的降低解决了tau扩散。在一些实施例中,这种降低解决了细胞内聚集和tau扩散。

[0091] 在一些实施例中,本披露提供了用于降低tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法,这些方法包括使该蛋白与本披露的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本发明提供了用于降低tau细胞内聚集的方法,这些方法包括使蛋白与本披露的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于降低tau扩散的方法,这些方法包括使蛋白与本披露的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于降低tau细胞内聚集和扩散的方法,这些方法包括使该蛋白与本披露的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于降低系统中tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法,这些方法包括向系统施用有效量的本披露的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于降低系统中tau细胞内聚集的方法,这些方法包括向系统施用有效量的本披露的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于降低系统中tau扩散的方法,这些方法包括向系统施用有效量的本披露的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于降低系统中tau细胞内聚集和扩散的方法,这些方法包括向系统施用有效量的本披露的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,系统是体外的。在一些实施例中,系统是体内的。在一些实施例中,系统是或包含细胞。在一些实施例中,系统是或包含组织。在一些实施例中,系统是或包含器官。在一些实施例中,系统是或包含样品。在一些实施例中,系统是或包含受试者。在一些实施例中,系统是或包含小鼠。在一些实施例中,系统是或包含非人灵长类动物。在一些实施例中,系统是或包含人。

[0092] 在一些实施例中,用所提供的技术进行的治疗或预防降低了tau生产的速率,并且减少或停止或逆转了聚集体的积累和进一步扩散。在一些实施例中,用所提供的技术进行的治疗或预防降低了病症、障碍或疾病的临床衰退的速度、或延迟或预防了发作。

[0093] 如本领域技术人员所理解的,可以根据本披露来利用这种病症、障碍或疾病的机制、基因型、症状、生物标记等,以表征/评估所提供的技术。

寡核苷酸

[0094] 尤其是,本披露提供了各种设计的寡核苷酸,其可包含本披露中描述的各种核碱基及其模式、糖及其模式、核苷酸间键联及其模式和/或另外的化学部分及其模式。在一些实施例中,所提供的MAPT寡核苷酸可指导MAPT基因和/或其一种或多种产物 (例如,转录物, mRNA, 蛋白等) 的表达、水平和/或活性降低。在一些实施例中,所提供的MAPT寡核苷酸可指导受试者或患者的细胞中MAPT基因和/或其一种或多种产物的表达、水平和/或活性降低。

在一些实施例中,细胞通常表达MAPT或产生MAPT蛋白。在一些实施例中,所提供的MAPT寡核苷酸可以指导MAPT靶基因或基因产物的表达、水平和/或活性的降低,并且具有以下碱基序列,该碱基序列由本文披露的MAPT寡核苷酸的碱基序列组成、包含本文披露的MAPT寡核苷酸的碱基序列、或包含本文披露的MAPT寡核苷酸的碱基序列的一部分(例如,序列段为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个连续碱基),其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然,并且该寡核苷酸包含碱基、糖和/或核苷酸间键联的至少一种非天然存在的修饰。

[0095] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可指导靶基因例如MAPT靶基因或其产物的表达、水平和/或活性降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以通过RNA酶H介导的敲低来指导MAPT靶基因或其产物的表达、水平和/或活性的降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可通过在结合MAPT靶基因mRNA后在空间上阻断翻译和/或通过改变或干扰mRNA拼接来指导MAPT靶基因或其产物的表达、水平和/或活性降低。然而,无论如何,本披露不限于任何特定机制。在一些实施例中,本披露提供了能够通过双链RNA干扰,单链RNA干扰,RNA酶H介导的敲低,翻译的空间位阻或两个或多个这样的机制的组合操作的寡核苷酸、组合物、方法等。

[0096] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导MAPT的表达、水平和/或活性降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导tau蛋白的水平降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导tau蛋白的水平降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导tau聚集(例如在神经元中)的水平降低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导tau扩散(例如从一个神经元到另一个)的水平降低。

[0097] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够通过涉及MAPT mRNA的mRNA降解和/或翻译的空间位阻的机制来介导MAPT的表达、水平和/或活性的降低。

[0098] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够介导多于一个MAPT等位基因的表达、水平和/或活性降低。

[0099] 在一些实施例中,本披露涉及治疗与MAPT相关的疾病、障碍或病症(其中MAPT过表达)的方法,该方法包括施用治疗有效量的能够介导MAPT的表达、水平和/或活性降低的MAPT寡核苷酸的步骤。在一些实施例中,可以存在MAPT的多种形式(例如等位基因),并且所提供的技术可以降低两种或更多种或所有形式和其产物的表达、水平和/或活性。

[0100] 在一些实施例中,本披露涉及治疗与MAPT相关的疾病、障碍或病症的方法,该方法包括施用治疗量的能够介导MAPT的表达、水平和/或活性降低的MAPT寡核苷酸的步骤。

[0101] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸能够经由涉及剪接调节(例如外显子跳读)的机制介导MAPT的表达、水平和/或活性降低。

[0102] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含例如在表中描述的结构元件或其一部分。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含本文所述的碱基序列(或其一部分)(其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然),化学修饰或化学修饰模式(或其一部分)和/或本文所述的形式或其一部分。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有包含该碱基序列(或其一部分)的碱基序列(其中每个T可以独立地被U取代),化学修饰模式(或其一部分)和/或本文中所披露的(例如在表中,或本文中所描述的)寡核苷酸的形式。在一些实施例中,这样的寡核苷酸,例如MAPT寡核苷酸降低了基因例如MAPT基因或其基因产物的表达、水平和/或活性。

[0103] 尤其是,MAPT寡核苷酸可以与它们的靶核酸(例如,mRNA前体,成熟mRNA等)杂交。

例如,在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以与衍生自DNA链(MAPT基因的任一链)的MAPT核酸杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可与MAPT转录物杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可与处于任何RNA加工阶段的MAPT核酸杂交,包括但不限于mRNA前体或成熟mRNA。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可与MAPT核酸或其互补序列的任何元件杂交,包括但不限于:启动子区域、增强子区域、转录终止区域、翻译起始信号、翻译终止信号、编码区域、非编码区域、外显子、内含子、内含子/外显子或外显子/内含子连接,5'UTR或3'UTR。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以与跟其具有不超过2个错配的靶杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以与跟其具有不超过一个错配的靶杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以与其不具有错配(例如,当所有C-G和/或A-T/U碱基配对时)的靶杂交。

[0104] 在一些实施例中,寡核苷酸可与两个或更多个转录物变体杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可与两个或更多个或所有MAPT转录物变体杂交。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可与衍生自有义链的两个或更多个或所有MAPT转录物变体杂交。

[0105] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的MAPT靶是并非mRNA的MAPT RNA。

[0106] 在一些实施例中,寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)含有增加水平的一种或多种同位素。在一些实施例中,寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)例如经一种或多种元素(例如氢、碳、氮等)的一种或多种同位素进行标记。在一些实施例中,所提供的组合物中的寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)(例如,多种组合物的寡核苷酸)包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联接修饰,其中这些寡核苷酸含有富集水平的氘。在一些实施例中,寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)在一个或多个位置处经氘标记(用 ^2H 替换 ^1H)。在一些实施例中,寡核苷酸链或与该寡核苷酸链缀合的任何部分(例如,靶向部分等)的一个或多个 ^1H 经 ^2H 取代。此类寡核苷酸可用于本文所述的组合物和方法中。

[0107] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,该多个寡核苷酸:

- 1) 具有与转录物中的靶序列(例如,MAPT靶序列)互补的共同的碱基序列;以及
- 2) 包含一个或多个修饰的糖部分和/或修饰的核苷酸间键联接。

[0108] 在一些实施例中,具有共同的碱基序列的MAPT寡核苷酸可以具有相同的核苷修饰(例如糖修饰、碱基修饰等)模式。在一些实施例中,核苷修饰模式可以由位置和修饰的组合表示。在一些实施例中,骨架键联模式包含每个核苷酸间键联的位置和类型(例如磷酸酯、硫代磷酸酯、经取代的硫代磷酸酯等)。

[0109] 在一些实施例中,例如在提供的组合物中的多个寡核苷酸是相同的寡核苷酸类型。在一些实施例中,一种寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的糖修饰模式。在一些实施例中,一种寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的碱基修饰模式。在一些实施例中,一种寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,一种寡核苷酸类型的寡核苷酸具有相同的构成。在一些实施例中,一种寡核苷酸类型的寡核苷酸是相同的。在一些实施例中,多个寡核苷酸是相同的。在一些实施例中,多种寡核苷酸具有相同的构成。

[0110] 在一些实施例中,如本文所举例说明的,MAPT寡核苷酸,是手性受控的,包含一个或多个手性受控的核苷酸间键联接。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸是立体化学纯的。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸与其他立体异构体基本上分开。

[0111] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含一个或多个修饰的核碱基、一个或多个修饰

的糖和/或一个或多个修饰的核苷酸间键联。

[0112] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含一个或多个修饰的糖。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核碱基。根据本披露,可以将多种修饰引入糖和/或核碱基。例如,在一些实施例中,修饰是US 9006198中描述的修饰。在一些实施例中,修饰是描述于US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252中的修饰,其各自的糖、碱基和核苷酸间键联修饰通过引用独立地并入本文。

[0113] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“一个或多个”是1-200、1-150、1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-40、1-30、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25。在一些实施例中,“一个或多个”是一个。在一些实施例中,“一个或多个”是两个。在一些实施例中,“一个或多个”是三个。在一些实施例中,“一个或多个”是四个。在一些实施例中,“一个或多个”是五个。在一些实施例中,“一个或多个”是六个。在一些实施例中,“一个或多个”是七个。在一些实施例中,“一个或多个”是八个。在一些实施例中,“一个或多个”是九个。在一些实施例中,“一个或多个”是十个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少一个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少两个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少三个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少四个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少五个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少六个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少七个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少八个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少九个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少十个。

[0114] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“至少一个”是1-200、1-150、1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-40、1-30、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25。在一些实施例中,“至少一个”是一个。在一些实施例中,“至少一个”是两个。在一些实施例中,“至少一个”是三个。在一些实施例中,“至少一个”是四个。在一些实施例中,“至少一个”是五个。在一些实施例中,“至少一个”是六个。在一些实施例中,“至少一个”是七个。在一些实施例中,“至少一个”是八个。在一些实施例中,“至少一个”是九个。在一些实施例中,“至少一个”是十个。

[0115] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸是或包含表中描述的MAPT寡核苷酸。

[0116] 如本披露中所证明的,在一些实施例中,所提供的寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)的特征在于,当它与敲低系统中的转录物接触时,其靶的敲低(例如,MAPT寡核苷酸的MAPT转录物)。

[0117] 在一些实施例中,寡核苷酸以盐形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以盐的形式提供,这些盐包含作为盐形式存在的带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、天然磷酸酯键联等)。在一些实施例中,寡核苷酸以药学上可接受的盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以钠盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐例如钠盐的形式提供,其中每个带负电荷的核苷酸间键联独立地呈盐形式(例如,针对钠盐,对于硫代磷酸酯核苷酸间键联是-O-P(O)(SNa)-

0-,对于天然磷酸酯键联是-O-P(0)(ONa)-O-,等等)。

碱基序列

[0118] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含本文所述的碱基序列或其具有0-5(例如0、1、2、3、4或5)个错配的部分(例如5-50、5-40、5-30、5-20、或5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、或至少10、至少15个连续核碱基的序列段),其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含本文所述的碱基序列或其部分,其中一部分的序列段是至少10个连续核碱基或具有1-5个错配的至少15个连续核碱基。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含本文所述的碱基序列或其一部分,其中一部分的序列段是至少10个连续核碱基或具有1-5个错配的至少10个连续核碱基,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列包含以下或由以下组成:与MAPT基因或其(例如,在内含子中,例如内含子11)转录物(例如,mRNA)的碱基序列相同或互补的碱基序列的10-50个(例如,约或至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45个;在一些实施例中,至少15个;在一些实施例中,至少16个;在一些实施例中,至少17个;在一些实施例中,至少18个;在一些实施例中,至少19个;在一些实施例中,至少20个;在一些实施例中,至少21个;在一些实施例中,至少22个;在一些实施例中,至少23个;在一些实施例中,至少24个;在一些实施例中,至少25个)连续碱基。

[0119] 如本领域技术人员所理解的,MAPT寡核苷酸的碱基序列通常具有足够的长度和与其靶例如RNA转录物(例如,前-mRNA,成熟的mRNA等)的互补性,以介导靶特异性的敲低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列具有充分长度及与MAPT转录物靶的同一性,以介导靶特异性敲低。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸与MAPT转录物(MAPT转录物靶序列)的一部分互补。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有90%或更多的同一性,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有95%或更高的同一性,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列包含表中披露的寡核苷酸的15个或更多个碱基的连续序列段,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然,除了该序列段内的一个或多个碱基是无碱基的(例如,碱基在核苷酸中不存在)。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列包含本文披露的MAPT寡核苷酸的19个或更多个碱基的连续序列段,除了该序列段内的一个或多个碱基是无碱基的(例如,碱基在核苷酸中不存在)。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列包含本文披露的寡核苷酸的19个或更多个碱基的连续序列段,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然,除了在碱基序列的5'端和/或3'端的1个或2个碱基的差异之外。

[0120] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列10-20个,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续碱基:
ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCU、
ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、
CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、
CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、
GTGTTCCTACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUUCCACTATCCTCCTTC、
TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、

TGTTCCACTATCCTCCUUCA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含这样的序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是这样的序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列10-20个,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续碱基:ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、GTGTTCCTACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUCA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含这样的序列。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是这样的序列。

[0121] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列的10-20个,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续碱基:GTGTTCCTACTATCCTCCUUC,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含GTGTTCCTACTATCCTCCUUC,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCTACTATCCTCCUUC,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列的10-20个,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续碱基:GTGTTCCTACTATCCTCCUUC。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含GTGTTCCTACTATCCTCCUUC。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCTACTATCCTCCUUC。

[0122] 在一些实施例中,本披露涉及具有碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列包含本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然。

[0123] 在一些实施例中,本披露涉及具有包含本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列的至少15个连续碱基的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然。

[0124] 在一些实施例中,本披露涉及具有与本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列至少90%相同的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然。

[0125] 在一些实施例中,本披露涉及具有与本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列至少95%相同的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然。

[0126] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是如下序列,包含以下序列,或包含以下序列的10-20个,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个连续碱基:本文所述的任何寡核苷酸的碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。

[0127] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸选自表1。

[0128] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列与MAPT转录物或其部分的碱基序列互补。

[0129] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的碱基序列与MAPT核酸序列的一部分(例如MAPT基因序列、MAPT转录物、MAPT mRNA序列等)互补。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸与MAPT核

酸序列的一部分(例如MAPT基因序列、MAPT转录物、MAPT mRNA序列等)相同。在一些实施例中,一部分是或包含10或更多个(例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)连续核碱基。在一些实施例中,一部分是约15个或更多个。在一些实施例中,一部分是约16个或更多个。在一些实施例中,一部分是约17个或更多个。在一些实施例中,一部分是约18个或更多个。在一些实施例中,一部分是约19个或更多个。在一些实施例中,一部分是约20个或更多个。在一些实施例中,这样的部分的碱基序列是MAPT的特征,因为系统中没有其他基因组或转录物序列含有与该部分相同的序列。在一些实施例中,系统中没有其他基因组或转录物序列含有以不超过1个核碱基的区别不同于这样的部分的序列。在一些实施例中,系统中没有其他基因组或转录物序列含有以不超过2个核碱基的区别不同于这样的部分的序列。在一些实施例中,与寡核苷酸互补的基因的一部分被称为寡核苷酸的靶序列。在一些实施例中,系统是或包含细胞、样品、组织、器官或物种。例如,对于靶向人MAPT的寡核苷酸,在许多实施例中相关物种是人。在一些实施例中,例如当表征和/或评估跨物种的活性和/或特性时,系统可以是或包括多个物种。在一些实施例中,这样的部分在外显子中。在一些实施例中,这样的部分在内含子中。在一些实施例中,这样的部分在内含子11中。在一些实施例中,这样的部分跨内含子和外显子。在一些实施例中,这样的部分跨两个外显子。在一些实施例中,这样的部分在5'-UTR区域中。在一些实施例中,这样的部分在3'-UTR区域中。

[0130] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸靶向MAPT的两个或更多个或所有等位基因(如果在相关系统中存在多个等位基因)。在一些实施例中,寡核苷酸降低野生型MAPT和突变型MAPT和/或其转录物和/或产物的表达、水平和/或活性。

[0131] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的碱基序列与人和非人灵长类(NHP) MAPT靶序列两者都完全互补。在一些实施例中,这样的序列可能特别有用,因为它们可以在人和非人灵长类动物中容易地评估。

[0132] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含表中所述的碱基序列或其一部分(其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然),和/或表中所述的糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰和/或其模式,和/或表中所述的另外的化学部分(除了寡核苷酸链之外,还有例如,靶部分、脂质部分、碳水化合物部分等)。

[0133] 在一些实施例中,如本领域技术人员从使用的上下文中将理解,就寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)碱基序列和靶序列(例如,MAPT靶序列)之间的碱基匹配而言,可以使用术语“互补”、“完全互补”和“基本上互补”。作为非限制性实例,如果靶序列具有例如5'-GCAUAGCGAGCGAGGAAAAC-3'的碱基序列,则具有5' GUUUUCCCUCGCUAUGC-3'的碱基序列的寡核苷酸与此靶序列互补(完全互补)。应注意,用U取代T或反过来通常都不会改变互补的量。如本文所用,与靶标序列“基本上互补”的寡核苷酸在很大程度上或大部分是互补的,但不是100%互补的。在一些实施例中,当与靶序列比对时,基本互补的序列(例如,MAPT寡核苷酸)具有1、2、3、4或5个错配。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有与MAPT靶序列基本互补的碱基序列。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有与本文披露的MAPT寡核苷酸的序列的互补序列基本互补的碱基序列。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,对于寡核苷酸执行其功能(例如,敲低靶核酸),寡核苷酸的序列不需要与其靶100%互补。通常,当确定互补性时,A和T(或U)是互补核碱基,而C和G是互补核碱基。

[0134] 在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,其包含在表中描述的寡核苷酸中

发现的序列。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,其包含在表中描述的寡核苷酸中发现的序列,其中一个或多个U独立地并且任选地被T替换,或反之亦然。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可包含至少一个T和/或至少一个U。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸包含在本文表中描述的寡核苷酸中发现的序列,其中所述序列与表中描述的寡核苷酸的序列具有超过50%的同一性。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,其包含表中披露的寡核苷酸的序列。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸的碱基序列是表中披露的寡核苷酸的序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供了包含在表中的寡核苷酸中发现的序列的MAPT寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有本文表中的相同寡核苷酸或另一种寡核苷酸的骨架键联模式、骨架手性中心模式和/或骨架磷修饰模式。

[0135] 除其他事项外,本披露在表1A和其他地方提出了多种寡核苷酸,每个寡核苷酸具有确定的碱基序列。在一些实施例中,本披露,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸的碱基序列是本文披露的寡核苷酸的碱基序列(例如,在表中,例如,在本文的表1中,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然),包含本文披露的寡核苷酸的碱基序列,包含本文披露的寡核苷酸的碱基序列的一部分。在一些实施例中,本披露提供了具有以下碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列是本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸的碱基序列或包含本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸的碱基序列或包含其一部分,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然,其中该寡核苷酸进一步包含化学修饰、立体化学、形式、本文描述的另外的化学部分(例如,靶向部分、脂质部分、碳水化合物部分等)和/或另一结构特征。

[0136] 在一些实施例中,“一部分”(例如碱基序列或修饰模式的一部分)是至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个单体单元长(例如,对于一个碱基序列,至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个碱基长)。在一些实施例中,碱基序列的“一部分”是至少5个碱基长。在一些实施例中,碱基序列的“一部分”是至少10个碱基长。在一些实施例中,碱基序列的“一部分”是至少15个碱基长。在一些实施例中,碱基序列的“一部分”是至少16、17、18、19或20个碱基长。在一些实施例中,碱基序列的“一部分”是至少20个碱基长。在一些实施例中,碱基序列的一部分是10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或更多个连续(contiguous/consecutive)碱基。在一些实施例中,碱基序列的一部分是15个或更多个连续(contiguous/consecutive)碱基。在一些实施例中,碱基序列的一部分是16、17、18、19或20个或更多个连续(contiguous/consecutive)碱基。在一些实施例中,碱基序列的一部分是20个或更多个连续(contiguous/consecutive)碱基。

[0137] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸),该寡核苷酸的碱基序列是表中的寡核苷酸的碱基序列或其一部分,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供具有表中寡核苷酸的序列的MAPT寡核苷酸,其中该寡核苷酸能够指导MAPT基因或其基因产物的表达、水平和/或活性的降低。如本领域技术人员所理解的,在提供的碱基序列中,每个U可以任选地且独立地被T替换,或反之亦然,并且序列可以包含U和T的混合物。在一些实施例中,C可以任选地且独立地替换为5mC。

[0138] 在一些实施例中,一部分是至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个总核苷酸的序列段。在一些实施例中,一部分是具有0至3个错配的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个总核苷酸的序列段。在一些实施例中,一部分是具有0至3个错配的至少15、

16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个总核苷酸的序列段,其中具有0个错配的序列段是互补的,且具有1个或更多个错配的序列段是基本上互补的非限制性实例。在一些实施例中,碱基构成核酸(例如基因)的特征部分,其中该部分与核酸的一部分或其转录物相同或互补,而与同一基因组中的任何其他核酸(例如基因)或其转录物的一部分不相同或不互补。在一些实施例中,一部分是人MAPT的特征。

[0139] 在一些实施例中,如本文所述,提供的寡核苷酸,例如MAPT寡核苷酸的长度不超过约49、45、40、30、35、25或23个总核苷酸。在本文所述序列在5'端处以U或T开始的一些实施例中,U可缺失和/或经另一碱基替换。在一些实施例中,寡核苷酸具有以下碱基序列,该碱基序列是表中寡核苷酸的碱基序列,或包含表中寡核苷酸的碱基序列或包含表中寡核苷酸的碱基序列的一部分,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然,其具有本文披露的形式或本文披露的形式的一部分。

[0140] 在一些实施例中,寡核苷酸,例如MAPT寡核苷酸是立体随机的。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸是手性受控的。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸,是手性纯的(或“立体异构体”,“立体化学纯的”),其中寡核苷酸以单一立体异构体形式存在(在许多情况下是单一非对映异构(或“非对映”))形式,因为寡核苷酸中可以存在多个手性中心,例如在键联磷,糖碳等处)。如本领域技术人员所理解的,手性纯的寡核苷酸与它的其他立体异构形式分离(其程度是,可能存在一些杂质,因为化学和生物过程、选择性和/或纯化等,很少(如果有的话)达到绝对完全性)。在手性纯的寡核苷酸中,每个手性中心就其构型而言是独立地限定的(对于手性纯的寡核苷酸,每个核苷酸间键联是独立地立体限定的或手性受控的)。与包含立体定义的键联磷的手性受控和手性纯的寡核苷酸相反,包含手性键联磷的“外消旋”(或“立体随机”,“非手性受控”)的寡核苷酸(例如,来自传统的亚磷酰胺寡核苷酸合成,其中在偶联步骤中无立体化学控制并与传统的硫化作用组合(形成立体随机的硫代磷酸酯核苷酸间键联)指各种立体异构体(通常是非对映异构体(或“非对映体”)的随机混合物,因为在寡核苷酸中有多个手性中心;例如,来自使用除了核苷和键联磷中的手性元素不含手性元素的试剂进行传统的寡核苷酸的制备)。例如,对于其中*是硫代磷酸酯核苷酸间键联(其包含手性键联磷)的A*A*A,外消旋寡核苷酸制备物包括四个非对映体[$2^2=4$,考虑到两个手性键联磷,它们各自可以两种构型(Sp或Rp)之一存在]:A*S A*S A、A*S A*R A、A*R A*S A和A*R A*R A,其中*S代表Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,*R代表Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。对于手性纯的寡核苷酸,例如A*S A*S A,它以单一的立体异构形式存在,并且与其他立体异构体(例如,非对映体A*S A*R A、A*R A*S A和A*R A*R A)分开。

[0141] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸,包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个立体随机核苷酸间键联(在核苷酸碱键联处的Rp和Sp键联磷的混合物,例如来自传统的非手性受控的寡核苷酸合成)。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸,包含一个或多个(例如1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)手性受控的核苷酸间键联(在核苷酸碱键联处的Rp或Sp键联磷,例如来自手性受控的寡核苷酸合成)。在一些实施例中,核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0142] 尤其是,本披露提供了用于制备手性受控的(在一些实施例中,为立体化学纯的)寡核苷酸的技术。在一些实施例中,寡核苷酸是立体化学纯的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸是约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%,或约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%纯的。在一些实施例中,寡核苷酸的核苷酸间键联包含以下或由以下组成:一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)手性核苷酸间键联,其中的每个独立地具有至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,典型地至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的非对映纯度。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸,例如MAPT寡核苷酸,具有(DS)^{CIL}的非对映纯度,其中DS是如本披露中所述的非对映纯度(例如90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更高),并且CIL是手性受控的核苷酸间键联的数目(例如1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多个)。在一些实施例中,DS是95%-100%。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是手性受控的,并且CIL是手性受控的核苷酸间键联的数量。

[0143] 作为实例,以下表1A和表1B中列出了某些MAPT寡核苷酸,其包含某些实例碱基序列,核碱基修饰及其模式,糖修饰及其模式,核苷酸间键联及其模式,键联磷立体化学及其模式,连接子和/或另外的化学部分。其中,寡核苷酸,例如表1A中的那些,可用于靶向MAPT转录物,例如降低MAPT转录物和/或其产物的水平。

WV- 29888	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*SC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC* ST*SmC*SmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRSSRRSSRRSSSS SnR
WV- 30672	Geo*STeoGeoTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*Sm C*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOORSRRSSRRSSSSSS S
WV- 30673	Geo*STeoGeoTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmC*Sm C*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOORSRRSSRRSSSSSS S
WV- 30674	Geo*STeoGeoTeo*SC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*Sm C*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30970	Aeo*STeom5Ceom5CeoTeo*SC*SC*ST*ST*SC*RA*SG*SC*RT*SC*Sm C*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV- 30971	Aeo*STeom5Ceom5CeoTeo*SC*SC*ST*ST*RC*SA*SG*SC*RT*SC*Sm C*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV- 30972	Aeo*STeom5Ceom5CeoTeo*SC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*RT*SC*Sm C*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30973	Aeo*STeom5Ceom5CeoTeo*SC*SC*RT*ST*RC*SA*SG*SC*RT*SC*Sm C*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30974	Teo*SAeoTeom5Ceom5Ceo*ST*SC*SC*ST*ST*RC*SA*SG*RC*ST*Sm C*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV- 30975	Teo*SAeoTeom5Ceom5Ceo*ST*SC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*ST*Sm C*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30976	Teo*SAeoTeom5Ceom5Ceo*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*RC*ST*Sm C*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30977	Teo*SAeoTeom5Ceom5Ceo*ST*SC*RC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*ST*Sm C*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30978	m5Ceo*STeoAeoTeom5Ceo*SC*ST*SC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*Sm U*SmC*SmC*SmU*SmG	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30979	m5Ceo*STeoAeoTeom5Ceo*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SC*Sm U*SmC*SmC*SmU*SmG	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30980	m5Ceo*STeoAeoTeom5Ceo*SC*ST*RC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*Sm U*SmC*SmC*SmU*SmG	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30981	m5Ceo*STeoAeoTeom5Ceo*SC*ST*RC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SC*Sm U*SmC*SmC*SmU*SmG	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SOOOSRRSSRRSSSSSS
WV- 30982	Aeo*Sm5CeoTeoAeoTeo*SC*SC*ST*SC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SmC* SmU*SmC*SmC*SmU	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV- 30983	Aeo*Sm5CeoTeoAeoTeo*SC*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SmC* SmU*SmC*SmC*SmU	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS

WV-30984	Aeo*Sm5CeoTeoAeoTeo*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSS
WV-30985	Aeo*Sm5CeoTeoAeoTeo*SC*SC*RT*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	*ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSS
WV-30986	m5Ceo*SAeom5CeoTeoAeo*ST*SC*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	CACATATCCTCCTTC AGUCC	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV-30987	m5Ceo*SAeom5CeoTeoAeo*ST*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	CACATATCCTCCTTC AGUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30988	m5Ceo*SAeom5CeoTeoAeo*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	CACATATCCTCCTTC AGUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30989	m5Ceo*SAeom5CeoTeoAeo*ST*SC*RC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	CACATATCCTCCTTC AGUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30990	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoTeo*SA*ST*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGUC	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV-30991	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoTeo*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30992	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoTeo*SA*ST*RC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30993	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoTeo*SA*ST*RC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30994	Teo*Sm5CeoSm5CeoAeom5Ceo*ST*SA*ST*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGU	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV-30995	Teo*Sm5CeoSm5CeoAeom5Ceo*ST*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGU	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV-30996	Teo*Sm5CeoSm5CeoAeom5Ceo*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30997	Teo*Sm5CeoSm5CeoAeom5Ceo*ST*SA*RT*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-30998	Teo*STeom5CeoSm5CeoAeo*SC*ST*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAG	SOOOSSSRRSSRRSSSSSS
WV-30999	Teo*STeom5CeoSm5CeoAeo*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAG	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31000	Teo*STeom5CeoSm5CeoAeo*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAG	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31001	Teo*STeom5CeoSm5CeoAeo*SC*ST*RA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAG	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS

WV-31002	Geo*STeoTeom5Ceom5Ceo*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCACATATCCTC CUUCAG	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31003	Geo*STeoTeom5Ceom5Ceo*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCACATATCCTC CUUCAG	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31004	Geo*STeoTeom5Ceom5Ceo*SA*SC*RT*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCACATATCCTC CUUCAG	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31005	Geo*STeoTeom5Ceom5Ceo*SA*SC*RT*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCACATATCCTC CUUCAG	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31006	Teo*SGeoTeoTeom5Ceo*SC*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31007	Teo*SGeoTeoTeom5Ceo*SC*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SmC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31008	Teo*SGeoTeoTeom5Ceo*SC*SA*RC*ST*RA*ST*SC*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31009	Teo*SGeoTeoTeom5Ceo*SC*SA*RC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SmC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31010	Geo*STeoGeoTeo*SC*SC*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31011	Geo*STeoGeoTeo*SC*SC*SA*RC*ST*SA*RT*SC*SC*ST*SC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31012	Geo*STeoGeoTeo*SC*SC*RA*RC*ST*SA*RT*SC*SC*ST*SC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31013	Aeo*SGeoTeoGeoTeo*ST*SC*SC*SA*RC*ST*SA*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmU	AGTGTTCACATATC CUCCUU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31014	Aeo*SGeoTeoGeoTeo*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmU	AGTGTTCACATATC CUCCUU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31015	Aeo*SGeoTeoGeoTeo*ST*SC*RC*SA*RC*ST*SA*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmU	AGTGTTCACATATC CUCCUU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31016	Aeo*SGeoTeoGeoTeo*ST*SC*RC*RA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*SmU*SmC*SmU	AGTGTTCACATATC CUCCUU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31017	m5Ceo*SAeoGeoTeoGeo*ST*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SA*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmU	CAGTGTTCACATAT CCUCCU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31018	m5Ceo*SAeoGeoTeoGeo*ST*ST*SC*RC*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmU	CAGTGTTCACATAT CCUCCU	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31019	m5Ceo*SAeoGeoTeoGeo*ST*ST*RC*SC*RA*SC*ST*SA*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmU	CAGTGTTCACATAT CCUCCU	SOOOSRRSRSSSSSSSS

WV-31020	m5Ceo*SAeoGeoTeoGeo*ST*ST*RC*RC*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	CAGTGTTCCTAT CCUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31021	Geo*Sm5CeoAeoGeoTeo*SG*ST*ST*SC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCCTA TCCUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31022	Geo*Sm5CeoAeoGeoTeo*SG*ST*ST*SC*RC*SA*SC*ST*RA*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCCTA TCCUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31023	Geo*Sm5CeoAeoGeoTeo*SG*ST*ST*SC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCCTA TCCUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31024	Geo*Sm5CeoAeoGeoTeo*SG*ST*ST*SC*RC*SA*SC*ST*RA*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCCTA TCCUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31025	Teo*SGeom5CeoAeoGeo*ST*SG*ST*ST*SC*RC*SA*SC*RT*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCCT AUCCUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31026	Teo*SGeom5CeoAeoGeo*ST*SG*ST*ST*SC*RC*SA*SC*ST*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCCT AUCCUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31027	Teo*SGeom5CeoAeoGeo*ST*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SC*RT*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCCT AUCCUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31028	Teo*SGeom5CeoAeoGeo*ST*SG*RT*RT*SC*SC*RA*SC*ST*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCCT AUCCUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31029	Teo*STeoGeom5CeoAeo*SG*ST*SG*ST*ST*RC*SC*SA*RC*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31030	Teo*STeoGeom5CeoAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31031	Teo*STeoGeom5CeoAeo*SG*ST*RG*ST*ST*RC*SC*SA*RC*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31032	Teo*STeoGeom5CeoAeo*SG*ST*RG*RT*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31033	Geo*STeoGeom5Ceo*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*RA*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTC CUAUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31034	Geo*STeoGeom5Ceo*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTC CUAUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31035	Geo*STeoGeom5Ceo*SA*SG*RT*SG*RT*ST*SC*SC*RA*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTC CUAUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31036	Geo*STeoGeom5Ceo*SA*SG*RT*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTC CUAUCC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS
WV-31037	m5Ceo*SGeoTeoTeoGeo*SC*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTC ACUAUC	SOOOSRRSSRRSSSSSSSS

WV-31038	m5Ceo*SGeoTeoGeo*SC*SA*SG*ST*RG*ST*ST*RC*SC*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31039	m5Ceo*SGeoTeoGeo*SC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31040	m5Ceo*SGeoTeoGeo*SC*SA*RG*ST*RG*ST*ST*RC*SC*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31041	Aeo*Sm5CeoGeoTeo*SG*SC*SA*SG*ST*RG*ST*ST*RC*SC*SA*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31042	Aeo*Sm5CeoGeoTeo*SG*SC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*SA*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31043	Aeo*Sm5CeoGeoTeo*SG*SC*RA*SG*ST*RG*ST*ST*RC*SC*SA*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31044	Aeo*Sm5CeoGeoTeo*SG*SC*RA*RG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*SA*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31045	m5Ceo*SAeom5CeoGeoTeo*ST*SG*SC*SA*SG*RT*SG*ST*RT*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31046	m5Ceo*SAeom5CeoGeoTeo*ST*SG*SC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31048	m5Ceo*SAeom5CeoGeoTeo*ST*SG*RC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31049	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoGeo*ST*ST*SG*RC*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31050	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoGeo*ST*ST*SG*SC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31051	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoGeo*ST*ST*RG*RC*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-31052	m5Ceo*Sm5CeoAeom5CeoGeo*ST*ST*RG*SC*SA*RG*ST*SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTTCACUAUC	SOOOSRRSRSSSSSSSS
WV-32808	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*RC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCCTCCUUC	SnRmRRSSRRSSSSSSSS
WV-32809	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*RC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmCn001RmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCCTCCUUC	SnRmRRSSRRSSSSSSSS
WV-32810	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*RC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmCn001RmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCCTCCUUC	SnRmRRSSRRSSSSSSSS
WV-32811	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*RC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCCTCCUUC	SnRmRRSSRRSSSSSSSS

WV-32812	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSSSRRSSSS SnR
WV-32813	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-32814	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmCn001RmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSnR SSS
WV-32815	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmCn001RmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSn RSS
WV-32816	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS nRS
WV-32817	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SnR
WV-32818	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-32819	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmCn001RmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSnR SSS
WV-32820	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmCn001RmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSn RSS
WV-32821	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS nRS
WV-32822	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SnR
WV-32823	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-32824	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmCn001RmC*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSnR SSS
WV-32825	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmCn001RmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSn RSS
WV-32826	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS nRS
WV-32827	Geo*STeon001RGeoTeon001RTeo*RC*SC*RA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*SmC*SmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRmRRSSRRSSRRSSSS SnR
WV-33008	Aeo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RTeo*SC*SC*ST*ST*SC*RA*SG*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTCAGCT CCUGCA	SnRmRRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33009	Aeo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RTeo*SC*SC*ST*ST*SC*SA*SG*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTCAGCT CCUGCA	SnRmRRSSSSRRSSRRSSSS SS

WV-33010	Aeo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33011	Aeo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*RT*ST*RC*SA*SG*SC*RT*SC*SmC*SmU*SmG*SmC*SmA	ATCCTCCTTCAGCT CCUGCA	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33012	Teo*SAeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*ST*RC*SA*SG*RC*ST*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33013	Teo*SAeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*ST*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33014	Teo*SAeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*RC*ST*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33015	Teo*SAeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*RC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*ST*SmC*SmU*SmG*SmC	TATCCTCCTTCAGC TCCUGC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33016	m5Ceo*STeon001RAeoTeon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33017	m5Ceo*STeon001RAeoTeon001Rm5Ceo*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33018	m5Ceo*STeon001RAeoTeon001Rm5Ceo*ST*RC*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33019	m5Ceo*STeon001RAeoTeon001Rm5Ceo*ST*RC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	CTATCCTCCTTCAG CUCCUG	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33020	Aeo*Sm5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SmC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33021	Aeo*Sm5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*S	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33022	Aeo*Sm5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*SC*RT*ST*SC*RA*SG*SmC*SmU*SmC*SmU*SmG*SmC	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33023	Aeo*Sm5Ceon001Rm5Ceo*ST*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*S	ACTATCCTCCTTCA GCUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33024	m5Ceo*SAeon001Rm5CeoTeon001RAeo*ST*SC*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SmC*SmU*SmG*SmC*SmU*SmC*SmA	CACATCCTCCTTTC AGUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33025	m5Ceo*SAeon001Rm5CeoTeon001RAeo*ST*SC*ST*SC*RT*ST*SC*RT*ST*SC*SA*SG*SmC*SmU*SmG*SmC*SmC	CACATCCTCCTTTC AGUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33026	m5Ceo*SAeon001Rm5CeoTeon001RAeo*ST*SC*RC*ST*ST*SC*RC*ST*ST*RC*SA*SG*SmC*SmU*SmG*SmC*SmC	CACATCCTCCTTTC AGUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33027	m5Ceo*SAeon001Rm5CeoTeon001RAeo*ST*SC*RC*RT*ST*SC*RT*ST*SC*SA*SG*SmC*SmU*SmG*SmC*SmC	CACATCCTCCTTTC AGUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS

WV-33028	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RTeo*SA*ST*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGCUC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33029	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RTeo*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGCUC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33030	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RTeo*SA*ST*RC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGCUC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33031	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RTeo*SA*ST*RC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmC	CCACTATCCTCCTT CAGCUC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33032	Teo*Sm5Ceon001Rm5CeoAeon001Rm5Ceo*ST*SA*ST*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGCU	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33033	Teo*Sm5Ceon001Rm5CeoAeon001Rm5Ceo*ST*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGCU	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33034	Teo*Sm5Ceon001Rm5CeoAeon001Rm5Ceo*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*RT*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGCU	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33035	Teo*Sm5Ceon001Rm5CeoAeon001Rm5Ceo*ST*SA*RT*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmA*SmG*SmC*SmU	TCCACTATCCTCCT TCAGCU	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33036	Teo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*SA*ST*SC*RC*ST*SC*RC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAGC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33037	Teo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAGC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33038	Teo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAGC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33039	Teo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*RA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG*SmC	TTCCACTATCCTCC TUCAGC	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33040	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCCTACTATCCTC CUUCAG	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33041	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCCTACTATCCTC CUUCAG	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33042	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*RT*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCCTACTATCCTC CUUCAG	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33043	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*RT*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA*SmG	GTTCCTACTATCCTC CUUCAG	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33044	Teo*SGeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*ST*SA*RT*SC*SC*RT*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUCA	SnRonRSSSSSRSSSSSS
WV-33045	Teo*SGeon001Rm5Ceom5Ceon001Rm5Ceo*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC*ST*SC*SC*ST*ST*SC*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUCA	SnRonRSSSSSRSSSSSS

WV-33046	Teo*SGeon001RGeoTeon001Rm5Geo*SC*SA*RC*ST*SA*RT*SC*SC*R T*SC*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33047	Teo*SGeon001RGeoTeon001Rm5Geo*SC*SA*RC*ST*RA*ST*SC*RC*S T*SC*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA	TGTTCCACTATCCT CCUUA	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33048	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*SA*SC*ST*RA*ST*SC*RC* ST*SmC*SmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnOnRSSSSSSRRSSSS SS
WV-33049	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*SA*RC*ST*SA*RT*SC*SC* ST*SmC*SmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnOnRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33050	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*RA*RC*ST*SA*RT*SC*SC* ST*SmC*SmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33051	Aeo*SGeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*SC*SA*RC*ST*SA*RT*SC* SC*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU	AGTGTTCACACTATC CUCCU	SnOnRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33052	Aeo*SGeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SA*RT*SC* SC*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU	AGTGTTCACACTATC CUCCU	SnOnRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33053	Aeo*SGeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*RC*SA*RC*ST*SA*RT*SC* SC*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU	AGTGTTCACACTATC CUCCU	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33054	Aeo*SGeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*RC*RA*SC*ST*SA*RT*SC* SC*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU	AGTGTTCACACTATC CUCCU	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33055	m5Geo*SAeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*SC*RA*SC*ST*SA*R T*SC*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	CAGTGTTCACACTAT CCUCCU	SnOnRSSSSSSRRSSSS SS
WV-33056	m5Geo*SAeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*RC*SA*SC*ST*SA*R T*SC*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	CAGTGTTCACACTAT CCUCCU	SnOnRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33057	m5Geo*SAeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*RC*SA*SC*ST*SA*R T*SC*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	CAGTGTTCACACTAT CCUCCU	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33058	m5Geo*SAeon001RGeoTeon001RGeo*ST*SC*RC*SA*SC*ST*SA*R T*SC*SmC*SmU*SmC*SmC*SmU	CAGTGTTCACACTAT CCUCCU	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33059	Geo*Sm5Ceon001RAeoGeon001RGeo*SG*ST*SC*SC*RA*SC*ST*R A*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCACACTA TCCUCC	SnOnRSSSSSSRRSSSS SS
WV-33060	Geo*Sm5Ceon001RAeoGeon001RGeo*SG*ST*SC*RC*SA*SC*ST*R A*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCACACTA TCCUCC	SnOnRSSSSRRSSRRSSSS SS
WV-33061	Geo*Sm5Ceon001RAeoGeon001RGeo*SG*ST*RT*SC*SC*RA*SC*ST*R A*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCACACTA TCCUCC	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33062	Geo*Sm5Ceon001RAeoGeon001RGeo*SG*ST*RT*SC*RC*SA*SC*ST*R A*ST*SmC*SmC*SmU*SmC*SmC	GCAGTGTTCACACTA TCCUCC	SnOnRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33063	Teo*SGeon001Rm5GeoAeon001RGeo*ST*SG*ST*ST*SC*RC*SA*SC*R T*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCACACT AUCCU	SnOnRSSSSSSRRSSSS SS

WV- 33064	Teo*SGeon001Rm5Ceon001RAeo*ST*SG*ST*RT*SC*SC*RA*SC*S T*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCAC AUCCUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33065	Teo*SGeon001Rm5Ceon001RAeo*ST*SG*RT*ST*SC*RC*SA*SC*R T*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCAC AUCCUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33066	Teo*SGeon001Rm5Ceon001RAeo*ST*SG*RT*RT*SC*SC*RA*SC*S T*SA*SmU*SmC*SmC*SmU*SmC	TGCAGTGTTCAC AUCCUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33067	Teo*STeon001RGeom5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*ST*ST*RC*SC*SA*R C*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33068	Teo*STeon001RGeom5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*RA*S C*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33069	Teo*STeon001RGeom5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*SA*R C*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33070	Teo*STeon001RGeom5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*RA*S C*ST*SmA*SmU*SmC*SmC*SmU	TTGCAGTGTTCAC TAUCCU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33071	Geo*STeon001RGeo001Rm5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*R A*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTCAC CUAUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33072	Geo*STeon001RGeo001Rm5Ceon001RAeo*SG*ST*SG*RT*ST*SC*SC*S A*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTCAC CUAUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33073	Geo*STeon001RGeo001Rm5Ceon001RAeo*SG*RT*SG*RT*ST*SC*SC*R A*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTCAC CUAUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33074	Geo*STeon001RGeo001Rm5Ceon001RAeo*SG*RT*SG*RT*ST*SC*SC*S A*SC*SmU*SmA*SmU*SmC*SmC	GTTGCAGTGTTCAC CUAUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33075	m5Ceon001RGeo001RAeo*SC*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SC*R C*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTC ACUAUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33076	m5Ceon001RGeo001RAeo*SC*SA*SG*ST*SG*RT*ST*SC*R C*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTC ACUAUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33077	m5Ceon001RGeo001RAeo*SC*SA*SG*RT*SG*RT*ST*SC*R C*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTC ACUAUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33078	m5Ceon001RGeo001RAeo*SC*SA*SG*RT*SG*RT*ST*SC*R C*SA*SmC*SmU*SmA*SmU*SmC	CGTTGCAGTGTTC ACUAUC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33079	Aeo*STeon001RGeo001RAeo*SG*ST*SG*SA*SG*ST*RG*ST*ST*R C*SC*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTGCAGTGTTC CACUAU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33080	Aeo*STeon001RGeo001RAeo*SG*ST*SG*SA*SG*ST*SG*RT*ST*S C*SC*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTGCAGTGTTC CACUAU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV- 33081	Aeo*STeon001RGeo001RAeo*SG*ST*SG*SA*SG*ST*SG*RT*ST*R C*SC*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTGCAGTGTTC CACUAU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS

WV-33082	Aeo*Sm5Ceon001RGeoTeon001RGeo*SG*SC*RA*RG*ST*SG*RT*ST*S C*SC*SmA*SmC*SmU*SmA*SmU	ACGTTGCAGTGTT CACUAU	SnRonRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33083	m5Ceo*SAeon001Rm5Ceon001RGeo*ST*SG*SC*SA*SG*RT*SG*ST *RT*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTGCAGTGTT CCACUA	SnRonRSSSSSRSSRRSSSS SS
WV-33084	m5Ceo*SAeon001Rm5Ceon001RGeo*ST*SG*SC*SA*RG*ST*SG*R T*ST*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTGCAGTGTT CCACUA	SnRonRSSSSSRSSRRSSSS SS
WV-33085	m5Ceo*SAeon001Rm5Ceon001RGeo*ST*SG*RC*SA*SG*RT*SG*S T*RT*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTGCAGTGTT CCACUA	SnRonRSSRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33086	m5Ceo*SAeon001Rm5Ceon001RGeo*ST*SG*RC*SA*RG*ST*SG*R T*ST*SC*SmC*SmA*SmC*SmU*SmA	CACGTGCAGTGTT CCACUA	SnRonRSSRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33087	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RGeo*ST*ST*SG*RC*SA*SG*ST* SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTT TCCACU	SnRonRSSSSSRSSRRSSSS SS
WV-33088	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RGeo*ST*ST*SG*RC*SA*RG*ST* SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTT TCCACU	SnRonRSSSSSRSSRRSSSS SS
WV-33089	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RGeo*ST*ST*RG*RC*SA*SG*ST *SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTT TCCACU	SnRonRSSRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-33090	m5Ceo*Sm5Ceon001RAeom5Ceon001RGeo*ST*ST*RG*SC*SA*RG*ST *SG*RT*ST*SmC*SmC*SmA*SmC*SmU	CCACGTTGCAGTGTT TCCACU	SnRonRSSRRSSRRSSRRSSSS SS
WV-36875	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC* ST*SmCn001RmC*SmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRonRSSSSSRSSRRSSnR SnRS
WV-36876	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC* ST*SmCn001RmC*SmU*SmUn001RmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRonRSSSSSRSSRRSSnR SSnR
WV-36877	Geo*STeon001RGeoTeon001RGeo*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC* ST*SmCn001RmCmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRonRSSSSSRSSRRSSnR OnRS
WV-37299	mG*SmU*SmG*SmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*Sm 5Ceom5Ceon001RGeoTeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	SSSSSSSRSSRRSSSOOOS SS
WV-37300	mG*SmU*SmG*SmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*Sm 5Ceon001Rm5Ceon001RGeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	SSSSSSSRSSRRSSnRnRn RS
WV-37301	mG*SmU*SmG*SmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*Sm 5Ceon001Rm5Ceon001RGeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	SSSSSSSRSSRRSSnRnRn RS
WV-37302	mGn001RmU*SmG*SmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST *Sm5Ceon001Rm5Ceon001RGeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	mRSSSSSRSSRRSSnRO nRS
WV-37303	mG*SmUn001RmG*SmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST *Sm5Ceon001Rm5Ceon001RGeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	SnRSSSSSRSSRRSSnRO nRS
WV-37304	mG*SmU*SmGn001RmU*SmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST *Sm5Ceon001Rm5Ceon001RGeo*Sm5Ceon	GUGUCCACTATC CTCCTTC	SnRSSSSSRSSRRSSnRO nRS

WV-37305	mG*SmU*SmG*SmUn001RmU*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*RC*ST*Sm5Ceon001Rm5CeoTeon001RTeo*Sm5Ceo	GUGUCCACTATCCTCCTTC	SSSnRSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37497	Geo*STeom5Ceom5CeoAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SOOOSSSRSSRSSSSSS
WV-37498	Geo*STeon001Rm5Ceon001Rm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*G*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnRnRnRSSSSRSSRSSSS
WV-37499	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSS
WV-37500	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmGn001RmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSnR
WV-37501	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmCn001RmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSn
WV-37502	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSS
WV-37503	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmCn001RmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSS
WV-37504	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom5CeoTeom5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SSSSSSRSSRSSSSOOOS
WV-37505	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5Ceon001RTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SSSSSSRSSRSSSnRnRnRS
WV-37506	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5CeoTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SSSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37507	mGn001RmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5CeoTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	nRSSSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37508	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5CeoTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SnRSSSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37509	mG*SmU*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5CeoTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SSnRSSSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37510	mG*SmU*SmC*SmCn001RmA*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SGeom001Rm5CeoTeon001Rm5Ceo*Sm5Ceo	GUCCACTTTCTGACAGCTCC	SSSnRSSSSRSSRSSSnROnRS
WV-37511	Geo*STeom5Ceom5CeoAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SOOOSSSRSSRSSSSSS
WV-37512	Geo*STeon001Rm5Ceon001Rm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*G*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnRnRnRSSSSRSSRSSSS
WV-37513	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG*RA*SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGACAGCUCC	SnOnRSSSSRSSRSSSS

WV- 37514	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmGn001RmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSnR SSS
WV- 37515	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmG*SmCn001RmU*SmC*SmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSn RSS
WV- 37516	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmG*SmC*SmUn001RmC*SmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS nRS
WV- 37517	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmG*SmC*SmU*SmCn001RmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSS SnR
WV- 37518	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA*SG eom5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA*SG	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SSSSSSRRSSRRSSOOOS
WV- 37519	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA*SG eon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA*SG	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SSSSSSRRSSRRSSSnRnRn RS
WV- 37520	mG*SmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA*SG eon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA*SG	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SSSSSSRRSSRRSSSnRnRn RS
WV- 37521	mGn001RmU*SmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA *SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	nRSSSSRRSSRRSSSnRO nRS
WV- 37522	mG*SmUn001RmC*SmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA *SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SnRSSSSRRSSRRSSSnRO nRS
WV- 37523	mG*SmU*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA *SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SSnRSSSSRRSSRRSSSnRO nRS
WV- 37524	mG*SmU*SmC*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA *SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SSSnRSSSSRRSSRRSSSnRO nRS
WV- 38925	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmG*SmCn001RmU*SmCn001RmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSn RnR
WV- 38926	mGn001RmU*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA SA*SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	nRSSRRSSRRSSRRSSSnR OnRS
WV- 38927	mG*SmUn001RmC*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA SA*SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SnRnRSSRRSSRRSSSnR OnRS
WV- 38928	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmGn001RmC*SmUn001RmC*SmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSnR SnRS
WV- 38929	Geo*STeon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA *SC*SA*SmG*SmCn001RmU*SmCn001RmC	GTCCACTTTCTGAC AGCUCC	SnRonRSSRRSSRRSSSn RnR
WV- 38930	mGn001RmU*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA SA*SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	nRSSRRSSRRSSRRSSSnR OnRS
WV- 38931	mG*SmUn001RmC*SmCn001RmC*SmA*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG*RA*SC*SA SA*SGeon001Rm5Ceon001Rm5Ceom5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*SG*RA*SC*SA	GUCCACTTTCTGAC AGCTCC	SnRnRSSRRSSRRSSSnR OnRS

WV- 40376	Geo*STeon001RGeo*STeon001RTeo*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*R C*ST*SmCn001RmC*SmU*SmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SSS
WV- 40377	Geo*STeon001Rm5Ceo*Sm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG* RA*SC*SA*SmGn001RmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACCTTTCTGAC AGCUCC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SSS
WV- 40378	Geo*STeon001Rm5Ceo*Sm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG* RA*SC*SA*SmGn001RmC*SmU*SmC*SmC	GTCCACCTTTCTGAC AGCUCC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SSS
WV- 40379	Geo*STeon001RGeo*STeon001RTeo*SC*SC*SA*SC*RT*SA*ST*SC*R C*ST*SmCn001RmC*SmUn001RmU*SmC	GTGTTCCACTATCC TCCUUC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SnRS
WV- 40380	Geo*STeon001Rm5Ceo*Sm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RC*ST*SG* RA*SC*SA*SmGn001RmC*SmUn001RmC*SmC	GTCCACCTTTCTGAC AGCUCC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SnRS
WV- 40381	Geo*STeon001Rm5Ceo*Sm5Ceon001RAeo*SC*ST*ST*RT*SC*ST*SG* RA*SC*SA*SmGn001RmC*SmUn001RmC*SmC	GTCCACCTTTCTGAC AGCUCC	SnRSnRSSSSRSSSRSSSnR SnRS

表 1B. WV-12891。

ID	基因	经修饰的序列	碱基序列	立体化学/键联
WV-12891	LUC	m5Ceo*m5CeoTeom5Ceo*C*T*G*A*A*G*G*T*T*mC* mC*mU*mC*mC	CCTTCCCTGAAGGT TCCUCC	XOOOXXXXXXXXXXXX XXXX

注意事项:

表1A和1B中的描述、碱基序列和立体化学/键联因其长度而可能分为多行。除非另

有说明,否则表1A和1B中的所有寡核苷酸均为单链。如本领域技术人员所理解的,除非另外指明(例如,用r、m、m5、eo等),否则核苷单元是未修饰的并且含有未修饰的核碱基和2'-脱氧糖;除非另外指明,否则键联是天然磷酸酯键联;酸性/碱性基团独立地可以盐的形式存在。寡核苷酸中的部分和修饰(或其他化合物,例如用于制备提供的包含这些部分或修饰的寡核苷酸的那些化合物):

m:2'-OMe;

m5:C的5位处的甲基(核碱基是5-甲基胞嘧啶);

m5Ceo:5-甲基2'-O-甲氧基乙基C;

eo:2'-MOE(2'-O-甲氧乙基,2'-OCH₂CH₂OCH₃);

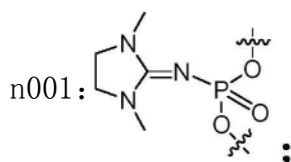
O、PO:磷酸二酯(磷酸酯)。其可以是末端基团(或其组分)或是键联,例如接头与寡核苷酸链之间的键联、核苷酸间键联(天然磷酸酯键联)等。磷酸二酯通常在立体化学/键联列中以“O”指示而通常不在描述列中标记(如果其为末端基团,例如5'-末端基团,则其在描述中指示而通常不在立体化学/键联列中指示);如果在描述列中未指示键联,则除非另外指明,否则其通常是磷酸二酯。注意,连接子(例如,L001)和寡核苷酸链之间的磷酸酯键联可能没有在描述栏中标记,并且在立体化学/键联栏中可能没有用“O”指出;

*、PS:硫代磷酸酯。它可以是末端基团(如果其为末端基团,例如5'-末端基团,则在描述列中指示而通常不在立体化学/键联中指示),或键联,例如,接头(例如,L001)与寡核苷酸链之间的键联、核苷酸间键联(硫代磷酸酯核苷酸间键联)等;

R、Rp:呈Rp构象的硫代磷酸酯。注意,*R(或*R)表示以Rp构象的单个硫代磷酸酯键联;

S、Sp:呈Sp构象的硫代磷酸酯。注意,*S(或*S)表示以Sp构象的单个硫代磷酸酯键联;

X:立体随机硫代磷酸酯;



nX立体随机n001;

n001R,nR:以Rp构型的n001;

n001S,nS:以Sp构型的n001。

长度

[0144] 如本领域技术人员所理解的,寡核苷酸可以具有各种长度,以为各种用途提供所需的特性和/或活性。用于评估、选择和/或优化寡核苷酸长度的许多技术在本领域中是可用的,并且可以根据本披露使用。如本文所述,在许多实施例中,MAPT寡核苷酸具有合适的长度以与其靶杂交并降低其靶和/或其编码产物的水平。在一些实施例中,寡核苷酸足够长以识别靶核酸(例如,MAPT mRNA)。在一些实施例中,寡核苷酸足够长以区分靶核酸和其他核酸(例如,具有不是MAPT的碱基序列的核酸)以减少脱靶效应。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸足够短以降低制造或生产的复杂性并降低产品成本。

[0145] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列的长度为约10-500个核碱基。在一些实施

例中,碱基序列的长度为约10-500个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约10-50个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15-50个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15至约30个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约10至约25个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15至约22个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约18个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约19个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约20个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约21个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约22个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约23个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约24个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度是约25个核碱基。在一些实施例中,每个核碱基是任选地经取代的A、T、C、G、U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

区域、翼和核心

[0146] 在一些实施例中,寡核苷酸,例如MAPT寡核苷酸,包含若干个区域,每个区域独立地包含一个或多个连续核苷以及任选地一个或多个核苷酸间键联。在一些实施例中,区域与其相邻区域的不同之处在于其包含一个或多个与其一个或多个相邻区域的相应结构特征不同的结构特征。示例性结构特征包括核碱基修饰及其模式,糖修饰及其模式,核苷酸间键联及其模式(其可以是核苷酸碱键联类型(例如磷酸酯、硫代磷酸酯、硫代磷酸三酯,中性核苷酸间键联等及其模式),键联磷修饰(骨架磷修饰)及其模式,骨架手性中心(键联磷)立体化学及其模式[例如,手性受控的核苷酸间键联的Rp和/或Sp(顺序为5'至3')任选地非手性受控的核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联(如果有)的组合(例如,OSOOO RSSRS SSSRS SOOOS)]。在一些实施例中,区域包含在其一个或多个邻近区域中不存在的化学修饰(例如糖修饰、碱基修饰、核苷酸间键联或核苷酸间键联的立体化学)。在一些实施例中,区域缺乏在其一个或多个相邻区域中存在的化学修饰。

[0147] 在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个区域或由其组成。在一些实施例中,寡核苷酸包含三个或更多个区域或由其组成。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个相邻区域或由其组成,其中一个区域被称为翼区域,另一个区域被称为核心区。此类寡核苷酸的结构包含翼-核心或核心-翼结构或由其组成。在一些实施例中,寡核苷酸包含三个相邻区域或由其组成,其中一个区域侧接两个相邻区域。在一些实施例中,将中间区域指定为核心区,并且将每个侧接区域指定为翼区域(如果连接至核心的5'端则为5'翼,如果连接至核心的3'端则为3'翼)。此类寡核苷酸的结构包含翼-核心-翼结构或由其组成。

[0148] 在一些实施例中,第一区域(例如,翼)与第二区域(例如,核心)的不同之处在于,第一区域包含第二区域中不存在的一个或多个糖修饰或其模式。在一些实施例中,第一(例如,翼)区域包含第二(例如,核心)区域不存在的一个或多个糖修饰或其模式。在一些实施例中,糖修饰是2'-修饰。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OR,其中R是任选地经取代的C₁₋₆脂肪族。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OR,其中R是任选地经取代的C₁₋₆烷基。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OMe。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,区域中的每个糖被独立地修饰。在一些实施例中,区域(例如翼)的每个糖独立地包含修饰,该修饰可以彼此相同或不同。在一些实施例中,区域(例如翼)的每个糖包含与本披露中描述的相同的修饰,例如2'-修饰。在一些实施例中,区

域(例如核心)的糖不被修饰。在一些实施例中,区域(例如核心)的每个糖是未修饰的DNA糖(在2'-位置具有两个-H)。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的结构包含翼-核心、核心-翼或翼-核心-翼结构或由其组成,其中每个翼独立地包含一个或多个糖修饰,并且核心中的每个糖是天然DNA糖(在2'-位置具有两个-H)。

[0149] 另外地或可替代地,第一区域(例如,翼)可以包含与另一个区域(例如,核心或另一个翼)不同的一个或多个核苷酸间键联或其模式。在一些实施例中,区域(例如,翼)包含两个或更多个连续的天然磷酸酯键联。在一些实施例中,区域(例如,核心)不包含连续的天然磷酸酯键联。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的结构包含翼-核心、核心-翼或翼-核心-翼结构或由其组成,其中至少一个翼独立地包含两个或更多个连续的天然磷酸酯键联,并且该核心不包含连续的天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在翼-核心-翼结构中,每个翼独立地包含两个或更多个连续的核苷酸间键联。除非另有说明,出于翼-核心-翼结构的立体化学的目的,在核心中包含连接核心与翼的核苷酸间键联(例如,参见上文)。

[0150] 在一些实施例中,区域是5'翼、3'翼或核心。在一些实施例中,5'翼在寡核苷酸的5'端,3'翼在寡核苷酸的3'端,并且核心在5'翼和3'翼之间,并且寡核苷酸包含翼-核心-翼结构或形式或由其组成。在一些实施例中,核心包含连续天然DNA糖(2'-脱氧核糖)的序列段。在一些实施例中,核心包含至少5个连续天然DNA糖(2'-脱氧核糖)的序列段。在一些实施例中,核心包含至少10个连续天然DNA糖(2'-脱氧核糖)的序列段。在一些实施例中,核心被称为缺口。在一些实施例中,包含翼-核心-翼结构或由其组成的寡核苷酸被描述为缺口体。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的结构包含翼-核心结构或由其组成。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的结构包含核心-翼结构或由其组成。在一些实施例中,寡核苷酸的结构包含寡核苷酸链或由寡核苷酸链组成,该寡核苷酸链包含翼-核心-翼、翼-核心或翼-核心或由其组成,其中该寡核苷酸链任选地通过如本披露中描述的连接子与另外的化学部分缀合。在一些实施例中,本披露提供了靶向MAPT并具有包含一个或两个翼和核心,并且包含翼-核心-翼、核心-翼或翼-核心结构或由其组成的寡核苷酸。

[0151] 据报道,核糖核酸酶H(RNA酶H,例如,RNA酶H1,RNA酶H2等)识别包含RNA和DNA的杂交体的结构(例如,异源双链体),并切割RNA。在一些实施例中,包含连续天然DNA糖(例如,在核心区中的2'-脱氧核糖)的序列段的寡核苷酸能够与RNA例如mRNA退火以形成异源双链体;并且这种异源双链结构能够被RNA酶H识别并且RNA被RNA酶H切割。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的核心包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个连续天然DNA糖,并且该核心能够特异性地退火至靶转录物[例如,MAPT转录物(例如,前-mRNA,成熟的mRNA等)];并且形成的结构能够被RNA酶H识别并且转录物被RNA酶H切割。在一些实施例中,提供的寡核苷酸的核心包含5个或更多个连续DNA糖。

[0152] 区域,例如,翼、核心等,可以具有各种合适的长度。在一些实施例中,区域(例如,翼、核心等)包含1-30个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个或更多核碱基。如本披露中所述,在一些实施例中,每个核碱基独立地包含任选地经取代的单环、双环或多环,该环具有至少一个氮环原子;在一些实施例中,核碱基各自独立地是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,翼(例如第一翼、第二翼、5'-翼、3'-翼等)长度为约1-10个,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是1个核碱基。在一些实施例中,翼的长度

是约2个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是约3个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是约4个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是约5个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是约6个核碱基。在一些实施例中,翼的长度是约7个核碱基。在一些实施例中,翼-核心-翼结构的每个翼独立地具有如本披露中所描述的长度。在一些实施例中,两个翼具有相同的长度。在一些实施例中,两个翼的长度不同。在一些实施例中,核心的长度为约5-25,例如约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或更多个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约5个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约6个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约7个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约8个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约9个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约10个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约11个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约12个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约13个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约14个核碱基。在一些实施例中,核心的长度是约15个核碱基。例如,在一些实施例中,翼-核心-翼具有2-9-6、3-9-3、3-9-4、3-9-5、4-7-4、4-9-4、4-9-5、4-10-5、4-11-4、4-11-5、5-7-5、5-8-6、5-9-3、5-9-5、5-10-4、5-10-5、6-7-6、6-8-5、或6-9-2。在一些实施例中,翼-核心-翼是5-10-5。

[0153] 在一些实施例中,翼包含一个或多个糖修饰。在一些实施例中,翼-核心-翼结构的两个翼包含糖修饰的不同模式或不同的糖修饰(并且寡核苷酸具有或包含“不对称”形式)。在一些实施例中,与不存在糖修饰相比,糖修饰提供改善的稳定性和/或退火特性。

[0154] 在一些实施例中,第一翼(例如5'-翼)包含一个或多个2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C₁₋₄脂肪族。在一些实施例中,第一翼的每个糖包含2'-OR修饰。在一些实施例中,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,第一翼的每个糖包含2'-MOE。

[0155] 在一些实施例中,第二翼(例如3'-翼)包含一个或多个2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C₁₋₄脂肪族。在一些实施例中,第二翼的每个糖包含2'-OR修饰。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。在一些实施例中,第二翼的每个糖包含2'-OMe。在一些实施例中,第二翼(例如3'-翼)不共享与第一翼(例如5'-翼)的糖修饰相同的模式。在一些实施例中,第二翼(例如3'-翼)不含有第一翼(例如5'-翼)的糖修饰。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,第一翼可以是3'-翼,第二翼可以是5'-翼。

[0156] 在一些实施例中,核心包含1-25个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个糖,这些糖不包含2'-OR基团或不是双环或多环糖。在一些实施例中,核心包含1-25个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个糖,这些糖不包含2'-OR基团。在一些实施例中,核心包含1-25个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25个糖,这些糖包含两个2'-H。在许多实施例中,核心不包含2'-OR基团。在许多实施例中,核心区域中的糖具有两个2'-H。

[0157] 在一些实施例中,某些糖修饰例如2'-MOE在某些条件下比其他糖修饰例如2'-OMe提供更高的稳定性。在一些实施例中,翼包含2'-MOE修饰。在一些实施例中,包含嘧啶碱基(例如,C、U、T等)的翼的每个核苷单元包含2'-MOE修饰。在一些实施例中,翼的每个糖单元包含2'-MOE修饰。在一些实施例中,包含嘌呤碱基(例如,A、G等)的翼的每个核苷单元不包

含2'-MOE修饰(例如,每个这样的核苷单元包含2'-OMe或不包含2'-修饰等)。在一些实施例中,包含嘌呤碱基的翼的每个核苷单元包含2'-OMe修饰。在一些实施例中,在包含2'-MOE修饰的糖单元的3'-位置处的每个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

[0158] 在一些实施例中,翼不包含2'-MOE修饰。在一些实施例中,翼包含2'-OMe修饰。在一些实施例中,翼的每个核苷单元独立地包含2'-OMe修饰。

[0159] 在一些实施例中,翼包含双环糖。在一些实施例中,每个翼独立地包含一个或多个双环糖。

[0160] 在一些实施例中,双环糖是LNA、cEt或BNA糖。

[0161] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有翼-核心-翼结构。在一些实施例中,核心包含1个或更多个天然DNA糖。在一些实施例中,核心包含5个或更多个连续天然DNA糖。在一些实施例中,核心包括5-10、5-15、5-20、5-25、5-30或5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多个任选地是连续的天然DNA糖。在一些实施例中,核心包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多个连续天然DNA糖。在一些实施例中,核心包含10个或更多个连续天然DNA糖。在一些实施例中,核心能够与靶mRNA杂交,形成RNA酶H可识别的双链体结构,使得RNA酶H能够切割mRNA。

[0162] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有翼-核心-翼结构且具有不对称形式。

[0163] 在具有不对称形式的寡核苷酸的一些实施例中,一个翼在糖修饰或其模式、或骨架核苷酸间键联或其模式、或骨架手性中心或其模式方面不同于另一翼。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸具有不对称形式,其中一个翼与另一个翼相比具有不同的糖修饰。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸,具有不对称形式,其中一个翼与另一个翼相比包含不同的糖修饰模式。

[0164] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸(或翼、核心、区域、嵌段或其任何部分)可以是或包含描述于以下的修饰、修饰模式、核苷酸间键联、核苷酸间键联模式、手性中心模式、翼、核心、嵌段、区域、和/或形式(包括但不限于不对称形式):US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252,上述参考文献的每个的修饰、修饰模式、核苷酸间键联、核苷酸间键联模式、手性中心模式、翼、核心、嵌段、区域、和形式通过引用独立地并入本文。

[0165] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心结构。

[0166] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自独立地包含至少一个2'-MOE。

[0167] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自独立地包含至少一个2'-OMe。

[0168] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含不对称形式或由其组成。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含对称形式或由其组成。

[0169] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含不对称形式,其中寡核苷酸的结

构是翼-核心-翼结构,其中第一翼的形式不同于第二翼。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含不对称形式,其中寡核苷酸的结构是翼-核心-翼结构,其中第一和第二翼在糖修饰(或其组合或模式)和/或核苷酸间键联(或其组合或模式)方面不同。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含不对称形式,其中寡核苷酸的结构是翼-核心-翼结构,其中第一和第二翼在糖修饰(或其组合或形式)方面不同。

[0170] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含一种类型的糖,且另一个翼包含那一类型和第二类型。

[0171] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,核心包含2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、或更多个连续的2'-脱氧核糖。

[0172] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,核心包含至少5个连续的2'-脱氧核糖。

[0173] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,核心包含至少6个连续的2'-脱氧核糖。

[0174] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,核心包含至少7个连续的2'-脱氧核糖。

[0175] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,其中核心包含至少8个连续的2'-脱氧核糖。

[0176] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,其中核心包含至少9个连续的2'-脱氧核糖。

[0177] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,其中核心包含至少10个连续的2'-脱氧核糖。

[0178] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少三种不同类型的核苷酸间键联。

[0179] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含:至少一个天然磷酸酯核苷酸间键联;至少一个硫代磷酸酯;和至少一个中性或非带负电荷的核苷酸间键联。

[0180] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含:至少一个天然磷酸酯核苷酸间键联;至少一个手性受控的硫代磷酸酯;和至少一个中性或非带负电荷的核苷酸间键联。

[0181] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含:至少一个天然磷酸酯核苷酸间键联;至少一个硫代磷酸酯;和至少一个中性或非带负电荷的手性受控的核苷酸间键联。

[0182] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含:至少一个天然磷酸酯核苷酸间键联;至少一个手性受控的硫代磷酸酯;和至少一个中性或非带负电荷的手性受控的核苷酸间键联。

[0183] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,其中核心包含至少12个连续的2'-脱氧核糖。

[0184] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含核心和至少一个翼,其中核心包含至少14个连续的2'-脱氧核糖。

[0185] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含至少2种不同类型的糖。

[0186] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含2'-DNA糖(天然2'-脱氧核糖)和包含2'-修饰的糖。

[0187] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和

第二翼各自包含2'-DNA糖(天然2'-脱氧核糖)和2'-OMe糖。

[0188] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)、至少一个LNA糖和至少一个2'-MOE糖。

[0189] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)、LNA糖和2'-MOE糖。

[0190] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)、至少一个LNA糖和至少一个2'-OMe糖。

[0191] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)、LNA糖和2'-OMe糖。

[0192] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含至少3种不同类型的糖(例如,选自未修饰的糖和具有多种修饰的经修饰的糖)。

[0193] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中至少一个翼包含一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)LNA糖。

[0194] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含一个或多个2'-MOE糖和一个或多个LNA糖。

[0195] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含一个或多个LNA糖。

[0196] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含一个或多个LNA糖和一个或多个2'-MOE糖,且另一个翼包含一个或多个LNA糖和一个或多个2'-OMe糖。

[0197] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)、LNA糖、和2'-MOE糖。

[0198] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含至少3种不同类型的糖。

[0199] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)和至少1个经修饰的糖(与2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)相比)。

[0200] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)和至少2个糖修饰。

[0201] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼,其中翼包含至少3种不同类型的糖。

[0202] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少1个碱基。

[0203] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少2个碱基。。

[0204] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少3个碱基。

[0205] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少4个碱基。

[0206] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼是5个碱基。

[0207] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少6个碱基。

[0208] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼包含至少7个碱基。

[0209] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构包含翼,其中翼是8个碱基。

[0210] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中第一翼和第二翼各自包含两种不同类型的糖。

[0211] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含至少一个2'-MOE糖且另一个翼包含至少一个2'-OMe糖。

[0212] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)和至少一个经修饰的糖。

[0213] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的结构是或包含翼-核心-翼结构,其中一个翼包含天然2'-脱氧核糖(未修饰的DNA糖)和至少两个经修饰的糖。

[0214] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以包含如本文所述或本领域已知的任何第一翼、核心和/或第二翼。

[0215] 在一些实施例中,具有是本文披露的MAPT寡核苷酸序列、包含本文披露的MAPT寡核苷酸序列或包含本文披露的MAPT寡核苷酸序列的序列段的碱基序列的寡核苷酸可包含如本文所述或本领域已知的第一翼、核心和/或第二翼。

核苷酸间键联

[0216] 在一些实施例中,寡核苷酸包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰。根据本披露,可以利用多种核苷酸间键联来连接包含核碱基的单元,例如核苷。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含一个或多个修饰的核苷酸间键联和一个或多个天然磷酸酯键联两者。如本领域技术人员所公知的,天然磷酸酯键联广泛存在于天然DNA和RNA分子中;它们具有 $-OP(O)(OH)O^-$ 的结构,连接DNA和RNA的核苷中的糖,并且可呈多种盐形式,例如在生理pH值(约7.4)下,天然磷酸酯键联主要是以具有 $-OP(O)(O^-)O^-$ 阴离子的盐形式存在。经修饰的核苷酸间键联或非天然磷酸酯键联是不为天然磷酸酯键联或其盐形式的核苷酸间键联。经修饰的核苷酸间键联取决于它们的结构也可以呈其盐形式。例如,如本领域技术人员所理解的,具有 $-OP(O)(SH)O^-$ 的结构的硫代磷酸酯核苷酸间键联可以呈多种盐形式,例如在生理pH下(约7.4),其中阴离子是 $-OP(O)(S^-)O^-$ 。

[0217] 在一些实施例中,寡核苷酸包含核苷酸间键联,该核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、甲基膦酸酯、氨基磷酸酯、硫代磷酸盐、3'-硫代磷酸盐或5'-硫代磷酸盐。

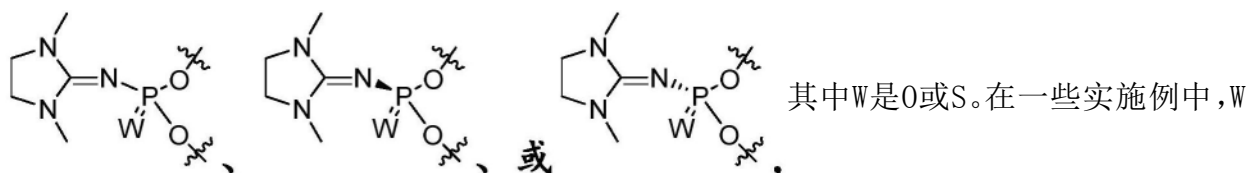
[0218] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是包含手性键联磷的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是立体化学纯的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,骨架手性中心模式包含以下或由以下组成:手性受控的核苷酸间键联(R_p或S_p)的位置和键联磷构型以及非手性核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联)的位置。

[0219] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如在以下中描述的经修饰的核苷酸间键联(例如,具有式I、I-a、I-b、或I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的结构的经修饰的核苷酸间键联,或其盐形式):US

9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252,其各自的核苷酸间键联(例如,具有式I、I-a、I-b、或I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的那些)通过引用独立地并入本文。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联(例如,具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等中的一个)如在以下中描述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等中一个,如在以下中描述:WO 2018/223056、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的此类核苷酸间键联通过引用独立地并入本文。

[0220] 在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联可以改善寡核苷酸的递送和/或活性(例如,降低靶基因或其基因产物的水平、活性和/或表达的能力)。

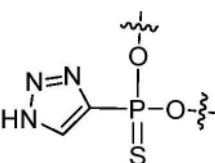
[0221] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,非带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,非带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑或炔烃部分。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是任选地经取代的。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是经取代的。在一些实施例中,三唑部分是未经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分,并且具有以下结构:

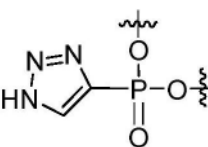


是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是立体化学上受控的。

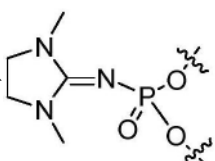
[0222] 在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是包含三唑部

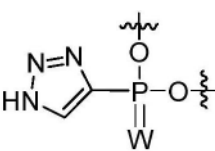
分的核苷酸间键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联或非带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,包含三唑部分(例如,任选地经取代

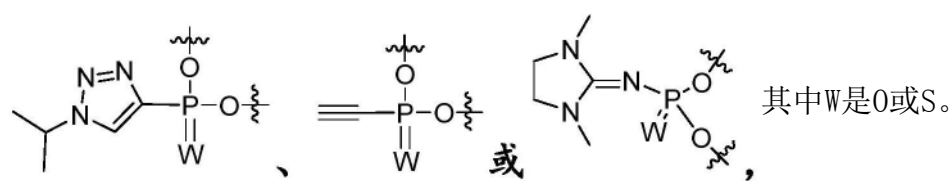
的三唑基)的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的

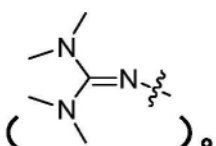
核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联,例如非带负电

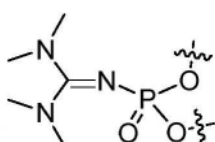
荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联,包含环状胍部分。在一些实施例中,包含环状胍部

分的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键

联或中性核苷酸间键联是或包含选自以下的结构:  、



[0223] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含Tmg基团  在一些实施例中,核

苷酸间键联包含Tmg基团并具有  的结构(“Tmg核苷酸间键联”)。在一些实施

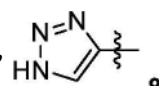
例中,中性核苷酸间键联包括PNA和PMO的核苷酸间键联以及Tmg核苷酸间键联。

[0224] 在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,这种杂环基或杂芳基具有5元环。在一些实施例中,这种杂环基或杂芳基具有6元环。

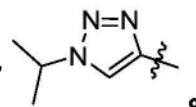
[0225] 在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经

取代的5元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,杂芳基直接键合到键联磷。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,

非带负电荷的核苷酸间键联包含未经取代的三唑基,例如,

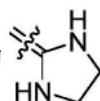


中,非带负电荷的核苷酸间键联包含经取代的三唑基,例如,



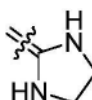
[0226] 在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,至少两个杂原子是氮。在一些实施例中,杂环基直接键合到键联磷。在一些实施例中,当杂环基是经由其=N-直接与键联磷键合的胍部分的一部分时,该杂环基经由接头(例如,=N-)与键联磷键合。在一些实施例中,

非带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的



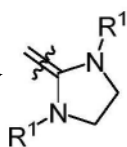
基团。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸

间键联包含经取代的



基团。在一些实施例中,每个R¹独立地是任选经取代的C₁₋₆烷基。在一

些实施例中,每个R¹独立地是甲基。



[0227] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,非带负电荷的核苷酸间键联)包含三唑或炔烃部分,其各自是任选地经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含未经取代的三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含经取代的三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含烷基部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含未经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含经取代的炔基。在一些实施例中,炔基直接键合到键联磷。

[0228] 在一些实施例中,寡核苷酸包含不同类型的核苷酸间磷键联。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的(非天然)核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个硫代磷酸酯。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个非带负电荷的核苷酸间键联。

[0229] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,中性核苷酸间键联可以比硫代磷酸酯核苷酸间键联(PS)更具疏水性,而硫代磷酸酯核苷酸间键联可以比天然磷酸酯键联(P0)更具疏水性。通常,不同于PS或P0,中性核苷酸间键联具有更少的电荷。不希望受任何特定

理论的束缚,本披露指出,将一个或多个中性核苷酸间键联并入寡核苷酸中可以增加寡核苷酸被细胞摄取和/或从内体逃脱的能力。不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个中性核苷酸间键联并入可用于调节在寡核苷酸与其靶核酸之间形成的双链体的解链温度。

[0230] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联(例如中性核苷酸间键联)掺入寡核苷酸中能够增加寡核苷酸介导例如基因敲低的功能的能力。在一些实施例中,能够介导核酸或由其编码的产物的水平的敲低的寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,能够介导靶基因的表达敲低的寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。

[0231] 在许多实施例中,如广泛证明的,本披露的寡核苷酸包含两个或更多个不同的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和非带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、非带负电荷的核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,非带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个手性经修饰的核苷酸间键联独立地是手性受控的。

[0232] 如天然DNA和RNA中的典型连接是核苷酸间键联与两个糖(其可以是未修饰的或如本文所述的经修饰的)形成键。在许多实施例中,如本文所列举的,核苷酸间键联通过其氧原子或杂原子与在其5'碳处的一个任选地修饰的核糖或脱氧核糖和在其3'碳处的另一个任选地修饰的核糖或脱氧核糖形成键。在一些实施例中,通过核苷酸间键联连接的每个核苷单元独立地包含核碱基,该核碱基独立地是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

[0233] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含核苷酸间键联,其中典型的磷酸二酯键联的带负电荷的非桥联氧被不带电荷的烷基取代基(例如甲基(Met)或乙基(Et))替换,如在P-烷基磷酸核酸(phNA)中,例如P-甲基phNA或P-乙基phNA。参见,例如:Micklefield等人2001Curr.Med.Chem.[当代药物化学]8,1157-1179;和Arangundy-Franklin等人2019Nat.Chem.[自然化学]11,533-542。

[0234] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸是膦酰基甲基-苏糖基核酸(tPhoNA)和/或包含膦酰基甲基-苏糖基核苷酸间键联。Liu等人2018J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]140,6690-6699。

[0235] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露,可以利用许多其他类型的核苷酸间键联,例如,在以下中描述的那些:美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,177,195;5,023,243;5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,188,897;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,423;5,264,564;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,938;5,405,939;5,434,257;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,466,677;5,470,967;5,476,925;5,489,677;5,519,126;5,536,821;5,541,307;5,541,316;5,550,111;5,561,225;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,625,050;5,633,360;5,64,562;5,663,312;5,677,437;5,

677,439;6,160,109;6,239,265;6,028,188;6,124,445;6,169,170;6,172,209;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;或 RE39464。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联描述于以下中:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的核碱基、糖、核苷酸间键联,手性助剂/试剂以及寡核苷酸合成技术(试剂、条件、循环等)通过引用独立地并入本文。

[0236] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个核苷酸,这些核苷酸独立地包含在某些条件下易于“自行释放”的磷修饰。即,在某些条件下,设计特定的磷修饰,以使其从寡核苷酸自切割以提供例如天然磷酸酯键联。此类磷修饰基团的某些实例可以在US 9982257中找到。在一些实施例中,自行释放基团包含吗啉基。在一些实施例中,自行释放基团的特征在于将试剂递送至核苷酸间磷接头的能力,该试剂有助于进一步修饰磷原子,例如脱硫。在一些实施例中,该试剂是水,并且进一步的修饰是水解以形成天然磷酸酯键联。

[0237] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个核苷酸间键联,其改善寡核苷酸的一种或多种药物特性和/或活性。在本领域充分记载,某些寡核苷酸被核酸酶迅速降解,并且表现出较差的通过细胞质细胞膜发生的细胞摄取(Poijarvi-Virta等人,Curr.Med.Chem.[当代药物化学](2006),13(28):3441-65;Wagner等人,Med.Res.Rev.[医学研究评论](2000),20(6):417-51;Peyrottes等人,Mini Rev.Med.Chem.[药物化学短评](2004),4(4):395-408;Gosselin等人,(1996),43(1):196-208;Bologna等人,(2002),Antisense&Nucleic Acid Drug Development[反义和核酸药物开发]12:33-41)。Vives等人(Nucleic Acids Research[核酸研究](1999),27(20):4071-76)报道,在某些条件下,叔丁基SATE原寡核苷酸(pro-oligonucleotide)相比于母体寡核苷酸表现出明显增加的细胞渗透。

[0238] 多种类型的核苷酸间键联可以与其他结构元件例如糖组合使用,以实现所需的寡核苷酸特性和/或活性。例如,本披露在设计寡核苷酸时通常利用经修饰的核苷酸间键联和经修饰的糖,任选地具有天然磷酸酯键联和天然糖。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中一个或多个是天然磷酸酯键联。

寡核苷酸组合物

[0239] 尤其是,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了本文所述的寡核苷酸的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物(例如MAPT寡核苷酸组合物)包含多个本披露中描述的寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸组合物(例如MAPT寡核苷酸组合物)是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸组合物(例如MAPT寡核苷酸组合物)是非手性受控的(是立体随机性的)。

[0240] 天然磷酸酯键联的键联磷是非手性的。许多修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷是手性的。在一些实施例中,在寡核苷酸组合物的制备期间(例

如,在传统的亚磷酸胺寡核苷酸合成中),没有有目的地设计或控制手性键联磷的构型,从而产生非手性受控(立体随机)的寡核苷酸组合物(基本上是外消旋制剂),其是各种立体异构体的复杂的随机的混合物(非对映异构体)-对于具有n个手性核苷酸间键联(键联磷是手性的)的寡核苷酸,通常是 2^n 个立体异构体(例如,当n是10时, $2^{10}=1,032$;当n为20时, $2^{20}=1,048,576$)。这些立体异构体具有相同的构成,但是其键联磷的立体化学模式不同。

[0241] 在一些实施例中,立体随机的寡核苷酸组合物具有足够用于某些目的和/或应用的特性和/或活性。在一些实施例中,与手性受控的寡核苷酸组合物相比,立体随机的寡核苷酸组合物可以更便宜地、更容易地和/或更简单地生产。然而,立体随机组合物中的立体异构体可具有不同的特性、活性和/或毒性,导致特别是与某些相同构造的寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物相比,立体随机组合物的治疗效果不一致和/或非预期的副作用。

手性受控的寡核苷酸组合物

[0242] 在一些实施例中,本披露涵盖用于设计和制备手性受控的寡核苷酸组合物的技术。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含控制/预定(不是如立体随机组合物中那样随机的)水平的多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸在一个或多个手性核苷酸间键联(手性受控的核苷酸间键联)处共享相同的键联磷立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享相同的骨架手性中心模式(键联磷的立体化学)。在一些实施例中,骨架手性中心模式如本披露中所述。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同的构造。在一些实施例中,寡核苷酸是结构相同的。

[0243] 例如,在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中多个寡核苷酸中寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列,和

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

其中组合物中多个寡核苷酸中寡核苷酸的水平是非随机的(例如,如本文所述受控/预先确定的)。

[0244] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中多个寡核苷酸中寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列,和

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

其中相对于共享该共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0245] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中多个寡核苷酸中寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列,和

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

其中在组合物中共享共同的碱基序列的所有寡核苷酸的约1%-100%, (例如, 约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80-100%、90-100%、95-100%、50%-90%、或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%、或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%) 是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0246] 在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸的百分比/水平是或是至少(DS)^{nc}, 其中DS为90%-100%, 并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。在一些实施例中, nc是5、6、7、8、9、10或更大。在一些实施例中, 百分比/水平为至少10%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少20%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少30%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少40%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少50%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少60%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少65%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少70%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少75%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少80%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少85%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少90%。在一些实施例中, 百分比/水平为至少95%。

[0247] 在一些实施例中, 多个寡核苷酸共享共同的骨架键联模式。在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地在核苷酸间键联位点各自独立地具有特定构造(例如, -O-P(O)(SH)-O-) 或其盐形式(例如, -O-P(O)(SNa)-O-) 的核苷酸间键联。在一些实施例中, 在每个核苷酸间键联位点处的核苷酸间键联具有相同的形式。在一些实施例中, 在每个核苷酸间键联位点处的核苷酸间键联具有不同的形式。

[0248] 在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同的构造。在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有共同的构造的相同形式。在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有两种或更多种形式的共同构造。在一些实施例中, 多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有特定的寡核苷酸或其药学上可接受的盐, 或独立地具有与特定的寡核苷酸或其药学上可接受的盐相同的构造的寡核苷酸。在一些实施例中, 在组合物中共享共同的构造的所有寡核苷酸的约1%-100%, (例如, 约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80-100%、90-100%、95-100%、50%-90%、或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%、或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%) 与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中, 水平的百分比是或是至少(DS)^{nc}, 其中DS为90%-100%, 并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。在一些实施例中, nc是5、6、7、8、9、10或更大。在一些实施例中, 水平为至少10%。在一些实施例中, 水平为至少20%。在一些实施例中, 水平为至少30%。在一些实施例中, 水平为至少40%。在一些实施例中, 水平为至少50%。在一些实施例中, 水平为至少60%。在一些实施例

中,水平为至少65%。在一些实施例中,水平为至少70%。在一些实施例中,水平为至少75%。在一些实施例中,水平为至少80%。在一些实施例中,水平为至少85%。在一些实施例中,水平为至少90%。在一些实施例中,水平为至少95%。

[0249] 在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

[0250] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,该手性受控的寡核苷酸组合物包含通过以下表征的特定寡核苷酸类型的多种寡核苷酸:

- a) 共同的碱基序列;
- b) 共同骨架键联模式;
- c) 共同的骨架手性中心模式;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0251] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,该手性受控的寡核苷酸组合物包含通过以下表征的特定寡核苷酸类型的多种寡核苷酸:

- a) 共同的碱基序列;
- b) 共同骨架键联模式;
- c) 共同的骨架手性中心模式;

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含至少一个核苷酸间键联,该核苷酸间键联包含Sp构型的共同键联磷;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0252] 如本领域技术人员所理解的,常见的骨架手性中心模式包括至少一个Rp或至少一个Sp。某些骨架手性中心模式在例如表1A中示出。

[0253] 在一些实施例中,相对于共享相同的共同的碱基序列和共同的骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,手性受控的核苷酸组合物富集特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0254] 在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸(例如特定寡核苷酸类型)具有共同的骨架磷修饰模式和共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有共同的糖修饰模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有共同的碱基修饰模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,多种中的寡核苷酸具有相同的构造。在许多实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸是相同的。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同的寡核苷酸(如本领域技术人员将理解的,这样的寡核苷酸可以各自独立地以寡核苷酸的多种形式之一存在,并且可以是寡核苷酸的相同或不同形式)。在一些实施例中,多种寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

[0255] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如表1中的在其“立体化学/键联”含有S和/或R的许多寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是表1中的特定寡核苷酸(其“立体化学/键联”含有S和/或R),任选地以各种形式。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自

独立地是表1中的特定寡核苷酸(其“立体化学/键联”含有S和/或R)或其药学上可接受的盐。

[0256] 在一些实施例中,可以将组合物中的多个寡核苷酸的水平确定为寡核苷酸中每个手性受控的核苷酸间键联的非对映纯度的乘积。在一些实施例中,连接寡核苷酸(或核酸)中的两个核苷的核苷酸间键联的非对映纯度由连接相同的两个核苷的二聚体的核苷酸间键联的非对映纯度表示,其中使用可比较的条件(在一些情况下,相同的合成循环条件)制备二聚体。

[0257] 在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联都独立地是手性受控的,并且该组合物是完全手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,不是所有的手性核苷酸间键联都是手性受控的核苷酸间键联,并且组合物是部分地手性受控的寡核苷酸组合物。

[0258] 寡核苷酸可以包含骨架手性中心的多种模式(手性键联磷的立体化学模式)或由其组成。在本披露中描述了骨架手性中心的某些有用的模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同的骨架手性中心模式,其是或包含本披露中描述的模式(例如,如“立体化学及骨架手性中心模式”中所述,表1中的手性受控的寡核苷酸的骨架手性中心模式,等)。

[0259] 在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物是手性纯的(或立体纯的,立体化学纯的)寡核苷酸组合物,其中该寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中该寡核苷酸独立地具有相同的立体异构体[包括该寡核苷酸的每个手性元素,包括每个手性键联磷,是独立定义的(立体定义的)]。寡核苷酸立体异构体的手性纯(或立体纯,立体化学纯)的寡核苷酸组合物不包含其他立体异构体(如本领域技术人员所理解的,一个或多个非预期的立体异构体可以作为来自制备、储存等的杂质存在)。

[0260] 手性受控的寡核苷酸组合物相对于立体随机的寡核苷酸组合物可以显示许多优点。尤其是,就寡核苷酸结构而言,手性受控的寡核苷酸组合物比相应的立体随机的寡核苷酸组合物更均匀。通过控制立体化学,可以制备和评估各个立体异构体的组合物,从而可以开发具有所需特性和/或活性的立体异构体的手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,与例如相应的立体随机的寡核苷酸组合物相比,手性受控的寡核苷酸组合物提供了更好的递送、稳定性、清除率、活性、选择性和/或毒性特征。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物提供更好的功效、更少的副作用和/或更方便和有效的剂量方案。尤其是,本文所述的骨架手性中心模式可用于提供寡核苷酸靶(例如,转录物,例如mRNA前体,成熟mRNA等;包括控制切割位点,切割位点处的切割速率和/或程度,和/或总切割速率和程度等)的受控切割。

[0261] 在一些实施例中,提供的组合物中的寡核苷酸,例如手性受控的寡核苷酸组合物是本文所述的MAPT寡核苷酸。

[0262] 在一些实施例中,本披露提供了立体随机的寡核苷酸组合物,例如立体随机的MAPT寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了能够降低MAPT基因或其基因产物的水平、活性或表达的立体随机的MAPT寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了立体随机的MAPT寡核苷酸组合物,其能够降低MAPT基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且其中MAPT寡核苷酸的碱基序列是本文披露的碱基序列(例如在表1中的碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然),包含本文披露的碱基序列或包含本文披露的碱基序

列的序列段(例如,至少10或15个连续碱基)。

[0263] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含一个或多个立体控制的(手性受控的;在一些实施例中,立体纯的)核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸组合物包含一个或多个为立体受控的(手性受控的;在一些实施例中,立体纯的)的核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。

[0264] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含一个或多个立体控制的(例如,手性受控的或立体纯的)核苷酸间键联和一个或多个立体随机的核苷酸间键联。这样的寡核苷酸可以靶向各种靶标并且可以具有各种碱基序列,并且可以能够通过多种方式(例如,RNA酶H机制、空间位阻、双链或单链RNA干扰、外显子跳读调节、CRISPR、适体等)中的一种或多种进行操作。

[0265] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物。在一些实施例中,提供的手性受控的寡核苷酸组合物包含多个相同构造的寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸),并具有一个或多个核苷酸间键联。在一些实施例中,例如在手性受控的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸是选自表1的多个寡核苷酸,其中该寡核苷酸在手性受控的核苷酸间键联中包含至少一个Rp或Sp键联磷。在一些实施例中,例如在手性受控的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸是选自表1的多个寡核苷酸,其中寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的(每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Rp或Sp)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物,例如MAPT寡核苷酸组合物是单一寡核苷酸的基本上纯的制剂,因为在一些情况下,在某些纯化程序后,在该组合物中的不是该单一寡核苷酸的寡核苷酸是来自该单一寡核苷酸的制备过程中的杂质。在一些实施例中,单一寡核苷酸是表1的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联是手性受控的(例如,在“立体化学/键联”中表示为S或R,但不是X)。

[0266] 在一些实施例中,相对于相应的立体随机寡核苷酸组合物,手性受控的寡核苷酸组合物可以具有增加的活性和/或稳定性,增加的递送,和/或降低的引起不利作用诸如补体、TLR9激活等的的能力。在一些实施例中,立体随机(非手性受控的)寡核苷酸组合物与手性受控的寡核苷酸组合物的不同之处在于其相应的多个寡核苷酸不含有任何手性受控的核苷酸间键联,但是立体随机寡核苷酸组合物与手性受控的寡核苷酸组合物在其他方面相同。

[0267] 在一些实施例中,本披露涉及能够降低MAPT基因或其基因产物的水平、活性或表达的手性受控的MAPT寡核苷酸组合物。

[0268] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其能够降低MAPT基因或其基因产物的水平、活性或表达,并且包含多个共享共同的碱基序列的寡核苷酸,该共同的碱基序列是或包含本文披露的碱基序列(例如在表1中,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。

[0269] 在一些实施例中,提供的手性受控的寡核苷酸组合物是包含多个MAPT寡核苷酸的手性受控的MAPT寡核苷酸组合物。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物是手性纯的(或“立体化学纯的”)寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供表1(例如1A)中的寡核苷酸的手性纯的寡核苷酸组合物,其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的(Rp或Sp,例如,“立体化学/键联”中的R或S但不是X)。如本领域普通技术人员将理

解的那样,化学选择性很少(如果有的话)达到完全性(绝对100%)。在一些实施例中,手性纯的寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中多个寡核苷酸中寡核苷酸在结构上相同并且都具有相同的结构(相同的立体异构形式;在寡核苷酸的情况下,通常与通常在寡核苷酸中存在的多手性中心相同的非对映异构形式),并且手性纯的寡核苷酸组合物不含有任何其他立体异构体(在寡核苷酸的情况下,通常如通常在寡核苷酸中存在的多手性中心的非对映异构体;其程度例如可通过立体选择性制备实现)。如本领域技术人员所理解的,立体随机的(或“外消旋的”、“非手性受控的”)寡核苷酸组合物是许多立体异构体的随机混合物(例如,2ⁿ个非对映异构体,其中n是寡核苷酸的手性键联磷的数目,其中其他手性中心(例如,糖中的碳手性中心)是手性受控的,各自独立地以一种构型存在,并且仅手性键联磷中心不是手性受控的)。

[0270] 在例如本文的实例中显示某些数据,该数据显示手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物在降低MAPT靶基因或其基因产物的水平、活性和/或表达方面的特性和/或活性。

[0271] 在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了包含MAPT寡核苷酸的MAPT寡核苷酸组合物,该MAPT寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸组合物,其中MAPT寡核苷酸包含手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中该键联磷具有R_p构型。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸组合物,其中MAPT寡核苷酸包含手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中该键联磷具有S_p构型。

[0272] 在一些实施例中,与参考寡核苷酸组合物相比,所提供的手性受控的寡核苷酸组合物(例如,手性受控的MAPT寡核苷酸组合物)出人意料地有效。在一些实施例中,所需的生物学效应(例如,如通过被靶向降低的mRNA、蛋白质等的降低的水平所测量)可被增强超过5、10、15、20、25、30、40、50、或100倍(例如,通过mRNA、蛋白质等的剩余水平测量)。在一些实施例中,通过与参考条件相比的不希望的mRNA水平的减少测量改变。在一些实施例中,通过与参考条件相比的所希望的mRNA水平的增加测量改变。在一些实施例中,通过与参考条件相比的不希望的mRNA水平的减少测量改变。在一些实施例中,参考条件是没有被例如通过手性受控的寡核苷酸组合物治疗。在一些实施例中,参考条件是具有相同构成的相应的寡核苷酸立体随机组合物。

[0273] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中至少一个手性受控的核苷酸间键联的键联磷是S_p。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中手性受控的核苷酸间键联的大部分键联磷是S_p。在一些实施例中,所有手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是S_p。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是手性受控的并且是S_p。在一些实施例中,所有手性受控的核苷酸间键联

(或所有手性核苷酸间键联或所有核苷酸间键联)中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中大部分手性核苷酸间键联是手性受控的并且在其键联磷处是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中每个手性核苷酸间键联是手性受控的并且每个手性键联磷是Sp。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中至少一个手性受控的核苷酸间键联具有Rp键联磷。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其中至少一个手性受控的核苷酸间键联包含Rp键联磷并且至少一个手性受控的核苷酸间键联包含Sp键联磷。在一些实施例中,至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的且是Rp。在一些实施例中,约1-5个,例如约1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的且是Rp。在一些实施例中,所有手性受控的非带负电荷的核苷酸间键联(例如n001)中的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多是Rp。在一些实施例中,每个手性受控的n001是Rp。

骨架手性中心的立体化学和模式

[0274] 与天然磷酸酯键联形成对比,手性修饰的核苷酸间键联(例如硫代磷酸酯核苷酸间键联)的键联磷是手性的。尤其是,本披露提供了包括控制手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)。在一些实施例中,如本文所示,对立体化学的控制可以提供改善的特性和/或活性,包括所需的稳定性、降低的毒性、改善的靶核酸还原等。在一些实施例中,本披露提供了对于寡核苷酸和/或其区域有用的骨架手性中心模式,该模式是手性键联磷的每个手性键联磷(Rp或Sp)的立体化学的组合,每个手性键联磷(0p,如有)等从5'到3'指示。在一些实施例中,当在切割系统(例如,体外测定、细胞、组织、器官、生物体、受试者等)中与所提供的寡核苷酸或其组合物接触时,骨架手性中心模式可以控制靶核酸的切割模式。在一些实施例中,当在切割系统中与所提供的寡核苷酸或其组合物接触时,骨架手性中心模式改善了靶核酸的切割效率和/或选择性。

[0275] 在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是任何(Np)n(0p)m,其中Np是Rp或Sp,0p表示键联磷是非手性的(例如,对于天然磷酸酯键联的键联磷),并且n和m各自独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是(Sp)n(0p)m,其中每个变量独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是(Rp)n(0p)m,其中每个变量独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是(Sp)(0p)m,其中m是1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是(Rp)(0p)m,其中m是1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是或包含(Np)n(0p)m。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是或包含(Sp)n(0p)m。在一些实施例

中,5'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Rp) n (Op) m$ 。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Sp) (Op) m$ 。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Rp) (Op) m$ 。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是 $(Sp) (Op) m$ 。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是 $(Rp) (Op) m$ 。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是 $(Sp) (Op) m$,其中Sp是从5'端的寡核苷酸的第一核苷酸间键联的键联磷构型。在一些实施例中,5'-翼的骨架手性中心模式是 $(Rp) (Op) m$,其中Rp是从5'端的寡核苷酸的第一核苷酸间键联的键联磷构型。在一些实施例中,如本披露中所述,m是2;在一些实施例中,m是3;在一些实施例中,m是4;在一些实施例中,m是5;在一些实施例中,m是6。

[0276] 在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是 $(Op) m (Np) n$,其中Np是Rp或Sp,Op表示键联磷是非手性的(例如,对于天然磷酸酯键联的键联磷),并且n和m各自独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是 $(Op) m (Sp) n$,其中每个变量独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是 $(Op) m (Rp) n$,其中每个变量独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是 $(Op) m (Sp)$,其中m是1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域的骨架手性中心模式包含或是 $(Op) m (Rp)$,其中m是1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Op) m (Np) n$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Op) m (Sp) n$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Op) m (Rp) n$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Op) m (Sp)$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是或包含 $(Op) m (Rp)$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是 $(Op) m (Sp)$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是 $(Op) m (Rp)$ 。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是 $(Op) m (Sp)$,其中Sp是从5'端的寡核苷酸的最后核苷酸间键联的键联磷构型。在一些实施例中,3'-翼的骨架手性中心模式是 $(Op) m (Rp)$,其中Rp是从5'端的寡核苷酸的最后核苷酸间键联的键联磷构型。在一些实施例中,如本披露中所述,m是2;在一些实施例中,m是3;在一些实施例中,m是4;在一些实施例中,m是5;在一些实施例中,m是6。

[0277] 在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $(Sp) m (Rp/Op) n$ 或 $(Rp/Op) n (Sp) m$,其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $(Sp) m (Rp) n$ 或 $(Rp) n (Sp) m$,其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $(Sp) m (Op) n$ 或 $(Op) n (Sp) m$,其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $(Np) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y$ 或 $[(Rp/Op) n (Sp) m] y (Np) t$,其中y是1-50,并且其他变量各自独立地如本披露中所描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $(Np) t [(Rp) n (Sp) m] y$ 或 $[(Rp) n (Sp) m] y (Np) t$,其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $[(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k$ 、 $[(Rp/Op) n (Sp) m] y$ 、 $(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y$ 、 $(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k$,其中k是1-50,并且其他变量各自独立地如本披露中所描述的。在一些实施例中,寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 $[(Op) n (Sp) m]$

y (Rp) k、[(Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Op) n (Sp) m] y (Rp) k, 其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中, 寡核苷酸或其区域 (例如核心) 的骨架手性中心模式包含或是 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k, 其中每个变量独立地是如本披露中所述的。在一些实施例中, 寡核苷酸包含核心区域。在一些实施例中, 寡核苷酸包含核心区域, 其中核心区域中的每个糖不含有 2'-OR¹, 其中 R¹ 是如本披露中所述的。在一些实施例中, 寡核苷酸包含核心区域, 其中核心区域中的每个糖独立地是天然 DNA 糖。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 (Rp) (Sp) m。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 (Op) (Sp) m。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 (Np) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Np) t。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 (Np) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Np) t。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 (Np) t [(Rp) n (Sp) m] y 或 [(Rp) n (Sp) m] y (Np) t。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 [(Op) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Op) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含或是 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y、或 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp)。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 [(Rp) n (Sp) m] y。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式包含 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp)。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 [(Rp) n (Sp) m] y (Rp)。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 [(Rp) n (Sp) m] y。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中, 核心的骨架手性中心模式是 (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp)。在一些实施例中, 每个 n 是 1。在一些实施例中, 每个 t 是 1。在一些实施例中, t 是 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。在一些实施例中, t 和 n 各自是 1。在一些实施例中, 每个 m 是 2 或更大。在一些实施例中, k 是 1。在一些实施例中, k 是 2-10。

[0278] 在一些实施例中, 骨架手性中心模式包含或是 (Sp) m (Rp) n、(Rp) n (Sp) m、(Np) t (Rp) n (Sp) m、(Sp) t (Rp) n (Sp) m、(Np) t [(Rp) n (Sp) m] 2、(Sp) t [(Rp) n (Sp) m] 2、(Np) t (Op) n (Sp) m、(Sp) t (Op) n (Sp) m、(Np) t [(Op) n (Sp) m] 2、或 (Sp) t [(Op) n (Sp) m] 2。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) m (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 1-5 (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 2-5 (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 2 (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 3 (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 4 (Op/Rp) n (Sp) m。在一些实施例中, 模式是 (Np) t (Op/Rp) n (Sp) 5 (Op/Rp) n (Sp) m。

[0279] 在一些实施例中, Np 是 Sp。在一些实施例中, (Op/Rp) 是 Op。在一些实施例中, (Op/Rp) 是 Rp。在一些实施例中, Np 是 Sp 且 (Op/Rp) 是 Rp。在一些实施例中, Np 是 Sp 且 (Op/Rp) 是

Op。在一些实施例中，Np是Sp且至少一个 (Op/Rp) 是Rp，并且至少一个 (Op/Rp) 是Op。在一些实施例中，骨架手性中心模式包含或是 (Rp) n (Sp) m、(Np) t (Rp) n (Sp) m、或 (Sp) t (Rp) n (Sp) m，其中m>2。在一些实施例中，骨架手性中心模式包含或是 (Rp) n (Sp) m、(Np) t (Rp) n (Sp) m、或 (Sp) t (Rp) n (Sp) m，其中n是1，至少一个t>1，并且至少一个m>2。

[0280] 在一些实施例中，包含核心区域 (其骨架手性中心模式以Rp开始) 的寡核苷酸可以提供高活性和/或改善的特性。在一些实施例中，包含核心区域 (其骨架手性中心模式以Rp结束) 的寡核苷酸可以提供高活性和/或改善的特性。在一些实施例中，包含核心区域 (其骨架手性中心模式以Rp开始) 的寡核苷酸提供了高活性 (例如，靶切割)，而不显著影响其特性 (例如稳定性)。在一些实施例中，包含核心区域 (其骨架手性中心模式以Rp结束) 的寡核苷酸提供了高活性 (例如，靶切割)，而不显著影响其特性 (例如稳定性)。在一些实施例中，骨架手性中心模式以Rp开始并以Sp结束。在一些实施例中，骨架手性中心模式以Rp开始并以Rp结束。在一些实施例中，骨架手性中心模式以Sp开始并以Rp结束。通常，对于骨架手性中心模式，在核心区域的模式中包括连接核心核苷和联翼核苷的核苷酸间键联。在本披露中描述的许多实施例中 (例如，表1中的多种寡核苷酸)，通过这种连接核苷酸间键联而连接的翼糖具有与通过相同连接核苷酸间键联而连接的核心糖不同的结构 (例如，在一些实施例中，翼糖包含2'-修饰，而核心糖不含有相同的2'-修饰或在2'位置具有两个-H)。在一些实施例中，翼糖包含核心糖不包含的糖修饰。在一些实施例中，翼糖是经修饰的糖，而核心糖是天然DNA糖。在一些实施例中，翼糖在2'位置包括糖修饰 (在2'位置少于两个-H)，核心糖在2'位置不具有修饰 (在2'位置的两个-H)。

[0281] 在一些实施例中，如本文所证明，另外的Rp核苷酸间键联连接不含2'-取代基的糖 (例如，核心糖) 和包含2'-修饰的糖 (例如，2'-OR'，其中R' 是任选地取代的C₁₋₆脂肪族 (例如，2'-OMe、2'-MOE等)，其可以是翼糖)。在一些实施例中，将不含有2'-取代基的糖连接至5'端 (例如，至糖的3'-碳) 并将含有2'-修饰的糖连接至3'端 (例如，至糖的5'-碳) 的核苷酸间键联是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，将不含有2'-取代基的糖连接至3'端 (例如，至糖的5'-碳) 并将含有2'-修饰的糖连接至5'端 (例如，至糖的3'-碳) 的核苷酸间键联是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，连接不含有2'-取代基的糖和包含2'-修饰的糖的每个核苷酸间键联独立地是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，Rp核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0282] 在一些实施例中，MAPT寡核苷酸或其区域 (例如核心) 的骨架手性中心模式包含或是 (Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)、(Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)、(Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)、或 (Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)，其中k是1-50，并且其他变量各自独立地如本披露中所述。在一些实施例中，MAPT寡核苷酸的骨架手性中心模式包含或是 (Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)、(Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)、(Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)、或 (Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)，其中f、g、h和j各自独立地是1-50，并且其他变量各自独立地如本披露中所述，并且该寡核苷酸包含核心区域，该核心区域的骨架手性中心模式包含或是本披露中所述的 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y、或 (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中，骨架手性中心模式是或包含 (Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)。在一些实施例中，骨架手性中心模式是或包含 (Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) (Op)。在一些实施例中，骨架手性中心模式是或包含

(Op) [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) [(Rp) n (Sp) m] y (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op)。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Op) (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op)。在一些实施例中,每个n是1。在一些实施例中,k是1。在一些实施例中,k是2-10。

[0283] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、或 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j,其中f、g、h和j各自独立地是1-50,并且其他变量各自独立地如本披露中所述。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的骨架手性中心模式包含或是 (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、或 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j,并且该寡核苷酸包含核心区域,该核心区域的骨架手性中心模式包含或是本披露中所述的 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y、或 (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸的骨架手性中心模式是 (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、(Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j、或 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j,并且该寡核苷酸包含核心区域,该核心区域的骨架手性中心模式包含或是本披露中所述的 [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、[(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y、或 (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j。在一些实施例中,骨架手性中心模式是或包含 (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Np) j。在一些实施例中,至少一个Np是Sp。在一些实施例中,至少一个Np是Rp。在一些实施例中,5' 最大Np是Sp。在一些实施例中,3' 最大Np是Sp。在一些实施例中,每个Np是Sp。在一些实施例中,

(Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j 是 S (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Sp) 。在一些实施例中, (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j 是 S (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是 (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中, (Np) f (Op) g [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j 是 (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是 (Sp) (Op) g [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中, (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Op) h (Np) j 是 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Op) h (Sp) 。在一些实施例中, (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j 是 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Sp) 。在一些实施例中, (Np) f (Op) g (Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j 是 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,寡核苷酸的骨架手性中心模式是 (Sp) (Op) g (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) (Op) h (Sp) 。在一些实施例中,每个n是1。在一些实施例中,f是1。在一些实施例中,g是1。在一些实施例中,g大于1。在一些实施例中,g是2。在一些实施例中,g是3。在一些实施例中,g是4。在一些实施例中,g是5。在一些实施例中,g是6。在一些实施例中,g是7。在一些实施例中,g是8。在一些实施例中,g是9。在一些实施例中,g是10。在一些实施例中,h是1。在一些实施例中,h大于1。在一些实施例中,h是2。在一些实施例中,h是3。在一些实施例中,h是4。在一些实施例中,h是5。在一些实施例中,h是6。在一些实施例中,h是7。在一些实施例中,h是8。在一些实施例中,h是9。在一些实施例中,h是10。在一些实施例中,j是1。在一些实施例中,k是1。在一些实施例中,k是2-10。

[0284] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸或其区域(例如核心)的骨架手性中心模式包含或是 [(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] yRp、[(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h、(Sp) t [(Rp/Op) n (Sp) m] y (Rp) k (Op) h (Np) j,其中每个变量独立地是如本披露中所述的。

[0285] 在一些实施例中,在提供的骨架手性中心模式中,至少一个 (Rp/Op) 是Rp。在一些实施例中,至少一个 (Rp/Op) 是Op。在一些实施例中,每个 (Rp/Op) 是Rp。在一些实施例中,每个 (Rp/Op) 是Op。在一些实施例中,模式的 [(Rp) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y 的至少一个是RpSp。在一些实施例中,模式的 [(Rp) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y 的至少一个是或包含RpSpSp。在一些实施例中,模式中 [(Rp) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y 的至少一个是RpSp,并且模式中 [(Rp) n (Sp) m] y 或 [(Rp/Op) n (Sp) m] y 的至少一个是或包含RpSpSp。例如,在一些实施例中,模式中 [(Rp) n (Sp) m] y 是 (RpSp) [(Rp) n (Sp) m]_(y-1); 在一些实施例中,模式中 [(Rp) n (Sp) m] y 是 (RpSp) [RpSpSp (Sp)_(m-2)] [(Rp) n (Sp) m]_(y-2)。在一些实施例中, (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) 是 (Sp) t (RpSp) [(Rp) n (Sp) m]_(y-1) (Rp)。在一些实施例中, (Sp) t [(Rp) n (Sp) m] y (Rp) 是 (Sp) t (RpSp) [RpSpSp (Sp)_(m-2)] [(Rp) n (Sp) m]_(y-2) (Rp)。在一些实施例中,每个 [(Rp/Op) n (Sp) m] 独立地是 [Rp (Sp) m]。在一些实施例中, (Sp) t 的第一Sp表示从5'至3'的

寡核苷酸的第一核苷酸间键联的键联磷立体化学。在一些实施例中, (Sp) t的第一Sp表示从5'至3'的区域(例如, 核心)的第一核苷酸间键联的键联磷立体化学。在一些实施例中, (Np) j的最后Np代表从5'至3'的寡核苷酸的最后核苷酸间键联的键联磷立体化学。在一些实施例中, 最后Np是Sp。

[0286] 在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如5'-翼的)骨架手性中心模式是或包含 $Sp(O_p)_3$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如5'-翼的)骨架手性中心模式是或包含 $Rp(O_p)_3$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如3'-翼的)骨架手性中心模式是或包含 $(O_p)_3Sp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如3'-翼的)骨架手性中心模式是或包含 $(O_p)_3Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如核心的)骨架手性中心模式是或包含 $Rp(Sp)_4Rp(Sp)_4Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如核心的)骨架手性中心模式是或包含 $(Sp)_5Rp(Sp)_4Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如核心的)骨架手性中心模式是或包含 $(Sp)_5Rp(Sp)_5$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸或区域的(例如核心的)骨架手性中心模式是或包含 $Rp(Sp)_4Rp(Sp)_5$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Np(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Np$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Np(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Np$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Np(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_5(O_p)_3Np$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Np(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_5(O_p)_3Np$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Sp(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Sp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Sp(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Sp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Sp(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_5(O_p)_3Sp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Sp(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_5(O_p)_3Sp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Rp(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Rp(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_4Rp(O_p)_3Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Rp(O_p)_3(Sp)_5Rp(Sp)_5(O_p)_3Rp$ 。在一些实施例中, 寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $Rp(O_p)_3Rp(Sp)_4Rp(Sp)_5(O_p)_3Rp$ 。

[0287] 在一些实施例中, m、y、t、n、k、f、g、h、和j各自独立地是1-25。

[0288] 在一些实施例中, m是1-25。在一些实施例中, m是1-20。在一些实施例中, m是1-15。在一些实施例中, m是1-10。在一些实施例中, m是1-5。在一些实施例中, m是2-20。在一些实施例中, m是2-15。在一些实施例中, m是2-10。在一些实施例中, m是2-5。在一些实施例中, m是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中, 在骨架手性中心模式中, 每个m独立地是2或更大。在一些实施例中, 每个m独立地是2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中, 每个m独立地是2-3、2-5、2-6或2-10。在一些实施例中, m是2。在一些实施例中, m是3。在一些实施例中, m是4。在一些实施例中, m是5。在一些实施例中, m是6。在一些实施例中, m是7。在一些实施例中, m是8。在一些实施例中, m是9。在一些实施例中, m是10。在一些实施例中, 在存在两个或更多个m的情况下, 它们可以相同或不同, 并且它们各自独立地如本披露中所描述。

[0289] 在一些实施例中, y是1-25。在一些实施例中, y是1-20。在一些实施例中, y是1-15。在一些实施例中, y是1-10。在一些实施例中, y是1-5。在一些实施例中, y是2-20。在一些实施例中, y是2-15。在一些实施例中, y是2-10。在一些实施例中, y是2-5。在一些实施例中, y

是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,y是1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10。在一些实施例中,y是1。在一些实施例中,y是2。在一些实施例中,y是3。在一些实施例中,y是4。在一些实施例中,y是5。在一些实施例中,y是6。在一些实施例中,y是7。在一些实施例中,y是8。在一些实施例中,y是9。在一些实施例中,y是10。

[0290] 在一些实施例中,t是1-25。在一些实施例中,t是1-20。在一些实施例中,t是1-15。在一些实施例中,t是1-10。在一些实施例中,t是1-5。在一些实施例中,t是2-20。在一些实施例中,t是2-15。在一些实施例中,t是2-10。在一些实施例中,t是2-5。在一些实施例中,t是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,每个t独立地是1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,t是2或更大。在一些实施例中,t是1。在一些实施例中,t是2。在一些实施例中,t是3。在一些实施例中,t是4。在一些实施例中,t是5。在一些实施例中,t是6。在一些实施例中,t是7。在一些实施例中,t是8。在一些实施例中,t是9。在一些实施例中,t是10。在一些实施例中,在存在两个或更多个t的情况下,它们可以相同或不同,并且它们各自独立地如本披露中所描述。

[0291] 在一些实施例中,n是1-25。在一些实施例中,n是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,n是1。在一些实施例中,n是2。在一些实施例中,n是3。在一些实施例中,n是4。在一些实施例中,n是5。在一些实施例中,n是6。在一些实施例中,n是7。在一些实施例中,n是8。在一些实施例中,n是9。在一些实施例中,n是10。在一些实施例中,在存在两个或更多个n的情况下,它们可以相同或不同,并且它们各自独立地如本披露中所描述。在很多实施例中,在骨架手性中心模式中,n的至少一次出现是1;在一些情况下,每个n是1。

[0292] 在一些实施例中,k是1-25。在一些实施例中,k是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,k是1。在一些实施例中,k是2。在一些实施例中,k是3。在一些实施例中,k是4。在一些实施例中,k是5。在一些实施例中,k是6。在一些实施例中,k是7。在一些实施例中,k是8。在一些实施例中,k是9。在一些实施例中,k是10。

[0293] 在一些实施例中,f是1-25。在一些实施例中,f是1-20。在一些实施例中,f是1-10。在一些实施例中,f是1-5。在一些实施例中,f是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,f是1。在一些实施例中,f是2。在一些实施例中,f是3。在一些实施例中,f是4。在一些实施例中,f是5。在一些实施例中,f是6。在一些实施例中,f是7。在一些实施例中,f是8。在一些实施例中,f是9。在一些实施例中,f是10。

[0294] 在一些实施例中,g是1-25。在一些实施例中,g是1-20。在一些实施例中,g是1-10。在一些实施例中,g是1-5。在一些实施例中,g是2-10。在一些实施例中,g是2-5。在一些实施例中,g是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,g是1。在一些实施例中,g是2。在一些实施例中,g是3。在一些实施例中,g是4。在一些实施例中,g是5。在一些实施例中,g是6。在一些实施例中,g是7。在一些实施例中,g是8。在一些实施例中,g是9。在一些实施例中,g是10。

[0295] 在一些实施例中,h是1-25。在一些实施例中,h是1-10。在一些实施例中,h是1-5。

在一些实施例中,h是2-10。在一些实施例中,h是2-5。在一些实施例中,h是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,h是1。在一些实施例中,h是2。在一些实施例中,h是3。在一些实施例中,h是4。在一些实施例中,h是5。在一些实施例中,h是6。在一些实施例中,h是7。在一些实施例中,h是8。在一些实施例中,h是9。在一些实施例中,h是10。

[0296] 在一些实施例中,j是1-25。在一些实施例中,j是1-10。在一些实施例中,j是1-5。在一些实施例中,j是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25。在一些实施例中,j是1。在一些实施例中,j是2。在一些实施例中,j是3。在一些实施例中,j是4。在一些实施例中,j是5。在一些实施例中,j是6。在一些实施例中,j是7。在一些实施例中,j是8。在一些实施例中,j是9。在一些实施例中,j是10。

[0297] 在一些实施例中,至少一个n是1,且至少一个m不小于2。在一些实施例中,至少一个n是1,至少一个t不小于2,且至少一个m不小于3。在一些实施例中,每个n是1。在一些实施例中,t是1。在一些实施例中,至少一个t>1。在一些实施例中,至少一个t>2。在一些实施例中,至少一个t>3。在一些实施例中,至少一个t>4。在一些实施例中,至少一个m>1。在一些实施例中,至少一个m>2。在一些实施例中,至少一个m>3。在一些实施例中,至少一个m>4。在一些实施例中,骨架手性中心模式包含一个或多个非手性天然磷酸酯键联。在一些实施例中,m、t和n的总和(或在一种模式中无t时,m和n的总和)不小于5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些实施例中,该总和为5。在一些实施例中,该总和为6。在一些实施例中,该总和为7。在一些实施例中,该总和为8。在一些实施例中,该总和为9。在一些实施例中,该总和为10。在一些实施例中,该总和为11。在一些实施例中,该总和为12。在一些实施例中,该总和为13。在一些实施例中,该总和为14。在一些实施例中,该总和为15。

[0298] 在一些实施例中,在手性受控的核苷酸间键联中的许多键联磷是Sp。在一些实施例中,至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的手性受控的核苷酸间键联具有Sp键联磷。在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联中的至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有核苷酸间键联中的至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,百分比为至少60%。在一些实施例中,百分比为至少65%。在一些实施例中,百分比为至少70%。在一些实施例中,百分比为至少75%。在一些实施例中,百分比为至少80%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,百分比为至少95%。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少5个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少6个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少7个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少8个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少9个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受

控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少10个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少11个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少12个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少13个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少14个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少15个核苷酸间键联是具有Sp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的一个且不超过一个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的2个且不超过2个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的3个且不超过3个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的4个且不超过4个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的5个且不超过5个核苷酸间键联是具有Rp键联磷的手性受控的核苷酸间键联。

[0299] 在一些实施例中,寡核苷酸中所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多),除了一个或少数核苷酸间键联(例如,寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中1、2、3、4或5个、和/或少于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)呈Rp构型。在一些实施例中,核心中所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈Sp构型(例如,核心中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多),除了一个或少数核苷酸间键联(例如,核心中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中1、2、3、4或5个、和/或少于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)呈Rp构型。在一些实施例中,核心中所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯(例如,核心中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%、或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多),除了一个或少数核苷酸间键联(例如,核心中所有手性受控的核苷酸间键联中、或所有手性核苷酸间键联中、或所有核苷酸间键联中1、2、3、4或5个、和/或少于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)是呈Rp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,核心中每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯,除了一个是呈Rp构型的

硫代磷酸酯。在一些实施例中，核心中每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯，除了一个是呈Rp构型的硫代磷酸酯。

[0300] 在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个且不超过一个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含两个或更多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含三个或多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含四个或多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含五个或更多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约5%-50%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约5%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约10%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约15%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约20%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约25%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约30%-40%是Rp。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性受控的核苷酸间键联的约35%-40%是Rp。

[0301] 在一些实施例中，代替Rp核苷酸间键联，可以类似地利用天然磷酸酯键联，任选地具有修饰，例如糖修饰（例如5'-修饰，例如本文所述的R^{5s}）。在一些实施例中，修饰改善了天然磷酸酯键联的稳定性。

[0302] 在一些实施例中，本披露提供了具有如本文所述的骨架手性中心模式的寡核苷酸。在一些实施例中，手性受控的寡核苷酸组合物中的寡核苷酸共享如本文所述的共同的骨架手性中心模式。

[0303] 在一些实施例中，MAPT寡核苷酸的至少约25%核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，寡核苷酸的至少约30%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约40%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约50%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约60%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约65%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约70%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约75%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约80%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约85%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约90%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸的至少约95%的核苷酸间键联是手性受控的且具有Sp键联磷。

[0304] 在一些实施例中，本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物，例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物，其中该组合物包含非随机或受控水平的多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同的碱基序列，且独立地在至少1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25或更多个手性核苷酸间键联处共享键联磷

的相同构型。

[0305] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含2-30个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物包含5-30个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物包含10-30个手性受控的核苷酸间键联。

[0306] 在一些实施例中,百分比为约5%-100%。在一些实施例中,百分比是至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、98%、或99%。在一些实施例中,百分比为约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、98%或99%。

[0307] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸中的骨架手性中心模式包含模式 $i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$ 、 $i^o-i^s-i^s-i^s-i^o$ 、 $i^o-i^s-i^s-i^s-i^o-i^s$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^o-i^s-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^s-i^o-i^s-i^s-i^o$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^s$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^s$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^s$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^s$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$ 、 $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$ 或 $i^r-i^r-i^r$,其中 i^s 表示呈Sp构型的核苷酸间键联; i^o 表示非手性核苷酸间键联;且 i^r 表示呈Rp构型的核苷酸间键联。

[0308] 在一些实施例中,呈Sp构型的核苷酸间键联(具有Sp键联磷)是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,呈Rp构型的核苷酸间键联(具有Rp键联磷)是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,呈Sp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,呈Rp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,呈Sp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联,每个非手性核苷酸间键联是天然磷酸酯键联,并且呈Rp构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0309] 在一些实施例中,骨架手性中心模式(例如寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸或寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)的核心或翼中或两个翼中)中骨架手性中心模式)包含0pSp0pSp0p、0pSpSpSp0p、0pSpSpSp0pSp、Sp0pSp0p、Sp0pSp0p、Sp0pSp0pSp、Sp0pSp0pSp0p、Sp0pSpSpSp0p、SpSp0pSpSpSp0pSpSp、SpSpSp0pSp0pSpSpSp、SpSpSpSp0pSp0pSpSpSpSp、SpSpSpSpSp、SpSpSpSpSpSp、SpSpSpSpSpSpSpSp、或RpRpRp的模式,其中Rp和Sp各自独立地是手性受控的核苷酸间键联的键联磷构型(在一些实施例中,Rp和Sp各自独立地是手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷构型),并且每个0p独立地表示天然磷酸酯键联中非手性的键联磷。

[0310] 在一些实施例中,骨架手性中心模式(例如,寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸或其一部分)的骨架手性中心模式)是或包含表1A中描述的骨架手性中心模式。

[0311] 在一些实施例中,例如,当描述核心核苷酸间键联的类型、修饰、数量和/或模式时,键合于翼核苷和核心核苷的核苷酸间键联被认为是核心核苷酸间键联之一。在一些实施例中,例如,当描述核心核苷酸间键联的类型、修饰、数量和/或模式时,键合至翼核苷和核心核苷的每个核苷酸间键联被认为是核心核苷酸间键联之一。在一些实施例中,核心核苷酸间键联键合至两个核心核苷。在一些实施例中,核心核苷酸间键联键合至核心核苷和翼核苷。在一些实施例中,每个核心核苷酸间键联独立地键合至两个核心核苷、或者核心核

苷和翼核苷。在一些实施例中,每个翼核苷酸间键联独立地键合至两个翼核苷。

[0312] 在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物中MAPT寡核苷酸各自包含不同类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少两个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少三个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少四个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少五个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续硫代磷酸三酯核苷酸间键联。

[0313] 在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物中的寡核苷酸各自包含至少两个相对于彼此具有不同的立体化学和/或不同的P-修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,至少两个核苷酸间键联相对于彼此具有不同的立体化学,并且寡核苷酸各自包含骨架手性中心模式,这些骨架手性中心模式包含交替的键联磷立体化学。

[0314] 在一些实施例中,键联包含手性助剂,其例如用于控制反应(例如在寡核苷酸合成循环中的偶联反应)的立体选择性。在一些实施例中,硫代磷酸三酯键联不含手性助剂。在一些实施例中,有意地维持硫代磷酸三酯键联直至施用寡核苷酸组合物给受试者,和/或在施用寡核苷酸组合物给受试者期间有意地维持硫代磷酸三酯键联。

[0315] 在一些实施例中,许多寡核苷酸及其组合物(其中寡核苷酸中除了手性键联磷中心的所有其他手性中心已经被立体限定(例如,糖中的碳手性中心,其在例如用于寡核苷酸合成的亚磷酰胺中限定))的纯度,特别是立体化学纯度,和特别是非对映纯度可以通过在偶联步骤中当形成手性核苷酸间键联时手性键联磷处的立体选择性(如本领域技术人员所理解的,在寡核苷酸合成的许多情况(其中寡核苷酸包含多于一个手性中心)下的非对映选择性)来控制。在一些实施例中,偶联步骤在键联磷处具有60%的立体选择性(当存在其他手性中心时为非对映选择性)。在这样的偶联步骤之后,可以认为形成的新的核苷酸间键联具有60%的立体化学纯度(对于寡核苷酸,鉴于其他手性中心的存在,通常是非对映纯度)。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少60%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少70%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少80%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少85%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少90%的立体选择性。在一些实施例中,

每个偶联步骤独立地具有至少91%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少92%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少93%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少94%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少95%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少96%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少97%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少98%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少99%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少99.5%的立体选择性。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有几乎100%的立体选择性。在一些实施例中,偶联步骤具有几乎100%的立体选择性,因为根据分析方法(例如,NMR、HPLC等)分析的,来自偶联步骤的每一可检测产物都具有预期的立体选择性。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联通常以至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体选择性形成。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联在其手性键联磷处具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸而言通常是非对映纯度)。在一些实施例中,每个手性受控的核苷酸间键联在其手性键联磷处独立地具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸而言通常是非对映纯度)。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联通常以低于60%、70%、80%、85%、或90%(在一些实施例中,低于60%;在一些实施例中,低于70%;在一些实施例中,低于80%;在一些实施例中,低于85%;在一些实施例中,低于90%)的立体选择性形成。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联各自独立地以低于60%、70%、80%、85%、或90%(在一些实施例中,低于60%;在一些实施例中,低于70%;在一些实施例中,低于80%;在一些实施例中,低于85%;在一些实施例中,低于90%)的立体选择性形成。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在其手性键联磷处具有低于60%、70%、80%、85%、或90%(在一些实施例中,低于60%;在一些实施例中,低于70%;在一些实施例中,低于80%;在一些实施例中,低于85%;在一些实施例中,低于90%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸而言通常是非对映纯度)。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在其手性键联磷处各自独立地具有低于60%、70%、80%、85%、或90%(在一些实施例中,低于60%;在一些实施例中,低于70%;在一些实施例中,低于80%;在一些实施例中,低于85%;在一些实施例中,低于90%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸而言通常是非对映纯度)。

[0316] 在一些实施例中,单体(如本领域技术人员所理解的,在许多实施例中,用于寡核苷酸合成的亚磷酰胺)的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个偶联独立地具有小于约60%、70%、80%、85%或90%的立体选择性[对于寡核苷酸合成,就一个或多个形成的键联磷手

性中心而言,通常是非对映选择性]。在一些实施例中,至少一个偶联具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,至少两个偶联独立地具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,至少三个偶联独立地具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,至少四个偶联独立地具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,至少五个偶联独立地具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,各偶联独立地具有低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性。在一些实施例中,每个非手性受控的核苷酸间键联独立地以低于约60%、70%、80%、85%、或90%的立体选择性形成。在一些实施例中,立体选择性低于约60%。在一些实施例中,立体选择性低于约70%。在一些实施例中,立体选择性低于约80%。在一些实施例中,立体选择性低于约90%。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个偶联独立地具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少一个偶联具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少两个偶联具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少三个偶联具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少四个偶联具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少五个偶联具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,各偶联独立地具有低于约90%的立体选择性。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个偶联独立地具有低于约85%的立体选择性。在一些实施例中,各偶联独立地具有低于约85%的立体选择性。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个偶联独立地具有低于约80%的立体选择性。在一些实施例中,各偶联独立地具有低于约80%的立体选择性。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个偶联独立地具有低于约70%的立体选择性。在一些实施例中,各偶联独立地具有低于约70%的立体选择性。

[0317] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸和组合物具有高纯度。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸和组合物具有高立体化学纯度。在一些实施例中,立体化学纯度,例如非对映异构纯度是约60%-100%。在一些实施例中,非对映异构纯度为约60%-100%。在一些实施例中,该百分比是至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%、或99%。在一些实施例中,该百分比是至少80%、85%、90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%、或99%。在一些实施例中,该百分比是至少90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%、或99%。在一些实施例中,非对映纯度为至少60%。在一些实施例中,非对映纯度为至少70%。在一些实施例中,非对映纯度为至少80%。在一些实施例中,非对映纯度为至少85%。在一些实施例中,非对映纯度为至少90%。在一些实施例中,非对映纯度为至少91%。在一些实施例中,非对映纯度为至少92%。在一些实施例中,非对映纯度为至少93%。在一些实施例中,非对映纯度为至少94%。在一些实施例中,非对映纯度为至少95%。在一些实施例中,非对映纯度为至少96%。在一些实施例中,非对映纯度为至少97%。在一些实施例中,非对映纯度为至少98%。在一些实施例中,非对映纯度为至少99%。在一些实施例中,非对映纯度为至少99.5%。

[0318] 在一些实施例中,本披露的化合物(例如,寡核苷酸、手性助剂等)包含多个手性元素(例如,多个碳和/或磷(例如,手性核苷酸间键联的键联磷)手性中心)。在一些实施例中,

所提供的化合物(例如,寡核苷酸)的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个手性元素各自独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,所提供的化合物的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个手性碳中心各自独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,所提供的化合物的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或更多个手性磷中心各自独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,各手性元素独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,各手性中心独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,各手性碳中心独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,各手性磷中心独立地具有如本文所述的非对映异构纯度。在一些实施例中,每个手性磷中心独立地具有至少90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%、或99%或更高的非对映异构纯度。

[0319] 如本领域普通技术人员所理解的,在一些实施例中,可以通过在相同的或可比较的条件下二聚体形成的非对映选择性和所制备的二聚体的非对映纯度来评估偶联的非对映选择性或手性键联磷中心的非对映纯度,其中二聚体具有相同的5'-和3'-核苷以及核苷酸间键联。

[0320] 多种技术可用于鉴定或证实手性元素的立体化学(例如,手性键联磷的构型)和/或骨架手性中心模式,和/或用于评估立体选择性(例如,寡核苷酸合成中的偶联步骤的非对映选择性)和/或立体化学纯度(例如,核苷酸间键联、化合物(例如,寡核苷酸)等的非对映纯度)。示例技术包括NMR[例如1D(一维)和/或2D(二维) ^1H - ^{31}P PHETCOR(异核相关光谱)]、HPLC、RP-HPLC、质谱、LC-MS以及立体特异性核酸酶对核苷酸间键联的切割等,它们可以单独或组合使用。有用的核酸酶的实例包括苯甲酸酶、微球菌核酸酶和svPDE(蛇毒磷酸二酯酶),其对于具有Rp键联磷(例如,Rp硫代磷酸酯键联)的某些核苷酸间键联具有特异性;以及核酸酶P1、绿豆核酸酶和核酸酶S1,其对于具有Sp键联磷的核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯键联)具有特异性。不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,在至少一些情况下,特定核酸酶对寡核苷酸的切割可能受到结构元件例如化学修饰(例如,糖的2'修饰)、碱基序列或立体化学环境的影响。例如,观察到在某些情况下,对具有Rp键联磷的核苷酸间键联特异性的苯甲酸酶和微球菌核酸酶无法裂解侧接Sp硫代磷酸酯键联的分离的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0321] 在一些实施例中,共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸共享共同骨架磷修饰模式和共同碱基修饰模式。在一些实施例中,共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸组合物共享共同骨架磷修饰模式和共同核苷修饰模式。在一些实施例中,共享共同的碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸具有相同的结构。

[0322] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个能够指导MAPT敲低的寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有特定的寡核苷酸类型,该组合物是手性受控的,因为相对于具有相同碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂而言,该组合物富集特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0323] 在一些实施例中,具有共同的碱基序列、共同的骨架键联模式和共同的骨架手性中心模式的寡核苷酸具有共同的骨架磷修饰模式和共同的碱基修饰模式。在一些实施例中,具有共同的碱基序列、共同的骨架键联模式和共同的骨架手性中心模式的寡核苷酸具

有共同的骨架磷修饰模式和共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,具有共同的碱基序列、共同的骨架键联模式和共同的骨架手性中心模式的寡核苷酸具有相同的结构。

[0324] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的MAPT寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸的碱基序列是以下或与以下互补:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列:本文披露的MAPT序列或其一部分(表1中的各种碱基序列)。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了MAPT寡核苷酸,该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的具有0-3个错配的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供MAPT寡核苷酸组合物,其中这些MAPT寡核苷酸包含至少一个非手性受控的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含非手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含非手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸组合物,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列是作为以下或与以下互补的碱基序列:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含非手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含非手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的具有0-3个错配的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸组合物,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列是作为以下或与以下互补的碱基序列:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。在一些实施例中,本披露提供了包含手性受控的手性核苷酸间键联的MAPT寡核苷酸,其中该MAPT寡核苷酸的碱基序列包含作为以下或与以下互补的碱基序列的具有0-

3个错配的15个连续碱基:本文披露的MAPT序列或其一部分(例如,表1中的各种碱基序列,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然)。

[0325] 在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的骨架磷修饰模式和共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的糖修饰模式。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的碱基修饰模式。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有共同的核苷修饰模式。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有相同的构造。在许多实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸是相同的。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸具有相同寡核苷酸(如本领域技术人员将理解的,这样的寡核苷酸可以各自独立地以寡核苷酸的多种形式之一存在,并且可以是寡核苷酸的相同或不同形式)。在一些实施例中,相同寡核苷酸类型的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

[0326] 在一些实施例中,提供的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸或特定寡核苷酸类型的寡核苷酸是MAPT寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供一种手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其包含多个MAPT寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

- 1) 共同的碱基序列;
- 2) 共同的骨架键联模式;以及
- 3) 在一个或多个手性核苷酸间键联(手性受控的核苷酸间键联)处的相同键联磷立体化学,

其中相对于共享共同的碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸。

[0327] 在一些实施例中,如本文使用的,“一个或多个”或“至少一个”是1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、或更多个。

[0328] 在一些实施例中,寡核苷酸类型由以下进一步定义:4) 另外的化学部分,如果有的话。

[0329] 在一些实施例中,该百分比为至少约10%。在一些实施例中,该百分比为至少约20%。在一些实施例中,该百分比为至少约30%。在一些实施例中,该百分比为至少约40%。在一些实施例中,该百分比为至少约50%。在一些实施例中,该百分比为至少约60%。在一些实施例中,该百分比为至少约70%。在一些实施例中,该百分比为至少约75%。在一些实施例中,该百分比为至少约80%。在一些实施例中,该百分比为至少约85%。在一些实施例中,该百分比为至少约90%。在一些实施例中,该百分比为至少约91%。在一些实施例中,该百分比为至少约92%。在一些实施例中,该百分比为至少约93%。在一些实施例中,该百分比为至少约94%。在一些实施例中,该百分比为至少约95%。在一些实施例中,该百分比为至少约96%。在一些实施例中,该百分比为至少约97%。在一些实施例中,该百分比为至少约98%。在一些实施例中,该百分比为至少约99%。在一些实施例中,百分比为或大于(DS)^{nc},其中DS和nc各自独立地如本披露中所述。

[0330] 在一些实施例中,多个寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)共享相同的构造。在一些实施例中,多个寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)是相同的(相同的立体异构体)。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物,例如手性受控的MAPT寡核苷酸组合物是立体纯的寡核苷

酸组合物,其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸是相同的(相同的立体异构体),并且该组合物不包含任何其他立体异构体。本领域技术人员将理解,一种或多种其他立体异构体可能作为杂质存在,因为工艺、选择性、纯化等可能无法实现完全性。

[0331] 在一些实施例中,所提供的组合物的特征在于当它与靶核酸接触时[例如,MAPT转录物(例如前-mRNA,成熟mRNA,与组合物的寡核苷酸杂交的其他类型的RNA等)],靶核酸和/或由此编码的产物的水平和/或与在参考条件下观察到的相比降低。在一些实施例中,参考条件选自自由以下组成的组:不存在组合物、存在参考组合物、及其组合。在一些实施例中,参考条件是不存在组合物。在一些实施例中,参考条件是存在参考组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不与靶核酸杂交的组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不含与靶核酸充分互补的序列的组合物。在一些实施例中,所提供的组合物是手性受控的寡核苷酸组合物,而参考组合物是非手性受控的寡核苷酸组合物,在其他方面相同但不是手性受控的(例如,与手性受控的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的外消旋制备物)。

[0332] 在一些实施例中,本披露提供一种手性受控的MAPT寡核苷酸组合物,其包含能够指导MAPT敲低的多个MAPT寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

- 1) 共同的碱基序列;
- 2) 共同的骨架键联模式;以及
- 3) 在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多)手性核苷酸间键联(手性受控的核苷酸间键联)处相同的键联磷立体化学,

其中相对于共享共同的碱基序列和骨架键联模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸,

该寡核苷酸组合物的特征在于:当其于MAPT敲低系统中的MAPT转录物接触时,相对于在参考条件下所观察到的,该转录物的敲低有所改善,参考条件选自自由以下组成的组:不存在该组合物、存在参考组合物、及其组合。

[0333] 如上文所指出和本领域中所理解的,在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列可指寡核苷酸中的核苷残基(例如,糖和/或碱基组分中的核苷残基,相对于标准天然存在的核苷酸(如腺嘌呤、胞嘧啶、鸟苷、胸腺嘧啶和尿嘧啶)而言)的同一性和/或修饰状态,和/或可指此类残基的杂交特征(即,与特定互补残基杂交的能力)。

[0334] 如本文所证明的,寡核苷酸结构元件(例如,糖修饰模式、骨架键联、骨架手性中心、骨架磷修饰等)及其组合可以提供出人意料地改善的特性和/或生物活性。

[0335] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物能够降低靶基因或其基因产物的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,寡核苷酸组合物能够通过退火至靶基因mRNA后空间阻断翻译,通过切割mRNA(前-mRNA或成熟mRNA)和/或通过改变或干扰mRNA剪接来降低靶基因或其基因产物的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,提供的MAPT寡核苷酸组合物能够降低MAPT靶基因或其基因产物的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的MAPT寡核苷酸组合物能够通过退火至MAPT靶基因mRNA后空间阻断翻译,通过切割MAPT mRNA(前-mRNA或成熟mRNA)和/或通过改变或干扰mRNA剪接来降低MAPT靶基因或其基因产物的表达、水平和/或活性。

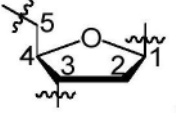
[0336] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸组合物,例如MAPT寡核苷酸组合物,是单一寡核苷酸立体异构体,例如MAPT寡核苷酸立体异构体的基本上纯的制剂,因为在一些情况下,在某些纯化程序后,在该组合物中的不属于该寡核苷酸立体异构体的寡核苷酸是来自该寡核苷酸立体异构体的制备过程中的杂质。

[0337] 在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸和寡核苷酸组合物,并且在一些实施例中,提供了立体纯的寡核苷酸和寡核苷酸组合物。例如,在一些实施例中,所提供的组合物含有非随机水平或受控水平的本文所述的一个或多个单独的寡核苷酸类型。在一些实施例中,同一寡核苷酸类型的寡核苷酸是相同的。

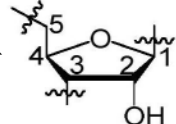
糖

[0338] 根据本披露,可以使用多种糖,包括经修饰的糖。在一些实施例中,本披露任选地与其他结构元件(例如,核苷酸间键联修饰及其模式、其骨架手性中心模式等)组合地提供糖修饰及其模式,这些其他结构元件在并入寡核苷酸中时可以提供改善的特性和/或活性。

[0339] 最常见的天然存在的核苷包括连接到核碱基腺苷(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)的核糖(例如,在RNA中)或脱氧核糖(例如,在DNA中)。在一些实施例中,糖,例如表1中许多寡核苷酸中的各种糖(除非另外说明),是天然DNA糖(在DNA核酸或寡

核苷酸中,具有结构 , 其中核碱基连接至1'位并且3'和5'位连接至核苷酸间键

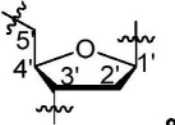
联(如本领域技术人员所理解的,如果在寡核苷酸的5'端,则5'位可以连接至5'端基(例如-OH),并且如果在寡核苷酸的3'端,则3'位可以连接至3'端基(例如-OH)。在一些实施例中,

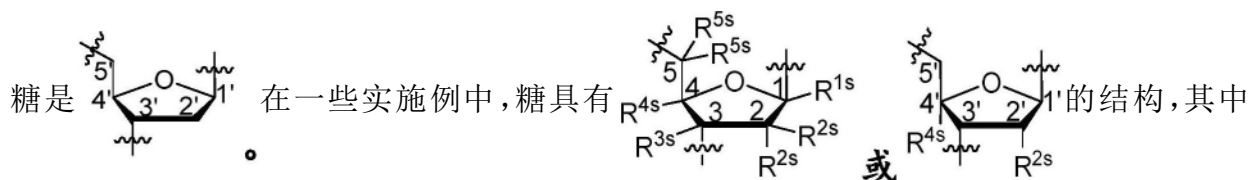
糖是在RNA核酸或寡核苷酸中的天然RNA糖,其具有  的结构,其中核碱基连接到

1'位并且3'和5'位连接到核苷酸间键联(如本领域技术人员所理解的,如果在寡核苷酸的5'-末端,则5'位可以连接到5'-末端基团(例如,-OH),并且如果在寡核苷酸的3'-末端,则3'位可以连接到3'-末端基团(例如,-OH))。在一些实施例中,糖是经修饰的糖,因为它不是天然DNA糖或天然RNA糖。尤其是,经修饰的糖可以提供改善的稳定性。在一些实施例中,经修饰的糖可用于改变和/或优化一种或多种杂交特性。在一些实施例中,修饰的糖可用于改变和/或优化靶标识别。在一些实施例中,经修饰的糖可以用于优化T_m。在一些实施例中,经修饰的糖可用于改善寡核苷酸活性。

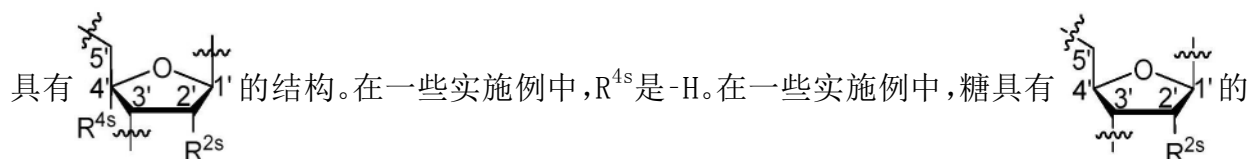
[0340] 糖可以在多种位置结合到核苷酸间键联上。作为非限制性实例,核苷酸间键联可以键合到糖的2'、3'、4'或5'位。在一些实施例中,如天然核酸中最常见的,除非另外指明,否则核苷酸间键联在5'位与一个糖并且在3'位与另一个糖连接。

[0341] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,糖是任

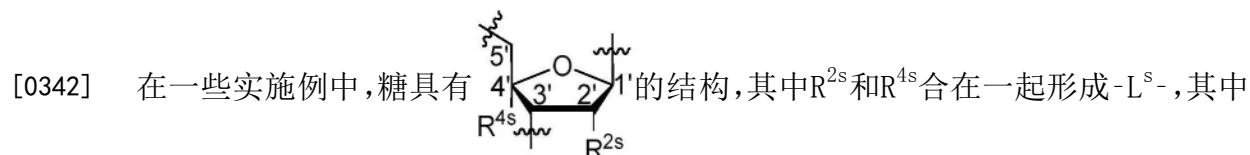
选地经取代的  在一些实施例中,2'位置是任选地经取代的。在一些实施例中,



R^{1s} 、 R^{2s} 、 R^{3s} 、 R^{4s} 、和 R^{5s} 各自独立地是-H、合适的取代基或合适的糖修饰(例如,US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252中描述的那些,其各自的取代基、糖修饰、 R^{1s} 、 R^{2s} 、 R^{3s} 、 R^{4s} 、和 R^{5s} 的描述和经修饰的糖通过引用独立地并入本文)。在一些实施例中,糖



结构,其中 R^{2s} 是-H、卤素或-OR,其中R是任选地经取代的 C_{1-6} 脂肪族。在一些实施例中, R^{2s} 是-H。在一些实施例中, R^{2s} 是-F。在一些实施例中, R^{2s} 是-OMe。在一些实施例中, R^{2s} 是- OCH_2CH_2OMe 。



L^s 是共价键或任选地经取代的二价 C_{1-6} 脂肪族或具有1至4个杂原子的杂脂肪族。在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氮、氧或硫。在一些实施例中, L^s 是任选地经取代的 $C2-O-CH_2-C4$ 。在一些实施例中, L^s 是 $C2-O-CH_2-C4$ 。在一些实施例中, L^s 是 $C2-O-(R)-CH(CH_2CH_3)-C4$ 。在一些实施例中, L^s 是 $C2-O-(S)-CH(CH_2CH_3)-C4$ 。

[0343] 在一些实施例中,糖是双环糖,例如如本披露中所述的其中 R^{2s} 和 R^{4s} 一起形成连接的糖。在一些实施例中,糖选自LNA糖、BNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,桥在2'碳原子与4'碳原子之间(对应于 R^{2s} 和 R^{4s} 与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环)。在一些实施例中,双环糖的实例包括 α -L-亚甲基氧基(4'- CH_2-O-2') LNA、 β -D-亚甲基氧基(4'- CH_2-O-2') LNA、亚乙基氧基(4'- $(CH_2)_2-O-2'$) LNA、氨基氧基(4'- $CH_2-O-N(R)-2'$) LNA和氧基氨基(4'- $CH_2-N(R)-O-2'$) LNA。在一些实施例中,双环糖,例如LNA或BNA糖,是在两个糖碳之间具有至少一个桥的糖。在一些实施例中,核苷中的双环糖可以具有 α -L-呋喃核糖或 β -D-呋喃核糖的立体化学构型。在一些实施例中,糖是WO 1999014226中描述的糖。在一些实施例中,4'-2'双环糖或4'至2'双环糖是包含呋喃糖环的双环糖,该呋喃糖环包含连接糖环的2'碳原子和4'碳原子的桥。在一些实施例中,双环糖,例如LNA或BNA糖,在两个呋喃戊糖基糖碳之间包含至少一个桥。在一些实施例中,LNA或BNA糖在4'和2'呋喃戊糖基糖碳之间包含至少一个桥。

[0344] 在一些实施例中,双环糖是 α -L-亚甲基氧基(4'- CH_2-O-2') BNA、 β -D-亚甲基氧基

(4'-CH₂-O-2') BNA、亚乙基氧基(4'-(CH₂)₂-O-2') BNA、氨基氧基(4'-CH₂-O-N(R)-2') BNA、氧氨基(4'-CH₂-N(R)-O-2') BNA、甲基(亚甲基氧基)(4'-CH(CH₃)-O-2') BNA(也称为受限制的乙基或cEt)、亚甲基-硫基(4'-CH₂-S-2') BNA、亚甲基-氨基(4'-CH₂-N(R)-2') BNA、甲基碳环(4'-CH₂-CH(CH₃)-2') BNA、亚丙基碳环(4'-(CH₂)₃-2') BNA或乙烯基BNA的糖。

[0345] 在一些实施例中,糖修饰是2'-OMe、2'-MOE、2'-LNA、2'-F、5'-乙烯基或S-cEt。在一些实施例中,经修饰的糖是FRNA糖、FANA糖或吗啉代糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含核酸类似物,例如GNA、LNA、PNA、TNA、F-HNA(F-THP或3'-氟四氢吡喃)、MNA(甘露醇核酸,例如Leumann 2002Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学杂志]10:841-854)、ANA(安尼妥(anitol)核酸)或吗啉代或其一部分。在一些实施例中,糖修饰用另一个环状或无环状部分替换天然糖。此类部分的实例在本领域中是众所周知的,例如用于吗啉代、二醇核酸等中的那些,并且可以根据本披露使用。如本领域技术人员所理解的,当与经修饰的糖一起使用时,在一些实施例中,核苷酸间键联可以被修饰,例如,如在吗啉代、PNA等中。

[0346] 在一些实施例中,糖是在6'-位具有(R)或(S)手性的6'-修饰的双环糖,例如在US 7399845中描述的那些。在一些实施例中,糖是在5'-位具有(R)或(S)手性的5'-修饰的双环糖,例如在US 20070287831中描述的那些。

[0347] 在一些实施例中,经修饰的糖在2'位含有一个或多个取代基(通常是一个取代基,并且通常在轴向位置),其独立地选自-F;-CF₃;-CN;-N₃;-NO;-NO₂;-OR';-SR'、或-N(R')₂,其中每个R'独立地是任选地经取代的C₁₋₁₀脂肪族;-O-(C₁-C₁₀烷基)、-S-(C₁-C₁₀烷基)、-NH-(C₁-C₁₀烷基)、或-N(C₁-C₁₀烷基)₂;-O-(C₂-C₁₀烯基)、-S-(C₂-C₁₀烯基)、-NH-(C₂-C₁₀烯基)、或-N(C₂-C₁₀烯基)₂;-O-(C₂-C₁₀炔基)、-S-(C₂-C₁₀炔基)、-NH-(C₂-C₁₀炔基)、或-N(C₂-C₁₀炔基)₂;或-O--(C₁-C₁₀亚烷基)-O--(C₁-C₁₀烷基)、-O-(C₁-C₁₀亚烷基)-NH-(C₁-C₁₀烷基)或-O-(C₁-C₁₀亚烷基)-NH(C₁-C₁₀烷基)₂;-NH-(C₁-C₁₀亚烷基)-O-(C₁-C₁₀烷基)、或-N(C₁-C₁₀烷基)-(C₁-C₁₀亚烷基)-O-(C₁-C₁₀烷基),其中烷基、亚烷基、烯基和炔基各自独立且任选地经取代。在一些实施例中,取代基是-O(CH₂)_nOCH₃、-O(CH₂)_nNH₂、MOE、DMAOE或DMAEOE,其中n是1至约10。在一些实施例中,经修饰的糖是WO 2001/088198和Martin等人,Helv.Chim.Acta[瑞士化学学报],1995,78,486-504中描述的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含一个或多个选自以下的基团:经取代的甲硅烷基、切割RNA的基团、报告基团、荧光标记、嵌入剂、用于改善核酸的药代动力学特性的基团、用于改善核酸的药效学特性的基团、或其他具有类似特性的取代基。在一些实施例中,在2'、3'、4'或5'位中的一个或多个上进行修饰,包括在3'-末端核苷上的糖的3'位或在5'-末端核苷的5'位。

[0348] 在一些实施例中,核糖的2'-OH被选自以下的基团替换:-H;-F;-CF₃;-CN;-N₃;-NO;-NO₂;-OR';-SR'、或-N(R')₂,其中每个R'独立地在本披露中描述;-O-(C₁-C₁₀烷基)、-S-(C₁-C₁₀烷基)、-NH-(C₁-C₁₀烷基)、或-N(C₁-C₁₀烷基)₂;-O-(C₂-C₁₀烯基)、-S-(C₂-C₁₀烯基)、-NH-(C₂-C₁₀烯基)、或-N(C₂-C₁₀烯基)₂;-O-(C₂-C₁₀炔基)、-S-(C₂-C₁₀炔基)、-NH-(C₂-C₁₀炔基)、或-N(C₂-C₁₀炔基)₂;或-O--(C₁-C₁₀亚烷基)-O--(C₁-C₁₀烷基)、-O-(C₁-C₁₀亚烷基)-NH-(C₁-C₁₀烷基)或-O-(C₁-C₁₀亚烷基)-NH(C₁-C₁₀烷基)₂;-NH-(C₁-C₁₀亚烷基)-O-(C₁-C₁₀烷基)、或-N(C₁-C₁₀烷基)-(C₁-C₁₀亚烷基)-O-(C₁-C₁₀烷基),其中烷基、亚烷基、烯基和炔基各自独立且任选地经取代。在一些实施例中,2'-OH被-H(脱氧核糖)替换。在一些实施例中,2'-OH被-F替换。在一些实施例中,2'-OH被-OR'替换。在一些实施例中,2'-OH被-OMe替换。在一些

实施例中, 2'-OH被-OCH₂CH₂OMe替换。

[0349] 在一些实施例中, 糖修饰是2'-修饰。常用的2'-修饰包括但不限于2'-OR, 其中R是任选地经取代的C₁₋₆脂肪族。在一些实施例中, 修饰是2'-OR, 其中R是任选地经取代的C₁₋₆烷基。在一些实施例中, 修饰是2'-OMe。在一些实施例中, 修饰是2'-MOE。在一些实施例中, 2'-修饰是S-cEt。在一些实施例中, 经修饰的糖是LNA糖。在一些实施例中, 2'-修饰是-F。在一些实施例中, 2'-修饰是FANA。在一些实施例中, 2'-修饰是FRNA。在一些实施例中, 糖修饰是5'-修饰, 例如5'-Me。在一些实施例中, 糖修饰改变糖环的大小。在一些实施例中, 糖修饰是FHNA中的糖部分。

[0350] 在一些实施例中, 糖修饰用另一个环状或无环状部分替换糖部分。这类部分的实例是本领域广泛已知的, 包括但不限于吗啉基(任选地具有其二氨基磷酸酯键联)、二醇核酸等中所使用的那些部分。

[0351] 在一些实施例中, MAPT寡核苷酸的一个或多个糖被修饰。在一些实施例中, 寡核苷酸的每个糖被独立地修饰。在一些实施例中, 经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中, 每个经修饰的糖独立地包含2'-修饰。在一些实施例中, 2'-修饰是2'-OR, 其中R是任选地经取代的C₁₋₆脂肪族。在一些实施例中, 2'-修饰是2'-OMe。在一些实施例中, 2'-修饰是2'-MOE。在一些实施例中, 2'-修饰是LNA糖修饰。在一些实施例中, 2'-修饰是2'-F。在一些实施例中, 每个糖修饰独立地是2'-修饰。在一些实施例中, 每个糖修饰独立地是2'-OR。在一些实施例中, 每个糖修饰独立地是2'-OR, 其中R是任选地经取代的C₁₋₆烷基。在一些实施例中, 每个糖修饰是2'-OMe。在一些实施例中, 每个糖修饰是2'-MOE。在一些实施例中, 每个糖修饰独立地是2'-OMe或2'-MOE。在一些实施例中, 每个糖修饰独立地是2'-OMe、2'-MOE或LNA糖。

[0352] 在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经取代的ENA糖。在一些实施例中, 糖是在以下中描述的糖: 例如Seth等人, J Am Chem Soc. [美国化学学会杂志] 2010年10月27日; 132(42): 14942-14950。在一些实施例中, 修饰的糖是在XNA(异种核酸(xenonucleic acid))中的糖, 例如阿拉伯糖、无水己糖醇、苏糖、2'氟阿拉伯糖或环己烯。

[0353] 经修饰的糖包括代替呋喃戊糖基糖的环丁基或环戊基部分。此类经修饰的糖的代表性实例包括在US 4,981,957、US 5,118,800、US 5,319,080或US 5,359,044中描述的那些。在一些实施例中, 核糖环内的氧原子被氮、硫、硒或碳替换。在一些实施例中, -O-被-N(R')-、-S-、-Se-或-C(R')₂-替换。在一些实施例中, 经修饰的糖是经修饰的核糖, 其中核糖环内的氧原子被氮替换, 并且其中氮任选地被烷基(例如, 甲基、乙基、异丙基等)取代。

[0354] 在一些实施例中, 糖通过核苷酸间键联(在一些实施例中, 经修饰的核苷酸间键联)连接。在一些实施例中, 核苷酸间键联不包含键联磷。在一些实施例中, 核苷酸间键联是-L-。在一些实施例中, 核苷酸间键联是-OP(O)(-C≡CH)O-、-OP(O)(R)O- (例如, R是-CH₃)、3'-NHP(O)(OH)O-5'、3'-OP(O)(CH₃)OCH₂-5'、3'-CH₂C(O)NHCH₂-5'、3'-SCH₂OCH₂-5'、3'-OCH₂OCH₂-5'、3'-CH₂NR'CH₂-5'、3'-CH₂N(Me)OCH₂-5'、3'-NHC(O)CH₂CH₂-5'、3'-NR'C(O)CH₂CH₂-5'、3'-CH₂CH₂NR'-5'、3'-CH₂CH₂NH-5'、或3'-OCH₂CH₂N(R')-5'。在一些实施例中, 5'碳可以任选地被=O取代。

[0355] 在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经取代的戊糖或己糖。在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经取代的戊糖。在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经取代的己糖。在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经取代的核糖或己糖醇。在一些实施例中, 修饰的糖是任选地经

取代的核糖。在一些实施例中,修饰的糖是任选地经取代的己糖醇。

[0356] 在一些实施例中,糖修饰是5'-乙烯基(R或S)、5'-甲基(R或S)、2'-SH、2'-F、2'-OCH₃、2'-OCH₂CH₃、2'-OCH₂CH₂F或2'-O(CH₂)₂₀CH₃。在一些实施例中,在2'位上的取代基,例如2'-修饰基团是烯丙基、氨基、叠氮基、硫基、O-烯丙基、O-C₁-C₁₀烷基、OCF₃、OCH₂F、O(CH₂)₂SCH₃、O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n)、O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n)和O-CH₂-C(=O)-N(R₁)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n),其中每个烯丙基、氨基和烷基任选地经取代,并且R₁、R_m和R_n各自独立地是如本披露中所述的R'。在一些实施例中,R₁、R_m和R_n各自独立地是-H或任选地经取代的C₁-C₁₀烷基。

[0357] 在一些实施例中,糖是四氢吡喃或THP糖。在一些实施例中,经修饰的核苷是四氢吡喃核苷或THP核苷(其是用六元四氢吡喃糖代替典型的天然核苷中的呋喃戊糖基残基的核苷)。THP糖和/或核苷包括用于己糖醇核酸(HNA)、安尼妥核酸(ANA)、甘露醇核酸(MNA)(例如,Leumann, Bioorg. Med. Chem. [生物有机化学与医药化学], 2002, 10, 841-854)或氟代HNA(F-HNA)的那些。

[0358] 在一些实施例中,糖包含具有多于5个原子和/或多于一个杂原子的环,例如吗啉代糖。

[0359] 如本领域技术人员将理解的,糖、核碱基、核苷酸间键联等的修饰可以并且经常与寡核苷酸(例如,参见表1中的各种寡核苷酸)组合使用。例如,糖修饰和核碱基修饰的组合是2'-F(糖)5-甲基(核碱基)修饰的核苷。在一些实施例中,组合是用S替换核糖基环氧原子并在2'-位置取代。

[0360] 在一些实施例中,2'-修饰的糖是在2'位被修饰的呋喃糖基糖。在一些实施例中,2'-修饰是卤素、-R'(其中R'不是-H)、-OR'(其中R'不是-H)、-SR'、-N(R')₂、任选地经取代的-CH₂-CH=CH₂、任选地经取代的烯基或任选地经取代的炔基。在一些实施例中,2'-修饰选自-O[(CH₂)_nO]_mCH₃、-O(CH₂)_nNH₂、-O(CH₂)_nCH₃、-O(CH₂)_nF、-O(CH₂)_nONH₂、-OCH₂C(=O)N(H)CH₃和-O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂,其中每个n和m独立地是1至约10。在一些实施例中,2'-修饰是任选地经取代的C₁-C₁₂烷基、任选地经取代的烯基、任选地经取代的炔基、任选地经取代的烷芳基、任选地经取代的芳烷基、任选地经取代的-O-烷芳基、任选地经取代的-O-芳烷基、-SH、-SCH₃、-OCN、-Cl、-Br、-CN、-F、-CF₃、-OCF₃、-SOCH₃、-SO₂CH₃、-ONO₂、-NO₂、-N₃、-NH₂、任选地经取代的杂环烷基、任选地经取代的杂环烷芳基、任选地经取代的氨基烷基氨基、任选地经取代的聚烷基氨基、经取代的甲硅烷基、报告基团、嵌入剂、用于改善药代动力学特性的基团、用于改善药效学特性的基团和其他取代基。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE修饰。

[0361] 在一些实施例中,2'-修饰的或2'-取代的糖或核苷是在糖的2'位包含除-H(通常不视为取代基)或-OH以外的取代基的糖或核苷。在一些实施例中,2'-修饰的糖是双环糖,该双环糖包含连接糖环的两个碳原子(其中一个为2'碳)的桥。在一些实施例中,2'-修饰是非桥联的,例如烯丙基、氨基、叠氮基、硫代、任选地经取代的-O-烯丙基、任选地经取代的-O-C₁-C₁₀烷基、-OCF₃、-O(CH₂)₂OCH₃、2'-O(CH₂)₂SCH₃、-O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n)或-OCH₂C(=O)N(R_m)(R_n),其中每个R_m和R_n独立地是-H或任选地经取代的C₁-C₁₀烷基。

[0362] 在一些实施例中,糖是N-甲醇卡巴(N-methanocarba)、LNA、cMOE BNA、cEt BNA、α-L-LNA或相关类似物、HNA、Me-ANA、MOE-ANA、Ara-FHNA、FHNA、R-6'-Me-FHNA、S-6'-Me-FHNA、ENA或c-ANA。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是C3-酰胺(例如,具有与C3'连接的酰胺修饰的糖,Mutisya等人2014 Nucleic Acids Res. [核酸研究] 2014年6月1日; 42(10):

6542-6551), 甲缩醛, 硫代甲缩醛, MMI [例如, 亚甲基 (甲基亚氨基), Peoc'h 等人 2006 Nucleosides and Nucleotides [核苷与核苷酸] 16 (7-9)], PMO (二氨基磷酸酯连接的吗啉代) 键联 (其连接两个糖) 或 PNA (肽核酸) 键联。

[0363] 在一些实施例中, 糖是描述于 US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612 和/或 WO 2020/191252 中的糖, 其各自的糖通过引用并入本文。

[0364] 可用于制备寡核苷酸或其类似物的多种另外的糖是本领域已知的, 并且可以根据本披露使用。

核碱基

[0365] 根据本披露, 多种核碱基可用于所提供的寡核苷酸中。在一些实施例中, 核碱基是天然核碱基, 最常见的天然核碱基是 A、T、C、G 和 U。在一些实施例中, 核碱基是经修饰的核碱基, 因为它不是 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 核碱基是任选地经取代的 A、T、C、G 或 U, 或 A、T、C、G 或 U 的经取代的互变异构体。在一些实施例中, 核碱基是任选地经取代的 A、T、C、G 或 U, 例如 5mC、5-羟甲基 C 等。在一些实施例中, 核碱基是烷基取代的 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 核碱基是 A。在一些实施例中, 核碱基是 T。在一些实施例中, 核碱基是 C。在一些实施例中, 核碱基是 G。在一些实施例中, 核碱基是 U。在一些实施例中, 核碱基是 5mC。在一些实施例中, 核碱基是取代的 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 核碱基是 A、T、C、G 或 U 的经取代的互变异构体。在一些实施例中, 取代保护核碱基中的某些官能团以最小化寡核苷酸合成过程中不希望的反应。在寡核苷酸合成中用于核碱基保护的合适技术是本领域众所周知的, 并且可以根据本披露使用。在一些实施例中, 经修饰的核碱基改善了寡核苷酸的特性和/或活性。例如, 在许多情况下, 可以使用 5mC 代替 C 来调节某些不希望的生物学效应, 例如免疫应答。在一些实施例中, 当确定序列同一性时, 将具有相同氢键模式的经取代的核碱基与未经取代的核碱基相同处理, 例如 5mC 可以与 C 相同处理 [例如, 具有 5mC 代替 C (例如, AT5mCG) 的寡核苷酸被认为与在一个或多个相应位置 (例如, ATCG) 具有 C 的寡核苷酸具有相同的碱基序列]。

[0366] 在一些实施例中, 寡核苷酸包含一个或多个 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 寡核苷酸包含一个或多个任选地经取代的 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 寡核苷酸包含一个或多个 5-甲基胞苷、5-羟甲基胞苷、5-甲酰基胞嘧啶或 5-羧基胞嘧啶。在一些实施例中, 寡核苷酸包含一个或多个 5-甲基胞苷。在一些实施例中, 寡核苷酸中的每个核碱基选自由任选地经取代的 A、T、C、G 和 U, 以及任选地经取代的 A、T、C、G 和 U 的互变异构体组成的组。在一些实施例中, 寡核苷酸中的每个核碱基是任选地被保护的 A、T、C、G 和 U。在一些实施例中, 寡核苷酸中的每个核碱基是任选地经取代的 A、T、C、G 或 U。在一些实施例中, 寡核苷酸中的每个核碱基选自由 A、T、C、G、U 和 5mC 组成的组。

[0367] 在一些实施例中, 核碱基是任选地经取代的 2AP 或 DAP。在一些实施例中, 核碱基是任选地经取代的 2AP。在一些实施例中, 核碱基是任选地经取代的 DAP。在一些实施例中, 核碱基是 2AP。在一些实施例中, 核碱基是 DAP。

[0368] 在一些实施例中,核碱基是天然核碱基或衍生自天然核碱基的经修饰的核碱基。实例包括任选地其各自的氨基基团被酰基保护基团保护的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶和鸟嘌呤,2-氟尿嘧啶,2-氟胞嘧啶,5-溴尿嘧啶,5-碘尿嘧啶,2,6-二氨基嘌呤,氮杂胞嘧啶,嘧啶类似物(如假异胞嘧啶和假尿嘧啶),以及其他修饰的核碱基(如8-取代的嘌呤、黄嘌呤、或次黄嘌呤,后两个是天然降解产物)。经修饰的核碱基的某些实例披露于Chiu和Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048; Limbach等人 Nucleic Acids Research [核酸研究], 1994, 22, 2183-2196; 以及 Revankar 和 Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry [天然产物综合化学], 第7卷, 313中。在一些实施例中,经修饰的核碱基是取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中,经修饰的核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤的例如就氢键合和/或碱基配对而言的功能替换物。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中,核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。

[0369] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个5-甲基胞嘧啶。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸的碱基序列在本文中例如在表1中披露,其中每个T可以独立地被U替换并且反之亦然,并且每个胞嘧啶任选地且独立地被5-甲基胞嘧啶替换,或反之亦然。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,就寡核苷酸的碱基序列而言,可以将5mC视为C-这种寡核苷酸在C位置包含核碱基修饰(例如,参见表1中的各种寡核苷酸)。在寡核苷酸的描述中,通常除非另有说明,否则核碱基、糖和核苷酸间键联是未修饰的。

[0370] 在一些实施例中,经修饰的碱基是任选地经取代的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶或其互变异构体。在一些实施例中,经修饰的核碱基是通过以下方式而被一个或多个修饰所修饰的经修饰的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶:

(1) 核碱基被一个或多个独立地选自以下的任选地取代的基团修饰:酰基、卤素、氨基、叠氮基、烷基、烯基、炔基、芳基、杂烷基、杂烯基、杂炔基、杂环基、杂芳基、羧基、羟基、生物素、亲和素、链霉亲和素、取代的甲硅烷基及其组合;

(2) 核碱基的一个或多个原子独立地被选自碳、氮和硫的不同原子替换;

(3) 核碱基中的一个或多个双键独立地被氢化;或

(4) 一个或多个芳基或杂芳基环独立地插入至核碱基中。

[0371] 在一些实施例中,经修饰的核碱基是本领域(例如,WO 2017/210647)中已知的经修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是其中已添加一个或多个芳基和/或杂芳基环(诸如苯环)的尺寸扩大的核碱基。

[0372] 在一些实施例中,经修饰的核碱基选自5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶、烷基或炔基取代的嘧啶、烷基取代的嘌呤,以及N-2、N-6和O-6取代的嘌呤。在某些实施例中,经修饰的核碱基选自2-氨基丙基腺嘌呤、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-N-甲基鸟嘌呤、6-N-甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH₃)尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶、6-氮尿嘧啶、6-氮胞嘧啶、6-氮胸腺嘧啶、5-核糖基尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤代嘌呤、8-氨基嘌呤、8-硫醇嘌呤、8-硫代烷基嘌呤、8-羟基嘌呤、8-氮杂嘌呤及其他8-取代的嘌呤、5-卤代、特别是5-溴、5-三氟甲基、5-卤代尿嘧啶及5-卤代胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤、7-甲基腺嘌呤、2-F-腺嘌呤、2-氨基腺嘌呤、7-脱

氮鸟嘌呤、7-脱氮腺嘌呤、3-脱氮鸟嘌呤、3-脱氮腺嘌呤、6-N-苯甲酰基腺嘌呤、2-N-异丁酰基鸟嘌呤、4-N-苯甲酰基胞嘧啶、4-N-苯甲酰基尿嘧啶、5-甲基4-N-苯甲酰基胞嘧啶、5-甲基4-N-苯甲酰基尿嘧啶、通用碱基、疏水性碱基、混杂碱基、大小扩展的碱基,以及氟化碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基是三环嘧啶,诸如1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮、1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮或9-(2-氨基乙氧基)-1,3-二氮杂吩噻嗪-2-酮(G形夹(G-clamp))。在一些实施例中,经修饰的核碱基是其中嘌呤或嘧啶碱基被其他杂环替换的那些核碱基,例如,7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟苷、2-氨基吡啶或2-吡啶酮。

[0373] 在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的。在一些实施例中,经修饰的核碱基是经取代的,使得其含有例如连接到荧光部分、生物素或亲和素部分、或其他蛋白或肽的杂原子、烷基或连接部分。在一些实施例中,经修饰的核碱基是并非最经典意义上的核碱基,但功能类似于核碱基的“通用碱基”。通用碱基的一个实例是3-硝基吡咯。

[0374] 在一些实施例中,可用于所提供的技术中的核苷包括经修饰的核碱基和/或经修饰的糖,例如4-乙酰基胞苷;5-(羧基羟甲基)尿苷;2'-O-甲基胞苷;5-羧甲基氨基甲基-2-硫代尿苷;5-羧甲基氨基甲基尿苷;二氢尿苷;2'-O-甲基假尿苷; β ,D-半乳糖基Q核苷;2'-O-甲基鸟苷; N^6 -异戊烯基腺苷;1-甲基腺苷;1-甲基假尿苷;1-甲基鸟苷;1-甲基肌苷;2,2-二甲基鸟苷;2-甲基腺苷;2-甲基鸟苷; N^7 -甲基鸟苷;3-甲基-胞苷;5-甲基胞苷;5-羟甲基胞苷;5-甲酰基胞嘧啶;5-羧基胞嘧啶; N^6 -甲基腺苷;7-甲基鸟苷;5-甲基氨基乙基尿苷;5-甲氧基氨基甲基-2-硫代尿苷; β ,D-甘露糖基Q核苷;5-甲氧基羰基甲基尿苷;5-甲氧基尿苷;2-甲硫基- N^6 -异戊烯基腺苷; N -(9- β ,D-呋喃核糖基-2-甲基硫代嘌呤-6-基)氨甲酰基)苏氨酸; N -(9- β ,D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)- N -甲基氨甲酰基)苏氨酸;尿苷-5-氧基乙酸甲酯;尿苷-5-氧基乙酸(v);假尿苷;Q核苷;2-硫代胞苷;5-甲基-2-硫代尿苷;2-硫代尿苷;4-硫代尿苷;5-甲基尿苷;2'-O-甲基-5-甲基尿苷;以及2'-O-甲基尿苷。

[0375] 在一些实施例中,核碱基例如经修饰的核碱基包含一个或多个生物分子结合部分,诸如抗体、抗体片段、生物素、亲和素、链霉亲和素、受体配体或螯合部分。在其他实施例中,核碱基是5-溴尿嘧啶、5-碘尿嘧啶或2,6-二氨基嘌呤。在一些实施例中,核碱基包含被荧光或生物分子结合部分进行的取代。在一些实施例中,取代基是荧光部分。在一些实施例中,取代基是生物素或亲和素。

[0376] 在一些实施例中,核碱基是描述于US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252中的核碱基,其各自的核碱基通过引用并入本文。

另外的化学部分

[0377] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸包含一个或多个另外的化学部分。多种另外的化学部分,例如靶向部分、碳水化合物部分、脂质部分等是本领域已知的并且可以根据本披露用于调节MAPT寡核苷酸的特性和/或活性,例如稳定性、半衰期、活性、递送、药效动力学特性、药代动力学特性等。在一些实施例中,某些另外的化学部分促进将寡核苷酸递送至所需的细胞、组织和/或器官,包括但不限于中枢神经系统的细胞。在一些实施例中,某些另外的

化学部分促进寡核苷酸的内化。在一些实施例中,某些另外的化学部分提高寡核苷酸稳定性。在一些实施例中,本披露提供用于将各种另外的化学部分并入至寡核苷酸中的技术。

[0378] 在一些实施例中,另外的化学部分能够改善MAPT寡核苷酸的稳定性和/或递送,例如,遍及特定的组织、器官或身体部分或遍及整个患者的身体。

[0379] 在一些实施例中,另外的化学部分是碳水化合物部分、靶向部分等,其在掺入寡核苷酸中时可以改善一种或多种特性。在一些实施例中,另外的化学部分选自葡萄糖、GluNAc (N-乙酰葡萄糖胺)及茴香酰胺部分。

[0380] 在一些实施例中,另外的化学部分是靶向部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含碳水化合物部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含脂质部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含例如细胞受体(诸如 σ 受体、脱唾液酸糖蛋白受体等)的配体部分。在一些实施例中,配体部分是或包含茴香酰胺部分,其可是 σ 受体的配体部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体部分。

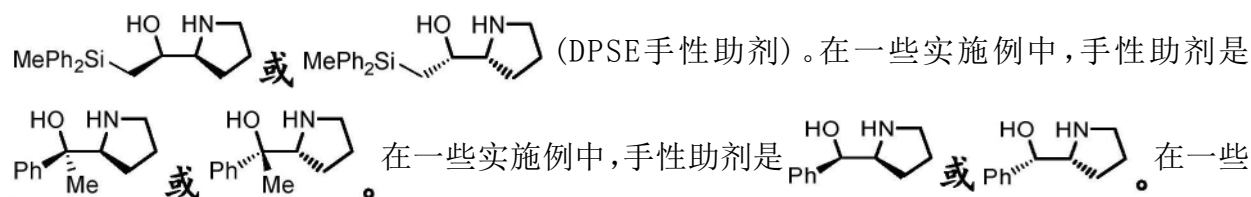
[0381] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含GalNAc部分。

[0382] 某些有用的另外的化学部分描述于US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0249173、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252。

寡核苷酸和组合物的产生

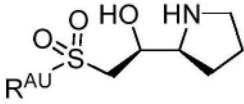
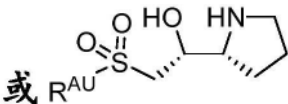
[0383] 多种方法可以用于产生寡核苷酸和组合物,并且可以根据本披露使用。例如,传统的亚磷酰胺化学可用于制备立体随机的寡核苷酸和组合物,并且某些试剂和手性受控的技术可用于制备手性受控的寡核苷酸组合物,例如如以下中所描述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的试剂和方法通过引用并入本文。

[0384] 在一些实施例中,寡核苷酸及其组合物的手性控制/立体选择性制备包括利用手性助剂,例如作为单体亚磷酰胺的一部分。此类手性助剂和亚磷酰胺的实例描述于以下中:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的手性助剂和亚磷酰胺通过引用独立地并入本文。在一些实施例中,手性助剂是

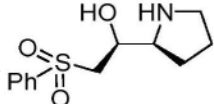


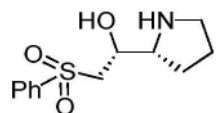
在一些实施例中,手性助剂包含 $-SO_2R^{AU}$,其中 R^{AU} 是选自以下的任选地经取代的基团: C_{1-20} 脂肪族、

具有1-10个杂原子的C₁₋₂₀杂脂肪族、C₆₋₂₀芳基、C₆₋₂₀芳基脂肪族、具有1-10个杂原子的C₆₋₂₀芳基杂脂肪族、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基、以及具有1-10个杂原子的3-20元杂环

基。在一些实施例中,手性助剂是  或  在一些实施例中

中,R^{AU}是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,R^{AU}是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,

R^{AU}是任选地经取代的C₁₋₆脂肪族。在一些实施例中,手性助剂是  或



(PSM手性助剂)。在一些实施例中,此类手性助剂(例如制剂)、包含此类手性

助剂的亚磷酰胺、包含此类助剂的中间寡核苷酸(这些助剂通常通过-OH的-O-与键联磷键合,而-NH-任选地被封端(例如通过-C(O)R))的使用、保护、去除等描述在US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252中,并通过引用并入本文。

[0385] 在一些实施例中,手性受控的制备技术(包括寡核苷酸合成循环、试剂和条件)描述于以下中:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的寡核苷酸合成方法、循环、试剂和条件通过引用独立地并入本文。

[0386] 一旦合成,通常将进一步纯化MAPT寡核苷酸和组合物。合适的纯化技术是本领域技术人员众所周知的和实践的,包括但不限于在以下中描述的那些:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252,其各自的纯化技术通过引用独立地并入本文。

[0387] 在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰和解封闭或由其组成。在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰、封端和解封闭或由其组成。这些步骤通常以其列出的顺序执行,但是在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,可以改变某些步骤的顺序,例如封端和修饰。如果需要,可以重复一个或多个步骤以提高转化率、产率和/或纯度,如本领域技术人员通常在合成中所进行的。例如,在一些实施例中,可以重复进行偶联;在一些实施例中,可以重复进行修饰(例如,氧化以安装=O,硫化以安装=S,等等);在一些实施例中,在

修饰后重复进行偶联,其可以将P(III)键联转化成在某些情况下可以更稳定的P(V)键联,并且偶联后通常进行修饰以转化新形成的P(III)键联为P(V)键联。在一些实施例中,当重复步骤时,可以采用不同的条件(例如,浓度、温度、试剂、时间等)。

[0388] 在一些实施例中,寡核苷酸连接到固体支持物。在一些实施例中,固体支持物是寡核苷酸合成的支持物。在一些实施例中,固体支持物包括玻璃。在一些实施例中,固体支持物是CPG(可控孔度玻璃)。在一些实施例中,固体支持物是聚合物。在一些实施例中,固体支持物是聚苯乙烯。在一些实施例中,固体支持物是高度交联的聚苯乙烯(HCP)。在一些实施例中,固体支持物是可控孔度玻璃(CPG)和高度交联的聚苯乙烯(HCP)的杂合支持物。在一些实施例中,固体支持物是金属泡沫。在一些实施例中,固体支持物是树脂。在一些实施例中,从固体支持物上切割寡核苷酸。

[0389] 用于配制所提供的寡核苷酸和/或制备药物组合物的技术,例如用于经由各种途径施用给受试者的技术,在本领域中是容易获得的,并且可以根据本披露使用,例如描述于以下中的那些:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612和/或WO 2020/191252。

寡核苷酸的代谢产物和缩短形式

[0390] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸对应于通过较长的寡核苷酸,例如较长的MAPT寡核苷酸的切割(例如,通过核酸酶的酶促切割)产生的代谢产物。在一些实施例中,本披露涉及对应于本文披露的MAPT寡核苷酸的部分或片段的MAPT寡核苷酸。

[0391] 在一些实施例中,本披露涉及对应于本文披露的MAPT寡核苷酸的代谢产物的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露涉及比本文披露的寡核苷酸短1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13个或更多个碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露涉及具有以下碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列比本文披露的寡核苷酸的碱基序列短1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13个或更多个碱基。

[0392] 在一些实施例中,将代谢产物命名为3'-N-#或5'-N-#,其中#表示去除的碱基数,并且3'或5'表示碱基从分子的哪端去除。例如,3'-N-1表示片段或代谢产物,其中从3'端去除了1个碱基。

[0393] 在一些实施例中,本披露涉及对应于本文披露的寡核苷酸的片段或代谢产物的寡核苷酸,其中该片段或代谢产物可以描述为对应于本文所述的寡核苷酸的3'-N-1、3'-N-2、3'-N-3、3'-N-4、3'-N-5、3'-N-6、3'-N-7、3'-N-8、3'-N-9、3'-N-10、3'-N-11、3'-N-12、5'-N-1、5'-N-2、5'-N-3、5'-N-4、5'-N-5、5'-N-6、5'-N-7、5'-N-8、5'-N-9、5'-N-10、5'-N-11、或5'-N-12,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。

[0394] 在一些实施例中,本披露涉及对应于寡核苷酸的代谢产物的寡核苷酸,其中该代谢产物相对于本文披露的寡核苷酸在5'和/或3'端被截短,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,本披露涉及对应于寡核苷酸的代谢产物的,其中该代谢产物相对于本文披露的寡核苷酸在5'和3'端均被截短,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。在一些实施例中,本披露涉及比本文披露的寡核苷酸在5'端和/或3'端短1、2、3、

4、5、6、7、8、9、10、11、12、13个或更多个总碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露涉及具有以下碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列在5'端和/或3'端比本文披露的寡核苷酸的碱基序列短1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13个或更多个总碱基,其中每个T可以独立地被U替换,并且反之亦然。

[0395] 在一些实施例中,本披露涉及寡核苷酸,其是在天然磷酸酯键联处切割的本文披露的寡核苷酸的切割产物。在一些实施例中,本披露涉及寡核苷酸,其是在Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联处切割的本文披露的寡核苷酸的切割产物。

[0396] 根据本公开,可以利用多种技术来鉴定、表征和/或评估代谢物和/或缩短的MAPT寡核苷酸,例如,在US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0249173、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2019/032607、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或WO 2020/191252中描述的那些。

表征与评估

[0397] 在一些实施例中,可以使用本领域技术人员可用的各种技术(例如生化测定法(例如RNA酶H测定法)、基于细胞的测定法、动物模型、临床试验等)来表征和/或评估MAPT寡核苷酸及其组合物的特性和/或活性。

[0398] 在一些实施例中,鉴定和/或表征寡核苷酸组合物例如MAPT寡核苷酸组合物的方法包括以下步骤:

提供至少一个包含多个寡核苷酸的组合物;以及
相对于参考组合物评估传递。

[0399] 在一些实施例中,本披露提供了一种鉴定和/或表征寡核苷酸组合物例如MAPT寡核苷酸组合物的方法,该方法包括以下步骤:

提供至少一个包含多个寡核苷酸的组合物;以及
相对于参考组合物评估细胞摄取。

[0400] 在一些实施例中,本披露提供了一种鉴定和/或表征寡核苷酸组合物例如MAPT寡核苷酸组合物的方法,该方法包括以下步骤:

提供至少一个包含多个寡核苷酸的组合物;以及
评估靶标基因的转录物和/或由此编码的产物相对于参考组合物的减少。

[0401] 在一些实施例中,本披露提供了一种鉴定和/或表征寡核苷酸组合物例如MAPT寡核苷酸组合物的方法,该方法包括以下步骤:

提供至少一个包含多个寡核苷酸的组合物;以及
评估tau水平的降低,其相对于参考组合物的聚集和/或扩散。

[0402] 在一些实施例中,将寡核苷酸例如MAPT寡核苷酸及其组合物的特性和/或活性分别与参考寡核苷酸及其组合物进行比较。

[0403] 在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是所有核苷酸间键联均为硫代磷酸酯的寡核苷酸的立体随机组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有所有磷酸酯键联的DNA寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物在其他方面与所提供的手性受控的寡核苷酸组合物相同,除了它不是手性受控的。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物在其他方面与所

提供的手性受控的寡核苷酸组合物相同,除了它具有不同的立体化学模式。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物与所提供的寡核苷酸组合物相似,除了它具有对一个或多个糖、碱基和/或核苷酸间键联或修饰模式的不同修饰。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是立体随机的,而参考寡核苷酸组合物也是立体随机的,但是它们在糖和/或碱基的一个或多个修饰或其模式方面有所不同。

[0404] 在一些实施例中,参考组合物是具有相同碱基序列和相同化学修饰的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,参考组合物是具有相同碱基序列和相同化学修饰模式的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,参考组合物是具有相同碱基序列和化学修饰的寡核苷酸的非手性受控(或立体随机)组合物。在一些实施例中,参考组合物是具有相同构成的、与提供的手性受控的寡核苷酸组合物在其他方面相同的寡核苷酸的非手性受控的(或立体随机的)组合物。

[0405] 在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有不同碱基序列的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物具有不靶向MAPT的寡核苷酸(例如,作为某些测定的阴性对照)。

[0406] 在一些实施例中,参考组合物是具有相同碱基序列但不同化学修饰(包括但不限于本文所述的化学修饰)的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,参考组合物是具有相同碱基序列但不同核苷酸间键联模式和/或核苷酸间键联的立体化学和/或化学修饰的寡核苷酸的组合物。

[0407] 各种方法是本技术领域已知的用于检测基因产物,这些基因产物的表达、水平和/或活性可在引入施用提供的寡核苷酸之后改变。例如,可以使用qPCR检测和定量转录物及其敲低,并可以通过蛋白质印迹法确定蛋白质水平。

[0408] 在一些实施例中,寡核苷酸功效的评估可以在生化测定中或在细胞中体外进行。在一些实施例中,可以通过本领域技术人员可用的各种方法将MAPT寡核苷酸引入细胞,例如,裸式(gymnotic)递送、转染、脂转染等。

[0409] 在一些实施例中,可以在体外测试推定的MAPT寡核苷酸的功效。

[0410] 在一些实施例中,可以使用测试MAPT基因或其基因产物的表达、水平和/或活性的任何已知方法在体外测试推定的MAPT寡核苷酸的功效。

[0411] 在一些实施例中,脑桥腹侧神经元核中的MAPT水平可以通过免疫荧光来评估。

[0412] 在一些实施例中,可以通过免疫印迹观察MAPT可溶性聚集体。

[0413] 在一些实施例中,在阿尔茨海默病(AD)和/或额颞叶痴呆(FTD)的细胞或动物模型中测试MAPT寡核苷酸。

[0414] 在一些实施例中,可以评估施用MAPT寡核苷酸的动物模型的安全性和/或功效。

[0415] 在一些实施例中,可以评估向动物施用寡核苷酸的一个或多个作用,包括对行为、炎症和毒性的任何作用。在一些实施例中,在给药后,可以观察到动物的毒性迹象,包括烦躁的理毛行为、缺乏食物消耗以及嗜睡的任何其他迹象。在一些实施例中,在阿尔茨海默病(AD)或额颞叶痴呆(FTD)的小鼠模型中,在施用MAPT寡核苷酸后,可以监测动物后爪紧扣表型发作的时间。

[0416] 在一些实施例中,在向动物施用MAPT寡核苷酸之后,可以处死动物,并且可以进行组织或细胞的分析以确定MAPT的改变或其他生化或其他改变。在一些实施例中,在尸检之

后,可以收集、固定并处理肝脏、心脏、肺、肾脏和脾脏以进行组织病理学评估(苏木精和曙红染色的组织玻片的标准光学显微镜检查)。

[0417] 在一些实施例中,向动物施用MAPT寡核苷酸后,可以监测或评估行为变化。在一些实施例中,可以使用科学文献中描述的技术来进行这种评估。

[0418] 在施用MAPT寡核苷酸后,还可以在受试者或患者中监测本文所述的动物中测试的各种作用。

[0419] 另外,可以通过在施用寡核苷酸后评估本领域已知的各种参数中的任何一种来测量MAPT寡核苷酸在人类受试者中的功效,这些参数包括但不限于阿尔茨海默病(AD)和/或额颞叶痴呆(FTD)症状的减轻、或阿尔茨海默病(AD)和/或额颞叶痴呆(FTD)症状恶化的速率或发作降低。

[0420] 在一些实施例中,在用寡核苷酸对人进行治疗后,或在体外使细胞或组织与寡核苷酸接触后,收集细胞和/或组织用于分析。

[0421] 在一些实施例中,在各种细胞和/或组织中,靶核酸水平可以通过本领域可用的方法(其中许多可以用市售试剂盒和材料完成)定量。这样的方法包括例如RNA印迹分析,竞争性聚合酶链反应(PCR),定量实时PCR等。可以对总细胞RNA或聚(A)⁺mRNA进行RNA分析。探针和引物被设计为与待检测的核酸杂交。设计实时PCR探针和引物的方法是本领域众所周知的并且广泛实践的。例如,为了检测和定量MAPT RNA,一种示例方法包括从用寡核苷酸或组合物处理过的细胞或动物中分离总RNA(例如包括mRNA)并且使该RNA进行逆转录和/或实时定量PCR,例如本文中和Moon等人.2012Cell Metab.[细胞代谢]15:240-246中所描述。

[0422] 在一些实施例中,可以用本领域已知的各种方法评估或定量蛋白质水平,例如,酶联免疫吸附测定(ELISA)、蛋白质印迹分析(免疫印迹)、免疫细胞化学、荧光激活细胞分选(FACS)、免疫组织化学、免疫沉淀法、蛋白活性测定(例如,半胱天冬酶活性测定)和定量蛋白测定。可用于检测小鼠、大鼠、猴和人蛋白质的抗体可商购获得,也可以在需要时产生。例如,已经报道了各种MAPT抗体。

[0423] 用于检测寡核苷酸或其他核酸的水平的各种技术是本领域可获得的和/或已知的。当施用以评估例如递送、细胞摄取、稳定性、分布等时,此类技术可用于检测MAPT寡核苷酸。

[0424] 在一些实施例中,选择标准用于评估由各种测定得到的数据,并用于选择具有某些特性和活性的特定的理想的寡核苷酸,例如理想的MAPT寡核苷酸。在一些实施例中,选择标准包括小于约10nM、小于约5nM或小于约1nM的IC₅₀。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第1天至少50%稳定性[寡核苷酸的至少50%仍是剩余的和/或可检测的]。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第2天至少50%稳定性。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第3天至少50%稳定性。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第4天至少50%稳定性。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第5天至少50%稳定性。在一些实施例中,稳定性分析的选择标准包括第5天至少80%[至少80%的寡核苷酸剩余]。

[0425] 在一些实施例中,通过监测、测量或检测与MAPT相关的病症、障碍或疾病或生物学途径的变化,直接或间接地评估MAPT寡核苷酸的功效。

[0426] 在一些实施例中,通过监测、测量或检测受MAPT敲低影响的响应的变化来直接或间接评估MAPT寡核苷酸的功效。

[0427] 在一些实施例中,提供的寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)可以通过序列分析来分析,以确定哪些其他基因[例如,不是靶基因(例如,MAPT)的基因]具有与提供的寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)的碱基序列互补或者与提供的寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)的碱基序列具有0、1、2或更多个错配的序列。可以确定通过这些潜在脱靶的寡核苷酸进行的敲低(如果有的话),以评估寡核苷酸(例如,MAPT寡核苷酸)的潜在脱靶作用。在一些实施例中,脱靶效应也被称为非预期效应和/或与旁观者(非靶标)序列或基因的杂交有关。

[0428] 已经评估和测试了敲低MAPT的功效的寡核苷酸具有多种用途,例如用于治疗或预防MAPT相关的病症、障碍或疾病或其症状。

[0429] 在一些实施例中,已被评估和测试其提供特定生物学作用(例如,降低MAPT靶基因或其基因产物的水平、表达和/或活性)的能力的MAPT寡核苷酸可用于治疗、改善和/或预防MAPT相关病症、障碍或疾病。

与MAPT相关的病症、障碍或疾病的治疗

[0430] 在一些实施例中,本披露提供了靶向MAPT并指导MAPT的靶特异性敲低的MAPT寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了使用提供的MAPT寡核苷酸及其组合物预防和/或治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病的方法。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸及其组合物,用作例如针对与MAPT相关的病症、障碍或疾病的药物。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸及其组合物,用于治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸及其组合物,用于制备用于治疗与MAPT相关的病症、障碍或疾病的药物。

[0431] 在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中治疗和/或改善与MAPT相关的病症、障碍或疾病相关的一种或多种症状的方法,该方法包括向该哺乳动物施用治疗有效量MAPT寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中降低对MAPT相关的病症、障碍或疾病的易感性的方法,该方法包括:向该哺乳动物施用治疗有效量的MAPT寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中预防或延迟MAPT相关的病症、障碍或疾病的发作的方法,该方法包括:向该哺乳动物施用治疗有效量的MAPT寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中治疗和/或改善与MAPT相关的病症、障碍或疾病相关的一种或多种症状的方法,该方法包括:向该哺乳动物施用治疗有效量的包含MAPT寡核苷酸的核酸-脂质颗粒。在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中降低对MAPT相关的病症、障碍或疾病的易感性的方法,该方法包括:向该哺乳动物施用治疗有效量的包含MAPT寡核苷酸的核酸-脂质颗粒。在一些实施例中,本披露提供了一种在有需要的哺乳动物中预防或延迟MAPT相关的病症、障碍或疾病的发作的方法,该方法包括:向该哺乳动物施用治疗有效量的包含MAPT寡核苷酸的核酸-脂质颗粒。在一些实施例中,哺乳动物是人。在一些实施例中,哺乳动物易感、罹患和/或患有与MAPT相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是阿尔茨海默病(AD)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是额颞叶痴呆(FTD)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是行为变异型FTD(bvFTD)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是皮质基底节变性(CBD)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是进行性核上性麻痹(PSP)。在一些实施例中,与MAPT相关的病症、障碍或疾病是癫痫。在一些实施例中,与MAPT相关的

病症、障碍或疾病是Dravet综合征。在一些实施例中，与MAPT相关的病症、障碍或疾病是慢性创伤性脑病变(CTE)。

[0432] 在一些实施例中，所提供的方法减少了tau的表达、水平和/或活性。在一些实施例中，所提供的方法减少了tau在神经元中的聚集。在一些实施例中，所提供的方法减少了tau在神经元之间的扩散。

[0433] 在一些实施例中，所提供的寡核苷酸和组合物可用于预防和/或治疗神经退行性疾病，例如阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)、行为变异型FTD(bvFTD)、非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)、皮质基底节变性(CBD)、进行性核上性麻痹(PSP)、癫痫、Dravet综合征、慢性创伤性脑病变(CTE)等。在一些实施例中，本披露提供了用于预防和/或治疗神经退行性疾病，例如阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)、行为变异型FTD(bvFTD)、非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)、皮质基底节变性(CBD)、进行性核上性麻痹(PSP)、癫痫、Dravet综合征、慢性创伤性脑病变(CTE)等的方法，这些方法包括向易患或患有上述疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，本披露提供了用于治疗神经退行性疾病的方法，这些方法包括向患有神经退行性疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，本披露提供了用于预防和/或治疗tau蛋白病的方法，该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，本披露提供了用于治疗tau蛋白病的方法，该方法包括向患有该疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，本披露提供了用于预防和/或治疗阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)、行为变异型FTD(bvFTD)、非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)、皮质基底节变性(CBD)、进行性核上性麻痹(PSP)、癫痫、Dravet综合征、或慢性创伤性脑病变(CTE)的方法，该方法包括向易患或患有上述疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，本披露提供了用于治疗阿尔茨海默病(AD)、额颞叶痴呆(FTD)、行为变异型FTD(bvFTD)、非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)、皮质基底节变性(CBD)、进行性核上性麻痹(PSP)、癫痫、Dravet综合征、慢性创伤性脑病变(CTE)的方法，该方法包括向患有这些疾病的受试者施用治疗有效量的如本文所述的MAPT寡核苷酸或组合物。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗AD。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗FTD。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗bvFTD。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗nfvPPA。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗CBD。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗PSP。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗癫痫。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗Dravet综合征。在一些实施例中，方法用于预防和/或治疗CTE。在一些实施例中，受试者是人。在一些实施例中，与例如健康受试者(或其群体)、不易患和/或不患有此类神经退行性疾病的受试者(或其群体)等相比，受试者具有增加的MAPT表达和/或增加的一种或多种MAPT产物(例如，转录物、蛋白(例如，tau蛋白)等)的水平。

[0434] 在一些实施例中，所提供的寡核苷酸和组合物可以任选地与一个或多个其他治疗剂组合使用。

寡核苷酸及组合物的施用

[0435] 根据本披露，可以使用许多递送方法、方案等来施用所提供的寡核苷酸及其组合

物(通常是用于治疗目的的药物组合物),包括本领域已知的各种技术。

[0436] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物,例如MAPT寡核苷酸组合物,以比在其他方面可比较的参考寡核苷酸组合物的剂量和/或频率低的剂量和/或频率施用,并且具有可比或改善的效果。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物以比可比较的、在其他方面相同的立体随机的参考寡核苷酸组合物的剂量和/或频率更低的剂量和/或频率施用,并且具有可比或改善的作用,例如在改善靶标转录物的敲低方面。

[0437] 在一些实施例中,本披露认识到可以通过化学修饰和/或立体化学来调节和优化寡核苷酸及其组合物的特性和活性,例如敲低活性、稳定性、毒性等。在一些实施例中,本披露提供用于经由化学修饰和/或立体化学使寡核苷酸特性和/或活性优化的方法。在一些实施例中,本披露提供了具有改善的特性和/或活性的寡核苷酸及其组合物。不希望受到任何理论的束缚,例如由于其更好的活性、稳定性、递送、分布、毒性、药代动力学、药效学和/或功效谱,申请人注意到,所提供的寡核苷酸及其组合物在一些实施例中可以较低的剂量和/或降低的频率施用以达到可比或更好的功效,并且在一些实施例中可以更高的剂量和/或增加的频率施用以提供增强的作用。

[0438] 在一些实施例中,本披露提供了在施用包含多个共享共同的碱基序列的寡核苷酸的寡核苷酸组合物的方法中的改善,该方法包括施用包含多个寡核苷酸的寡核苷酸,该寡核苷酸特征在于相对于具有相同的共同的碱基序列的参考寡核苷酸组合物的改善的递送。

[0439] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸、组合物及方法提供改善的递送。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸、组合物及方法提供改善的细胞质递送。在一些实施例中,改善的递送是至细胞群中。在一些实施例中,改善的递送是至组织中。在一些实施例中,改善的递送是至器官中。在一些实施例中,改善的递送是至生物体(例如患者或受试者)中。提供改善的递送的实例结构元件(例如,化学修饰、立体化学、其组合等)、寡核苷酸、组合物及方法详述于本披露中。

[0440] 可以使用各种给药方案来施用本发明的寡核苷酸和组合物。在一些实施例中,间隔一定时间段施用多个单位剂量。在一些实施例中,指定组合物具有推荐的给药方案,其可涉及一次或多次给药。在一些实施例中,给药方案包含多次给药,其中的每一者彼此间隔开相同长度的时段;在一些实施例中,给药方案包括多次给药以及间隔开个别给药的至少两个不同时段。在一些实施例中,给药方案内的所有给药具有相同单位给药量。在一些实施例中,给药方案内的不同给药具有不同的量。在一些实施例中,给药方案包含呈第一给药量的第一次给药,接着是呈不同于第一给药量的第二给药量的一次或多次其他给药。在一些实施例中,给药方案包含以第一给药量第一次给药,继之以另一次或多次与第一次给药(或另一先前给药)量相同或不同的第二(或后续)给药量给药。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物根据一给药方案施用,该给药方案不同于用于相同序列的非手性受控(例如立体随机)的寡核苷酸组合物的给药方案和/或用于相同序列的不同手性受控的寡核苷酸组合物的给药方案。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物根据一给药方案施用,该给药方案相比于相同序列的非手性受控(例如立体随机)的寡核苷酸组合物的给药方案减少,其在给定单位时间内达成较低水平的总暴露、涉及一个或多个较低单位剂量和/或在给定单位时间内包括较少数目次给药。在一些实施例中,非手性受控的寡核苷酸根据一给药方案施用,该给药方案与相同序列的非手性受控(例如立体随机)的寡核苷酸组合物的给药方

案相比延长较长时间段。不希望受理论限制,申请人指出,在一些实施例中,较短给药方案和/或给药之间的较长时间段可根据手性受控的寡核苷酸组合物的改善的稳定性、生物可用性和/或功效来定。在一些实施例中,凭借改善的递送(及其他特性),所提供组合物可以较低剂量和/或以较低频率施用以达成生物作用,例如临床功效。

药物组合物

[0441] 当用作治疗剂时,所提供的寡核苷酸(例如MAPT寡核苷酸)或其寡核苷酸组合物通常作为药物组合物施用。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,该药物组合物包含所提供的化合物(例如寡核苷酸)或其药学上可接受的盐、以及药物载体。在一些实施例中,出于治疗和临床目的,本披露的寡核苷酸作为药物组合物提供。如本领域技术人员所理解的,可以以其酸、碱或盐形式提供本披露的寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸可以是酸形式,例如对于天然磷酸酯键联, $-OP(O)(OH)O^-$ 的形式;对于硫代磷酸酯核苷酸间键联, $-OP(O)(SH)O^-$ 的形式;等。在一些实施例中,MAPT寡核苷酸可以是盐形式,例如对于天然磷酸酯键联,以钠盐的 $-OP(O)(ONa)O^-$ 的形式;对于硫代磷酸酯核苷酸间键联,以钠盐的 $-OP(O)(SNa)O^-$ 的形式;等。除非另有说明,否则本披露的寡核苷酸可以以酸、碱和/或盐形式存在。

[0442] 在一些实施例中,药物组合物是液体组合物。在一些实施例中,通过使用合适的溶剂(例如,水或药学上可接受的缓冲剂)溶解固体寡核苷酸组合物或稀释浓缩的寡核苷酸组合物来提供药物组合物。在一些实施例中,液体组合物包含所提供的寡核苷酸的阴离子形式和一种或多种阳离子。在一些实施例中,液体组合物具有在弱酸性、约中性或碱性范围内的pH值。在一些实施例中,液体组合物的pH为约生理pH,例如约7.4。

[0443] 在一些实施例中,配制提供的寡核苷酸以施用于表达其靶标的身体细胞和/或组织和/或与其接触。例如,在一些实施例中,配制提供的MAPT寡核苷酸以施用于表达MAPT的身体细胞和/或组织。在一些实施例中,这样的身体细胞和/或组织是中枢神经系统的神经元或细胞和/或组织。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物的广泛分布可以通过实质内施用、鞘内施用或脑室内施用来实现。

[0444] 在一些实施例中,配制药物组合物用于静脉内注射、口服施用、口腔施用、吸入、鼻腔施用、局部施用、眼部施用或耳部施用。在一些实施例中,药物组合物是片剂、丸剂、胶囊、液体、吸入剂、鼻喷雾剂溶液、栓剂、悬浮液、凝胶、胶体、分散体、悬浮液、溶液、乳液、软膏、洗液、滴眼液、或滴耳液。

[0445] 在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,其包含与药学上可接受的非活性成分(例如药学上可接受的赋形剂,药学上可接受的载体等)混合的手性受控的寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,其递送与药学上可接受的非活性成分(例如药学上可接受的赋形剂,药学上可接受的载体等)混合的手性受控的寡核苷酸或其组合物。本领域技术人员将认识到,药物组合物包括所提供的寡核苷酸或组合物的药学上可接受的盐。在一些实施例中,药物组合物是手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,药物组合物是立体纯的寡核苷酸组合物。

[0446] 在一些实施例中,本披露提供寡核苷酸的盐及其药物组合物。在一些实施例中,盐是药学上可接受的盐。在一些实施例中,药物组合物包含任选以其盐形式的寡核苷酸和钠盐。在一些实施例中,药物组合物包含任选以其盐形式的寡核苷酸和氯化钠。在一些实施例中,寡核苷酸的可以给至碱的每个氢离子(例如,在水溶液、药物组合物等的条件下)被非 H^+

阳离子替换。例如,在一些实施例中,寡核苷酸的药学上可接受的盐是全金属离子盐,其中每个核苷酸间键联(例如天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的每个氢离子(例如-OH、-SH等)被金属离子替换。用于药物组合物的各种合适的金属盐在本领域中是众所周知的,并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是镁盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钙盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钾盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是铵盐(阳离子 $(R)_4^+$)。在一些实施例中,药学上可接受的盐包含一种且不超过一种类型的阳离子。在一些实施例中,药学上可接受的盐包含两种或更多种类型的阳离子。在一些实施例中,阳离子是 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 。在一些实施例中,药学上可接受的盐是全钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是全钠盐,其中为天然磷酸酯键联(酸形式-O-P(O)(OH)-O-) (如果存在的话)的每个核苷酸间键联以其钠盐形式(-O-P(O)(ONa)-O-)存在,并且为硫代磷酸酯核苷酸间键联(酸形式-O-P(O)(SH)-O-) (如果存在的话)的每个核苷酸间键联以其钠盐形式(O-P(O)(SNa)-O-)存在。

[0447] 根据本披露,可以利用本领域已知的用于递送核酸和/或寡核苷酸的各种技术。例如,多种超分子纳米载体可用于递送核酸。示例纳米载体包括但不限于脂质体、阳离子聚合物复合物、和各种聚合物化合物。核酸与各种聚阳离子的复合是用于细胞内递送的另一种方法;这包括使用聚乙二醇化的聚阳离子、聚乙烯胺(PEI)复合物、阳离子嵌段共聚物、和树状聚合物。若干种阳离子纳米载体(包括PEI和聚酰胺树状聚合物)有助于从内体释放内容物。其他方法包括使用聚合纳米粒子、微球、脂质体、树状聚合物、生物可降解聚合物、缀合物、前药、如硫或铁的无机胶体、抗体、移植物、生物可降解移植物、生物可降解微球、渗透受控移植物、脂质纳米粒子、乳液、油性溶液、水溶液、生物可降解聚合物、聚乳酸羟基乙酸共聚物(poly(lactide-co-glycolic acid))、聚(乳酸)、液体储存物、聚合物微胞、量子点以及脂复合物。在一些实施例中,寡核苷酸与另一分子缀合。

[0448] 在治疗和/或诊断应用中,本披露的化合物例如寡核苷酸可以配制用于多种施用方式,包括全身和局部(topical或localized)施用。技术和配制品通常可以在Remington, The Science and Practice of Pharmacy[药物科学与实践](第20版2000年)中找到。

[0449] 碱性部分的药学上可接受的盐通常是本领域普通技术人员所熟知的,并且可以包括例如乙酸盐、苯磺酸盐(benzenesulfonate)、苯磺酸盐(besylate)、苯甲酸盐、碳酸氢盐、酒石酸氢盐、溴化物、乙二胺四乙酸钙、牛磺酸盐、碳酸盐、柠檬酸盐、乙二胺四乙酸盐、乙二磺酸盐、丙酸酯月桂硫酸盐(estolate)、酚磺乙胺(esylate)、延胡索酸盐、葡萄糖酸盐(glucaptate)、葡糖酸盐(gluconate)、谷氨酸盐、乙醇酰氨基苯膦酸盐(glycolylarsanilate)、己基间苯二酚盐(hexylresorcinate)、海巴明(hydrabamine)、氢溴酸盐、盐酸盐、羟萘甲酸盐、碘化物、羟乙磺酸盐、乳酸盐、乳糖醛酸盐、苹果酸盐、马来酸盐、扁桃酸盐、甲磺酸盐、粘酸盐、萘磺酸盐、硝酸盐、双羟萘酸盐(pamoate/embonate)、泛酸盐、磷酸盐/磷酸氢盐、聚半乳糖醛酸盐、水杨酸盐、硬脂酸盐、碱式乙酸盐(subacetate)、琥珀酸盐、硫酸盐、丹宁酸盐、酒石酸盐、或茶氯酸盐(teoclolate)。其他药学上可接受的盐可以例如在,Remington, The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践], (第20版2000)中找到。优选的药学上可接受的盐包括,例如,乙酸盐、苯甲酸盐、溴化物、碳酸盐、柠檬酸盐、葡糖酸盐、氢溴酸盐、盐酸盐、马来酸盐、甲磺酸盐、萘磺酸盐、双羟萘酸盐

(pamoate、embonate)、磷酸盐、水杨酸盐、琥珀酸盐、硫酸盐或酒石酸盐。

[0450] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸被配制在WO 2005/060697、WO 2011/076807或WO 2014/136086中描述的药物组合物中。

[0451] 取决于所治疗的具体病症、障碍或疾病,可以将所提供的试剂例如寡核苷酸配制成液体或固体剂型并全身或局部给施用。如本领域技术人员已知的,可以例如以定时或持续低释放形式递送所提供的寡核苷酸。配制和施用的技术可以在Remington, The Science and Practice of Pharmacy[雷明顿:药学科学与实践], (第20版2000)中找到。合适的途径可包括口服、口腔、通过吸入喷雾、舌下、直肠、透皮、阴道、穿粘膜、鼻或肠施用;肠胃外递送,包括肌内、皮下、髓内注射,以及鞘内、直接心室内、静脉内、关节内、胸骨内、滑膜内、肝内、病灶内、颅内、腹膜内、鼻内或眼内注射,或其他递送方式。

[0452] 对于注射,可以在水溶液中,例如在生理相容的缓冲液中,例如汉克氏溶液、林格氏溶液或生理盐水缓冲液中配制和稀释所提供的试剂,例如寡核苷酸。对于这种穿粘膜施用,在配制品中使用适于障碍物渗透的渗透剂。这样的渗透剂是本领域公知的,并且可以根据本披露使用。

[0453] 用于实施本披露的药学上可接受的载体用于将化合物(例如提供的寡核苷酸)配制成适合于各种施用方式的剂量的用途是本领域众所周知的。通过适当选择载体和合适的制造方法,本披露的组合物,例如配制成溶液的组合物,可以通过各种途径,例如肠胃外施用,例如通过静脉内注射。

[0454] 在一些实施例中,包含MAPT寡核苷酸的组合物还包含以下任一种或全部:二水合氯化钙、六水合氯化镁、氯化钾、氯化钠、无水磷酸氢二钠、磷酸钠、单碱二水合物和/或注射用水。在一些实施例中,组合物还包含以下任一种或全部:二水合氯化钙(0.21mg) USP、六水合氯化镁(0.16mg) USP、氯化钾(0.22mg) USP、氯化钠(8.77mg) USP、无水磷酸氢二钠(0.10mg) USP、二水合磷酸二氢钠(0.05mg) USP和注射用水USP。

[0455] 在一些实施例中,包含寡核苷酸的组合物还包含以下任一种或全部:胆固醇、(6Z, 9Z, 28Z, 31Z)-三十七-6,9,28,31-四烯基-19-基-4-(二甲基氨基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、 α -(3'-{[1,2-二(肉豆蔻基氧基)丙氧基]羰基氨基}丙基)- ω -甲氧基、聚氧乙烯(PEG2000-C-DMG)、无水磷酸二氢钾NF、氯化钠、七水合磷酸氢二钠和注射用水。在一些实施例中,包含MAPT寡核苷酸的组合物的pH是约7.0。在一些实施例中,包含寡核苷酸的组合物还包含以下任一种或全部:在约1mL的总体积中,6.2mg胆固醇USP、13.0mg (6Z, 9Z, 28Z, 31Z)-三十七-6,9,28,31-四烯基-19-基-4-(二甲基氨基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、3.3mg 1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1.6mg α -(3'-{[1,2-二(肉豆蔻基氧基)丙氧基]羰基氨基}丙基)- ω -甲氧基、聚氧乙烯(PEG2000-C-DMG)、0.2mg无水磷酸二氢钾NF、8.8mg氯化钠USP、2.3mg七水合磷酸氢二钠USP和注射用水USP。

[0456] 可以使用本领域熟知的药学上可接受的载体将所提供的化合物(例如寡核苷酸)容易地配制成适于口服施用的剂量。在一些实施例中,此类载体使得提供的寡核苷酸能够配制成片剂、丸剂、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆液、悬浮液等,用于例如被待治疗的受试者(例如患者)口服摄取。

[0457] 对于鼻或吸入递送,可以通过本领域技术人员已知的方法配制提供的化合物,例

如寡核苷酸,并且可以包括例如增溶、稀释或分散物质(如,盐水、防腐剂(如苯甲醇)、吸收促进剂和碳氟化合物)的实例。

[0458] 在某些实施例中,寡核苷酸和组合物递送至CNS。在某些实施例中,寡核苷酸和组合物递送至脑脊液。在某些实施例中,寡核苷酸和组合物施用至脑实质。在某些实施例中,寡核苷酸和组合物通过鞘内施用或脑室内施用而递送至动物/受试者。寡核苷酸和组合物的广泛分布可以通过本文所述和/或本领域已知的施用方法来实现。

[0459] 在某些实施例中,肠胃外施用通过注射进行,例如通过针筒、泵等进行。在某些实施例中,注射是推注。在某些实施例中,注射直接施用至组织或部位,如纹状体、尾状核、皮层、海马体、和/或小脑。

[0460] 在某些实施例中,特异性定位提供的化合物(例如寡核苷酸)的方法(例如通过推注)可使中值有效浓度(EC50)降低20、25、30、35、40、45或50倍。在某些实施例中,靶向的组织是脑组织。在某些实施例中,靶向的组织是纹状体组织。在某些实施例中,降低EC50是所希望的,因为这减少了在有需要的患者中实现药理学结果所需的剂量。

[0461] 在某些实施例中,将提供的寡核苷酸通过注射或输注每月、每两个月、每90天、每3个月、每6个月、每年两次或每年一次递送。

[0462] 适用于本披露的药物组合物包括组合物,其中包含有效量的活性成分例如寡核苷酸以实现其预期目的。有效量的确定完全在本领域技术人员的能力之内,尤其是根据于本文提供的具体披露内容。

[0463] 除活性成分外,药物组合物可以含有合适的药学上可接受的载体(包含赋形剂和助剂),这些载体有助于将活性化合物加工成可药用的制剂。用于口服施用而配制的制剂可以呈片剂、糖衣丸、胶囊或溶液的形式。

[0464] 在一些实施例中,用于口服使用的药物组合物可通过以下方法获得:将活性化合物与固体赋形剂组合,任选地研磨所得混合物,并加工颗粒混合物(如果希望的话,在添加合适的助剂之后),以获得片剂或糖衣丸芯。合适的赋形剂尤其是填充剂,如糖,包括乳糖、蔗糖、甘露醇或山梨醇;纤维素制剂,例如玉米淀粉、小麦淀粉、大米淀粉、马铃薯淀粉、明胶、黄耆胶、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、羧甲基纤维素钠(CMC)、和/或聚乙烯吡咯烷酮(PVP:聚维酮(povidone))。如果需要,可添加崩解剂,如交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、或海藻酸或其盐(如海藻酸钠)。

[0465] 在一些实施例中,糖衣丸芯提供有合适的包衣。为此目的,可以使用浓缩的糖溶液,这些糖溶液可以任选地含有阿拉伯树胶、滑石、聚乙烯吡咯烷酮、卡波姆胶、聚乙二醇(PEG)、和/或二氧化钛、漆溶液和合适的有机溶剂或溶剂混合物。可以将染料或颜料添加到片剂或糖衣丸包衣中,以用于标识或表征活性化合物剂量的不同组合。

[0466] 可口服使用的药物制剂包括由明胶制成的插接式胶囊(push-fit capsule)以及由明胶与增塑剂(如甘油或山梨醇)制成的密封式软胶囊。插接式胶囊可以包含与填充剂(如乳糖)、粘合剂(如淀粉)和/或润滑剂(如滑石或硬脂酸镁)以及任选地稳定剂混合的活性成分,例如寡核苷酸。在软胶囊中,活性化合物例如寡核苷酸可以溶解或悬浮在合适的液体,如脂肪油、液体石蜡、或液体聚乙二醇(PEG)中。此外,还可以添加稳定剂。

[0467] 在一些实施例中,提供的组合物包含脂质。在一些实施例中,脂质与活性化合物,例如寡核苷酸缀合。在一些实施例中,脂质不与活性化合物缀合。在一些实施例中,脂质包

含 C_{10} - C_{40} 直链饱和或部分不饱和脂肪族链。在一些实施例中,脂质包含任选经一个或多个 C_{1-4} 脂肪族基团取代的 C_{10} - C_{40} 直链饱和或部分不饱和脂肪族链。在一些实施例中,脂质选自由以下组成的组:月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 α -亚麻酸、 γ -亚麻酸、二十二碳六烯酸(顺-DHA)、喇叭藻酸和二亚油醇。在一些实施例中,活性化合物是提供的寡核苷酸。在一些实施例中,组合物包含脂质和活性化合物,并且还包含另一种组分,其是另一种脂质或靶向性化合物或部分。在一些实施例中,脂质是氨基脂质;两亲脂质;阴离子脂质;载脂蛋白;阳离子脂质;低分子量阳离子脂质;如CLinDMA和DLinDMA的阳离子脂质;可电离阳离子脂质;掩蔽组分;辅助脂质;脂肽;中性脂质;中性两性离子脂质;疏水性小分子;疏水性维生素;PEG-脂质;被一个或多个亲水性聚合物修饰的不带电脂质;磷脂;如1,2-二酰基-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺的磷脂;隐形脂质;固醇;胆固醇;靶向性脂质;或本文所述或本领域报道的另一种适合于药物用途的脂质。在一些实施例中,组合物包含脂质和能够介导另一脂质的至少一种功能的另一脂质的一部分。在一些实施例中,靶向性化合物或部分能够使化合物(例如寡核苷酸)靶向特定细胞或组织或者细胞或组织的亚组。在一些实施例中,靶向性部分被设计成用于利用特定靶标、受体、蛋白质或另一种亚细胞组分的细胞特异性或组织特异性表达。在一些实施例中,靶向部分是将组合物靶向细胞或组织和/或结合至靶标、受体、蛋白质或另一种亚细胞组分的配体(例如,小分子、抗体、肽、蛋白质、碳水化合物、适体等)。

[0468] 用于递送活性化合物例如寡核苷酸的某些示例脂质允许(例如不防止或不干扰)活性化合物的功能。在一些实施例中,脂质是月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 α -亚麻酸、 γ -亚麻酸、二十二碳六烯酸(顺-DHA)、喇叭藻酸或二亚油醇。

[0469] 如本披露中所述,脂质缀合(如与脂肪酸缀合)可改善寡核苷酸的一个或多个特性。

[0470] 在一些实施例中,用于递送活性化合物例如寡核苷酸的组合物能够将活性化合物根据需要靶向特定细胞或组织。在一些实施例中,用于递送活性化合物的组合物能够将活性化合物靶向肌肉细胞或组织。在一些实施例中,本披露提供与活性化合物的递送相关的组合物和方法,其中组合物包含活性化合物和脂质。在肌肉细胞或组织的各种实施例中,脂质选自月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 α -亚麻酸、 γ -亚麻酸、二十二碳六烯酸(顺-DHA)、喇叭藻酸和二亚油醇。

[0471] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸经由设计用于将核酸递送至中枢神经系统或细胞或其组织或部分的递送方法或组合物被递送至中枢神经系统或细胞或其组织或部分。

[0472] 在一些实施例中,MAPT寡核苷酸经由包含以下任何一种或多种的组合物或涉及使用以下任何一种或多种的递送方法来递送:靶向转铁蛋白受体的纳米颗粒;基于阳离子脂质体的递送策略;阳离子脂质体;高分子纳米粒子;病毒载体;逆转录病毒;腺相关病毒;稳定的核酸脂质颗粒;聚合物;细胞穿透肽;脂质;树状聚合物;中性脂质;胆固醇;类脂质分子;融合脂质;亲水分子;聚乙二醇(PEG)或其衍生物;屏蔽脂质;聚乙二醇化脂质;PEG-C-DMSO;PEG-C-DMSA;DSPC;离子化脂质;基于甾体的胆固醇衍生物;离子包被的纳米颗粒;金属离子包被的纳米颗粒;锰离子包被的纳米颗粒;angubindin-1;纳米凝胶;将MAPT掺入支链核酸结构中;和/或将MAPT掺入包含2、3、4或更多个寡核苷酸的支链核酸结构中。

[0473] 在一些实施例中,将包含寡核苷酸的组合物冻干。在一些实施例中,将包含寡核苷

酸的组合物冻干,并将冻干的寡核苷酸置于小瓶中。在一些实施例中,小瓶回充氮气。在一些实施例中,冻干的寡核苷酸组合物在施用前被重构。在一些实施例中,冻干的寡核苷酸组合物在施用前用氯化钠溶液重构。在一些实施例中,冻干的寡核苷酸组合物在施用前用0.9%氯化钠溶液重构。在一些实施例中,在用于施用的临床站点进行重构。在一些实施例中,在冻干的组合物中,寡核苷酸组合物是手性受控的或包含至少一个手性受控的核苷酸间键联和/或寡核苷酸靶向MAPT。

[0474] 除其他事项外,本披露提供了以下实施例:

1. 一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列包含与MAPT基因或其转录物的碱基序列相同或互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基,其中该寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖、一个或多个经修饰的核碱基、和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联。

2. 如实施例1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的该碱基序列包含与MAPT转录物互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

3. 如实施例1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的该碱基序列包含与MAPT mRNA互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

4. 如实施例1所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的该碱基序列包含与MAPT RNA的内含子11互补的碱基序列的至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个连续碱基。

5. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列包含以下序列的至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个连续碱基:ACGTTGCAGTGTTCCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCACTATCCUCC、GTGTTCCACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

6. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含约20个核碱基,这些核碱基各自独立地选自任选地取代的A、T、C、G、U及其互变异构体。

7. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-翼-核心-翼-3'部分,其中该5'-翼和该3'-翼各自独立地包含两个或更多个经修饰的糖。

8. 如实施例7所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含各自独立地包含2'-OR的两个或更多个糖,其中R是任选地取代的C₁₋₄脂肪族。

9. 如实施例8所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。

10. 如实施例7-9中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼中每个糖包含2'-修饰的糖。

11. 如实施例7-10中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼中每个糖包含相同的修饰。

12. 如实施例7-11中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含4、5、或7个核苷。

13.如实施例7-12中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

14.如实施例7-13中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。

15.如实施例7-14中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼包含一个或多个天然磷酸酯键联。

16.如实施例7-15中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含各自独立地包含2'-OR的两个或更多个糖,其中R是任选地取代的C₁₋₄脂肪族。

17.如实施例7-16中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'-翼的糖修饰模式与该3'-翼的糖修饰模式不同。

18.如实施例7-17中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含该5'-翼中不存在的糖修饰。

19.如实施例7-18中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。

20.如实施例7-19中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼中的每个糖包含2'-修饰的糖。

21.如实施例7-20中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼中的每个糖包含相同的修饰。

22.如实施例7-21中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含4、5、或7个核苷。

23.如实施例7-22中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

24.如实施例7-23中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个非带负电荷的核苷酸间键联。

25.如实施例7-24中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'-翼包含一个或多个天然磷酸酯键联。

26.如实施例7-25中任一项所述的寡核苷酸,其中5'-翼中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

27.如实施例7-26中任一项所述的寡核苷酸,其中3'-翼中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

28.如实施例7-27中任一项所述的寡核苷酸,其中5'-翼中每个非带负电荷的核苷酸间键联是n001。

29.如实施例7-28中任一项所述的寡核苷酸,其中3'-翼中的每个非带负电荷的核苷酸间键联是n001。

30.如实施例28-29中任一项所述的寡核苷酸,其中所述n001是Rp。

31.如实施例7-30中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心不包含2'-OR糖修饰,其中R是任选地经取代的C₁₋₄脂肪族。

32.如实施例7-31中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心中每个糖是天然DNA糖(包含两个2'-H)。

33.如实施例7-32中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心包含约7、8、9、10或11个

核苷。

34. 如实施例7-33中任一项所述的寡核苷酸,其中键合到该核心中的核苷的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

35. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $[(Rp)n(Sp)m]_y$,其中n、m、和y各自独立地是1-25。

36. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的骨架手性中心模式是或包含 $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]_y$,其中t、n、m、和y各自独立地是1-25。

37. 如实施例7-36中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心的骨架手性中心模式是或包含 $[(Rp)n(Sp)m]_y$,其中n、m、和y各自独立地是1-25。

38. 如实施例7-37中任一项所述的寡核苷酸,其中该核心的骨架手性中心模式是或包含 $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]_y$,其中t、n、m、和y各自独立地是1-25。

39. 如实施例35-38中任一项所述的寡核苷酸,其中至少一个n是1。

40. 如实施例35-39中任一项所述的寡核苷酸,其中每个n是1。

41. 如实施例35-40中任一项所述的寡核苷酸,其中每个m独立地是2-25。

42. 如实施例35-41中任一项所述的寡核苷酸,其中y是1。

43. 如实施例35-42中任一项所述的寡核苷酸,其中y是2-5。

44. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与MAPT转录物中的碱基序列约90%-100%互补。

45. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、GTGTTCCTACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUC、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

46. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCTACTATCCTCCUUC,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

47. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是GTGTTCCTACTATCCTCCUUC。

48. 一种寡核苷酸,其中该寡核苷酸是WV-26758、WV-26759、WV-29875、WV-29876、WV-29877、WV-29878、WV-29879、WV-29880、WV-29881、WV-29882、WV-29883、WV-29884、WV-29885、WV-29886、WV-29887、WV-29888、WV-30672、WV-30673、WV-30674、WV-30970、WV-30971、WV-30972、WV-30973、WV-30974、WV-30975、WV-30976、WV-30977、WV-30978、WV-30979、WV-30980、WV-30981、WV-30982、WV-30983、WV-30984、WV-30985、WV-30986、WV-30987、WV-30988、WV-30989、WV-30990、WV-30991、WV-30992、WV-30993、WV-30994、WV-30995、WV-30996、WV-30997、WV-30998、WV-30999、WV-31000、WV-31001、WV-31002、WV-31003、WV-31004、WV-31005、WV-31006、WV-31007、WV-31008、WV-31009、WV-31010、WV-

31011、WV-31012、WV-31013、WV-31014、WV-31015、WV-31016、WV-31017、WV-31018、WV-31019、WV-31020、WV-31021、WV-31022、WV-31023、WV-31024、WV-31025、WV-31026、WV-31027、WV-31028、WV-31029、WV-31030、WV-31031、WV-31032、WV-31033、WV-31034、WV-31035、WV-31036、WV-31037、WV-31038、WV-31039、WV-31040、WV-31041、WV-31042、WV-31043、WV-31044、WV-31045、WV-31046、WV-31048、WV-31049、WV-31050、WV-31051、WV-31052、WV-32808、WV-32809、WV-32810、WV-32811、WV-32812、WV-32813、WV-32814、WV-32815、WV-32816、WV-32817、WV-32818、WV-32819、WV-32820、WV-32821、WV-32822、WV-32823、WV-32824、WV-32825、WV-32826、WV-32827、WV-33008、WV-33009、WV-33010、WV-33011、WV-33012、WV-33013、WV-33014、WV-33015、WV-33016、WV-33017、WV-33018、WV-33019、WV-33020、WV-33021、WV-33022、WV-33023、WV-33024、WV-33025、WV-33026、WV-33027、WV-33028、WV-33029、WV-33030、WV-33031、WV-33032、WV-33033、WV-33034、WV-33035、WV-33036、WV-33037、WV-33038、WV-33039、WV-33040、WV-33041、WV-33042、WV-33043、WV-33044、WV-33045、WV-33046、WV-33047、WV-33048、WV-33049、WV-33050、WV-33051、WV-33052、WV-33053、WV-33054、WV-33055、WV-33056、WV-33057、WV-33058、WV-33059、WV-33060、WV-33061、WV-33062、WV-33063、WV-33064、WV-33065、WV-33066、WV-33067、WV-33068、WV-33069、WV-33070、WV-33071、WV-33072、WV-33073、WV-33074、WV-33075、WV-33076、WV-33077、WV-33078、WV-33079、WV-33080、WV-33081、WV-33082、WV-33083、WV-33084、WV-33085、WV-33086、WV-33087、WV-33088、WV-33089、WV-33090、WV-36875、WV-36876、WV-36877、WV-37299、WV-37300、WV-37301、WV-37302、WV-37303、WV-37304、或WV-37305。

49. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29883。

50. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32823。

51. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29876。

52. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32824。

53. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32826。

54. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29884。

55. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29886。

56. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29877。

57. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32816。

58. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32817。

59. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29878。

60. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29887。

61. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32827。

62. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-32825。

63. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29885。

64. 如实施例48所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是WV-29882。

65. 如实施例48-64中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸呈盐形式。

66. 如实施例48-64中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

67. 如实施例66所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸呈钠盐形式。

68. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约60%-100%的非对映异构体纯度。

69. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有至少约60%的非对映异构体纯度。

70. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在施用至包含MAPT转录物的系统时, 该寡核苷酸能够降低该MAPT转录物的水平、表达和/或活性。

71. 一种药物组合物, 该药物组合物递送或包含如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸和药学上可接受的载体。

72. 如实施例71所述的组合物, 该组合物递送或包含该寡核苷酸的药学上可接受的盐。

73. 如实施例71-72中任一项所述的组合物, 其中该组合物包含该寡核苷酸的两种或多种形式。

74. 如实施例71-73中任一项所述的组合物, 其中该组合物是包含该寡核苷酸的一种或多种溶解的药学上可接受的盐形式的水性组合物。

75. 一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列, 和

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

其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地靶向MAPT。

76. 一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列, 和

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

其中相对于共享该共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂, 该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

77. 一种包含特定寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物, 该寡核苷酸的特征在于:

a) 共同的碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同的骨架手性中心模式;

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含至少一个核苷酸间键联, 该核苷酸间键联包含Sp构型的共同键联磷;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂, 该组合物

富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸;以及

其中多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地靶向MAPT。

78.如实施例75-76任一项所述的组合物,其中在施用至包含MAPT转录物的系统时,该寡核苷酸能够降低该MAPT转录物的水平、表达和/或活性。

79.如实施例75-78中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸与MAPT转录物中的位点杂交。

80.如实施例75-79中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸包含第一翼、核心、和第二翼。

81.如实施例75-80中任一项所述的组合物,其中该第一翼的糖修饰模式与该第二翼的糖修饰模式不同。

82.如实施例75-81中任一项所述的组合物,其中该核心的核苷单元不包含糖修饰。

83.如实施例75-82中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸靶向MAPT内含子11。

84.如实施例75-82中任一项所述的组合物,其中该寡核苷酸靶向MAPT内含子11并且该寡核苷酸具有包含以下碱基序列的至少10个连续碱基的碱基序列: ACGTTGCAGTGTTCACUAU、ACTATCCTCCTTCAGCUCCU、AGTGTTCCTACTATCCUCCUU、ATCCTCCTTCAGCTCCUGCA、CACGTTGCAGTGTTCACUA、CACTATCCTCCTTCAGCUCC、CAGTGTTCCTACTATCCUCCU、CCACGTTGCAGTGTTCACU、CCACTATCCTCCTTCAGCUC、CGTTGCAGTGTTCACUAUC、CTATCCTCCTTCAGCUCCUG、GCAGTGTTCCTACTATCCUCC、GTGTTCCTACTATCCTCCUUC、GTTCCACTATCCTCCUUCAG、GUGUCCACTATCCTCCTTC、TATCCTCCTTCAGCTCCUGC、TCCACTATCCTCCTTCAGCU、TGCAGTGTTCCTACTAUCCUC、TGTTCCACTATCCTCCUUCA、TTCCACTATCCTCCTUCAGC、或TTGCAGTGTTCCTACTAUCCU,其中每个T可以独立地被U取代,并且反之亦然。

85.一种包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同的碱基序列,和

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

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例1-67中任一项所述的寡核苷酸。

86.一种包含特定寡核苷酸类型的寡核苷酸的组合物,该寡核苷酸的特征在于:

a) 共同的碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同的骨架手性中心模式;

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含至少一个核苷酸间键联,该核苷酸间键联包含Sp构型的共同键联磷;

其中相对于具有相同共同的碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋制剂,该组合物

富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸;以及

其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例1-67中任一项所述的寡核苷酸。

87.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地在5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25或更多个核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

88.如实施例75-76中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是具有相同构造的寡核苷酸,任选地呈一种或多种盐形式。

89.如实施例75-88中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

90.如实施例75-89中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地具有相同的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

91.如实施例75-90中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸是相同酸形式寡核苷酸的一种或多种药学上可接受的盐。

92.如实施例75-91中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸具有相同结构。

93.如实施例75-92中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸是钠盐。

94.如实施例75-93中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中寡核苷酸独立地在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

95.如实施例75-93中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地在每个手性键联磷处共享相同的键联磷立体化学。

96.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例48所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

97.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例49所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

98.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例50所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

99.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例51所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

100.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例52所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

101.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例53所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

102.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例54所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

103.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例55所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

104.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例56所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

105.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸

各自独立地是如实施例57所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

106.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例58所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

107.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例59所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

108.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例60所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

109.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例61所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

110.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例62所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

111.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例63所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

112.如实施例75-86中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是如实施例64所述的寡核苷酸,任选地呈药学上可接受的盐形式。

113.如实施例75-112中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同的碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

114.如实施例75-113中任一项所述的组合物,其中该组合物中的共享相同构造的非随机水平的所有寡核苷酸是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

115.如实施例113-114中任一项所述的组合物,其中该非随机水平是约40%-100%,或约40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

116.一种药物组合物,该药物组合物包含或递送本披露的寡核苷酸或如实施例75-115中任一项所述的组合物、和药学上可接受的载体。

117.一种用于制备如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使用手性助剂。

118.如实施例117所述的方法,该方法包括使用包含手性助剂部分的亚磷酰胺。

119.如实施例117-118中任一项所述的方法,其中手性助剂是DPSE。

120.如实施例117-119中任一项所述的方法,其中手性助剂是PSM。

121.如实施例117-120中任一项所述的方法,其中键联磷与氮键合的每个手性受控的核苷酸间键联是使用PSM独立地制备的。

122.如实施例117-121中任一项所述的方法,其中每个手性受控的n001是使用PSM独立地制备的。

123.如实施例117-122中任一项所述的方法,其中每个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联是使用DPSE独立地制备的。

124.如实施例117-118中任一项所述的方法,其中每个手性受控的核苷酸间键联是使用PSM独立地制备的。

125.一种用于降低tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法,该方法包括使该蛋白与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

126.一种用于降低tau细胞内聚集的方法,该方法包括使该蛋白与如前述实施例

中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

127. 一种用于降低tau扩散的方法, 该方法包括使该蛋白与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

128. 一种用于降低tau细胞内聚集和扩散的方法, 该方法包括使该蛋白与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

129. 一种用于降低系统中tau蛋白的水平、功能和/或活性的方法, 该方法包括向该系统施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

130. 一种用于降低系统中tau细胞内聚集的方法, 该方法包括向该系统施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

131. 一种用于降低系统中tau扩散的方法, 该方法包括向该系统施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

132. 一种用于降低系统中tau细胞内聚集和扩散的方法, 该方法包括向该系统施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

133. 如实施例129-132中任一项所述的方法, 其中系统是人类。

134. 一种用于在患有或易患MAPT相关的病症、障碍或疾病或其症状的受试者中治疗或预防MAPT相关的病症、障碍或疾病或其症状的方法, 该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

135. 一种用于在患有或易患神经退行性疾病的受试者中治疗或预防神经退行性疾病的方法, 该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

136. 一种用于在患有或易患tau蛋白病的受试者中治疗或预防tau蛋白病的方法, 该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

137. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是阿尔茨海默病(AD)。

138. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍和/或疾病是额颞叶痴呆(FTD)。

139. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是行为变异型FTD(bvFTD)。

140. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是非流利变异型原发性进行性失语(nfvPPA)。

141. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是皮质基底节变性(CBD)。

142. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是进行性核上性麻痹(PSP)。

143. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是癫痫。

144. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是Dravet综合征。

145. 如实施例134-136中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是慢性创伤

性脑病变 (CTE)。

实例

[0475] 下文描述了所提供的技术 (化合物 (寡核苷酸、试剂等)、组合物、方法 (制备方法、使用方法、评估方法等) 等) 的某些实例。

实例1.寡核苷酸合成

[0476] 用于制备寡核苷酸和寡核苷酸组合物 (立体随机和手性受控的) 的各种技术是已知的且可根据本披露使用, 这些技术包括例如US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9598458、US 9982257、US 10160969、US 10479995、US 2020/0056173、US 2018/0216107、US 2019/0127733、US 10450568、US 2019/0077817、US 2019/0249173、US 2019/0375774、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、和/或 WO 2020/191252中的那些, 将这些文献每一者中的方法和试剂通过引用并入本文。

[0477] 在一些实施例中, 使用合适的手性助剂例如DPSE和PSM手性助剂制备寡核苷酸。根据本披露制备多种寡核苷酸 (例如表1中的那些寡核苷酸) 及其组合物。

[0478] 例如, 在一些实施例中, 使用用于手性受控的核苷酸间键联的DPSE和PSM手性助剂制备寡核苷酸。在一些实施例中, 使用DPSE手性助剂以构建手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中, 使用PSM手性助剂以构建手性受控的非带负电荷的核苷酸间键联, 例如n001。在一些实施例中, PSM手性助剂用于制备寡核苷酸中的多种或所有类型的手性受控的核苷酸间键联 (例如, 手性受控的硫代磷酸酯和n001核苷酸间键联)。下文实例描述了DPSE和PSM手性助剂的某些用途, 包括某些可用于手性受控的寡核苷酸制剂的包含DPSE或PSM手性助剂的亚磷酰胺。在一些实施例中, 利用标准亚磷酰胺制备天然磷酸酯键联 (PO)。除其他事项外, 本披露的技术对于各种类型的手性核苷酸间键联的手性受控构建是高度有效的。如WV-29878制剂所举例说明并证实的那样, 所提供的技术可以提供高立体选择性、高粗品纯度和高产率。

[0479] 如本领域技术人员所理解的, 寡核苷酸制剂通常包含多个循环。在一些实施例中, 本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物的方法, 这些方法包括多个其中所述的循环。在一些实施例中, 每个循环, 例如用于制备手性受控的核苷酸间键联的循环, 独立地包括解嵌段 (例如, 其对加帽的羟基进行解嵌段, 例如本文所述的去三苯甲基化)、偶联 (例如, 将包含手性助剂的亚磷酰胺与羟基偶联, 如本文所述的偶联-1)、第一加帽 (例如, 利用可将手性助剂中的氨基加帽的条件, 如本文所述的帽-1)、修饰 (例如, 硫醇化, 叠氮化物反应等, 如本文所述) 和第二加帽基团 (例如, 利用可加帽羟基的条件, 如本文所述的帽-2)。某些有用的技术 (例如循环、步骤、条件、试剂等) 在下面作为实例进行描述。

[0480] 在一些实施例中, 利用用于手性受控的硫代磷酸酯 (PS) 键联的DPSE手性助剂和用于手性受控的PN键联 (其中氮键合至键联磷, 例如n001) 的PSM手性助剂制备手性受控的寡核苷酸组合物。下面描述WV-29878的实例制备。在该实例中, 使用2.7x7.0cm不锈钢柱以746 μmol 的规模在mC-CPG固体支持物上进行WV-29878的制备。

[0481] 缩写:

mC-CPG	2'-OMe-C 经由 CNA 连接子 CPG (600Å LBD)
dA-L-DPSE	5'-O-DMT-dA (Bz)-(L)-DPSE 亚磷酰胺
dC-L-DPSE	5'-O-DMT-dC (Ac)-(L)-DPSE 亚磷酰胺
dC-D-DPSE	5'-O-DMT-dC (Ac)-(D)-DPSE 亚磷酰胺
dT-L-DPSE	5'-O-DMT-dT-(L)-DPSE 亚磷酰胺
mC-L-DPSE	5'-O-DMT-2'-OMe-C (Ac)-(L)-DPSE 亚磷酰胺
mU-L-DPSE	5'-O-DMT-2'-OMe-U-(L)-DPSE 亚磷酰胺
Geo-L-DPSE	5'-O-DMT-2'-O-MOE-G (iBu)-(L)-DPSE 亚磷酰胺
Teo-L-DPSE	5'-O-DMT-2'-O-MOE-5-Me-U-(L)-DPSE 亚磷酰胺
mC-L-PSM	5'-O-DMT-2'-OMe-C (Ac)-(L)-PSM 亚磷酰胺
Teo-L-PSM	5'-O-DMT-2'-O-MOE-5-Me-U-(L)-PSM 亚磷酰胺
Geo-CE	5'-O-DMT-2'-O-MOE-G (iBu)-β-氟乙基亚磷酰胺
ADIH	2-叠氮基-1,3-二甲基咪唑啉六氟磷酸盐
帽 A	N-甲基咪唑于乙腈中, 20/80, v/v
帽 B	乙酸酐/2,6-二甲基吡啶/乙腈, 20/30/50, v/v/v
CE	β-氟乙基
浓度 NH₄OH	28%-30%浓缩氢氧化铵
CT	接触时间
CV	柱体积
CMIMT	1-(氟甲基)-1<i>H</i>-咪唑并[1-<i>b</i>]-3-噻吩-1-基 三氟甲磺酸酯

DCA	二氯乙酸
DEA	二乙胺
解嵌段	3% DCA, 在甲苯中
DMSO	二甲亚砜
ETT	5-乙基硫代-1 <i>H</i> -四唑
过滤单元	过滤器装置, 0.22 微米过滤器, 康宁公司 (CORNING)
IBN	异丁腈
MeCN	乙腈
MS3A	分子筛, 3Å
NLT	不少于
NMI	<i>N</i> -甲基咪唑
Ox	在吡啶/水中 0.04-0.06M 碘, 90/10, v/v
TEA	三乙胺
TEA.3HF	三乙胺三氢氟化物
XH	苍耳烷氢化物
WFI	注射用水 (水)

[0482] 实例合成工艺参数

工艺步骤	参数	设定点
合成循环	DPSE 手性亚酰胺	1.脱三苯甲基 2.偶联-1 3.帽-1

		4.修饰 - 硫醇化 5.帽-2
	PSM 手性亚酰胺	1.脱三苯甲基 2.偶联-1 3.帽-1 4.修饰 - 叠氮化物反应 5.帽-2
	标准亚酰胺	1.脱三苯甲基 2.偶联-2 3.修饰 - 氧化 4.帽-2
柱, 规模, 合成器	柱	不锈钢
	柱直径	2.7 cm
	柱床高	7.0 cm
	柱体积	40.1 mL
	规模	746 μmol
	合成器	AKTA OligoPilot 100
CPG	固体载体	mC-CPG
	载体负载	77 $\mu\text{mol/g}$
	调整的载体密度	0.24 g/c.c.
合成前洗涤	合成前洗涤溶剂	MeCN

	合成前洗涤流速	424 cm/h
	合成前洗涤体积	2.0 CV
解嵌段 (脱三苯甲基)	试剂	解嵌段
	控制模式	UV 表命令
	脱三苯甲基波长	436 nm
	脱三苯甲基 UV 表	开: 500 mAu (1.2 CV 延迟) 关: 1000 mAu
	UV 自动调零	在第一脱三苯甲基之前以支路中解嵌段自动调零
	脱三苯甲基流速	424 cm/h
	脱三苯甲基后 MeCN 洗涤	4.0 CV 424 cm/h
偶联-1	亚酰胺当量/支持物	2.5 当量
	亚酰胺的浓度和稀释液	在 100% MeCN 中的 0.2 M 的 dA-L-DPSE、dT-L-DPSE、Geo-L-DPSE、Teo-L-DPSE、Teo-L-PSM, 和在 IBN-MeCN (20:80) 中的 0.2M mC-L-DPSE、mC-L-PSM, 和在 100% IBN 中的 dC-L-DPSE、dC-D-DPSE、mU-L-DPSE
	亚酰胺溶液的密度	未经调节的
	亚酰胺溶液的干燥	MS3A, 15%-20% w.r.t.亚酰胺溶液, v/v

		干燥时间 = NLT 4h
	活化剂	CMIMT
	活化剂浓度	在 MeCN 中 0.5 M
	活化剂当量/支持物	10.20
	活化剂溶液的密度	未经调节的
	活化剂溶液的干燥	MS3A, 10%, w.r.t.活化剂溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
	活化剂/亚酰胺摩尔比	4.079 : 1
	活化剂体积%	62%
	所有亚酰胺的偶联装料流速	58.7 cm/h
	活化剂的偶联装料流速	95.7 cm/h
	偶联装料体积 (亚酰胺 + 活化剂)	24.5 mL
	推送体积	4.5 mL
	再循环流速	212 cm/h
	再循环时间	8 min
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	2.0 CV
偶联-2	亚酰胺当量/支持物	2.5 当量
	亚酰胺的浓度和稀释液	0.2 M 的 Geo-CE (以 100%)

亚酰胺溶液的密度	未经调节的
亚酰胺溶液的干燥	MS3A, 15%-20% w.r.t.亚酰胺溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
活化剂	ETT
活化剂浓度	在 MeCN 中 0.5 M
活化剂当量/支持物	7.64
活化剂溶液的密度	未经调节的
活化剂溶液的干燥	MS3A, 10%, w.r.t.活化剂溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
活化剂/亚酰胺摩尔比	3.056:1
活化剂体积%	55%
所有亚酰胺的偶联装料流速	58.7 cm/h
活化剂的偶联装料流速	71.7 cm/h
偶联装料体积 (亚酰胺 + 活化剂)	20.7 mL
推送体积	4.5 mL
再循环流速	212 cm/h
再循环时间	8 min
偶联 MeCN 洗涤流速	424 cm/h
偶联 MeCN 洗涤体积	2.0 CV

帽 1	模式	流通式
	试剂	帽 B
	柱体积 (CV)	2.0 CV
	接触时间 (CT)	4 min
	试剂装料流速	20.0 mL/min
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	MeCN 推送流速	20.0 mL/min
修饰 (硫醇化)	模式	流通式
	试剂	0.1M XH, 在吡啶中
	硫醇化试剂的密度	未经调节的
	装料体积	1.2 CV
	装料流速	84.0 cm/h
	接触时间	6 min
	MeCN 推送流速	84.0 cm/h
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	硫代后 MeCN 洗涤流速 (Flow_AB)	424 cm/h
	硫代后 MeCN 洗涤体积	1.0 CV
修饰 (叠氮化物 反应)	模式	流通式
	试剂	0.3M ADIH, 在 MeCN 中
	叠氮化物试剂的密度	未经调节的

	装料体积	1.0 CV
	接触时间	15 min
	装料流速	28.0 cm/h
	MeCN 推送流速	28.0 cm/h
	MeCN 推送体积	1.5 CV
修饰 (氧化)	模式	流通式
	试剂	Ox
	碘当量/固体支持物	3.0 当量
	接触时间	2.0 min
	试剂装料流速	234.6 cm/h
	MeCN 推送流速	234.6 cm/h
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	1.0 CV
帽 2	试剂	帽 A
		帽 B
	模式	流通式
	装料体积	0.4 CV
	接触时间	0.8 min
	装料流速	帽 A 泵 A = 105.0 cm/h 帽 B 泵 B = 105.0 cm/h

	<i>MeCN 推送体积_AB</i>	1.3 CV
	<i>MeCN 推送流速_AB</i>	MeCN 泵 A = 105.0 cm/h MeCN 泵 B = 105.0 cm/h
	<i>加帽洗涤体积_AB</i>	1.0 CV
	<i>加帽洗涤流速_AB</i>	424 cm/h
合成后 MeCN 洗涤	<i>MeCN 洗涤流速</i>	424 cm/h
	<i>MeCN 洗涤流量</i>	2.0 CV
除去 PSM 和 CE 基团	<i>试剂</i>	20% DEA, 在 MeCN 中
	<i>递送模式</i>	流通式
	<i>装料体积</i>	5.0 CV
	<i>接触时间</i>	15 min
	<i>装料流速</i>	140 cm/h
	<i>装料 MeCN 推送流速</i>	140 cm/h
	<i>装料 MeCN 推送体积</i>	1.3 CV
	<i>MeCN 洗涤流速</i>	424 cm/h
	<i>MeCN 洗涤体积</i>	3.0 CV

[0483] 在一些实施例中,手性助剂例如PSM(其氨基基团可以例如被-C(O)R封端)、和/或CE基团通过使包含这样的部分的寡核苷酸与碱基在有机溶剂(例如,在MeCN中20%的DEA)中接触而被除去。在一些实施例中,在这种核苷酸间键联与水接触之前,除去在手性助剂,例如核苷酸间键联中的PSM(其氨基可以例如被-C(O)R封端),其键联磷与氮键合(例如,n001的前体)。

[0484] 在制剂中,以746 μ mol的规模进行切割和脱保护(C&D)。某些有用的切割和脱保护过程参数如下所示(PSM和CE磷保护基团的切割如上所述):

[0485] 制备DS1溶液(1L)的实例配方

溶剂/试剂	体积 (mL)
DMSO	733 $\pm$ 36.7
WFI	147 $\pm$ 7.4
TEA	70 $\pm$ 3.5

TEA, 3HF	50±2.5
----------	--------

[0486] 实例切割和脱保护参数

工艺步骤	参数	设定点
除去 DPSE 基团	反应容器	适用于 TEA-HF/氢氧化铵溶液
	规模	746 μmol
	试剂	DS1
	体积	100 ± 5 mL/mmol
	反应温度	28 ± 2.5°C
	培养摇床 rpm	180 ± 10 rpm
	反应时间	3 ± 0.5 h
除去残余保护基团	反应容器	适用于 TEA-HF/氢氧化铵溶液
	试剂	浓度 NH_4OH
	试剂体积	200 ± 5 mL/mmol
	反应时间	16 ± 1 h
	反应温度	45 ± 2°C

工艺步骤	参数	设定点
	过滤前冷却至室温	< 25 °C
过滤	初始粗滤装置	过滤单元
	过滤模式	在真空下
	载体洗涤溶剂	WFI
	载体洗涤体积	250 - 350 mL/mmol

[0487] 在制剂中,粗盐寡核苷酸组合物的UPLC分析显示,脱盐前粗样品中全长产物的纯度(%FLP)为69.1%。粗产率估计为740D单位/ μmol 。=FLP净产率为510D/ μmol (1.90mg/ μmol)。在一些实施例中,粗品储存条件为2°C-8°C;也可以利用其他合适的储存条件。通过LC-MS证实了WV-29878的分子量(计算值6988.8;观察值6987.0)。

[0488] 在一些实施例中,利用用于手性受控的PS和PN(例如,n001)核苷酸间键联的PSM手性助剂制备手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,这样的技术可以提供高选择性、

高粗品纯度、高产率和/或简化的/替代的制造过程(例如,不使用F来源来去除例如PSM的手性助剂)等。在一些实施例中,本披露通过递送具有高纯度、高立体选择性和/或少量盐的粗组合物而促进纯化和/或配制过程。

[0489] 下面描述了利用PSM手性助剂制备WV-29878的实例。在该实例中,使用2.7x 7.0cm 不锈钢柱以743 μ mol的规模在mC-CPG固体支持物上进行WV-29878的制备。

[0490] 缩写:

mC-CPG	2'-OMe-C 经由 CNA 连接子 CPG (600Å LBD)
dA-<i>L</i>-PSM	5'-<i>O</i>-DMT-dA (Bz)-(<i>L</i>)-PSM 亚磷酰胺
dC-<i>L</i>-PSM	5'-<i>O</i>-DMT-dC (Ac)-(<i>L</i>)-PSM 亚磷酰胺
dC-<i>D</i>-PSM	5'-<i>O</i>-DMT-dC (Ac)-(<i>D</i>)-PSM 亚磷酰胺

dT-L-PSM	5'-O-DMT-dT-(L)-PSM 亚磷酰胺
mC-L-PSM	5'-O-DMT-2'-OMe-C (Ac)-(L)-PSM 亚磷酰胺
mU-L-PSM	5'-O-DMT-2'-OMe-U-(L)-PSM 亚磷酰胺
Geo-L-PSM	5'-O-DMT-2'-O-MOE-G (iBu)-(L)-PSM 亚磷酰胺
Teo-L-PSM	5'-O-DMT-2'-O-MOE-5-Me-U-(L)-PSM 亚磷酰胺
Geo-CE	5'-O-DMT-2'-O-MOE-G (iBu)-β-氟乙基亚磷酰胺
ADIH	2-叠氮基-1,3-二甲基咪唑啉六氟磷酸盐
帽 A	N-甲基咪唑于乙腈中，20/80，v/v
帽 B	乙酸酐/2,6-二甲基吡啶/乙腈，20/30/50，v/v/v
浓度 NH₄OH	28%-30%浓缩氢氧化铵
CT	接触时间
CV	柱体积
CMIMT	1-(氟甲基)-1<i>H</i>-咪唑并[1-<i>b</i>]-3-鎗-1-基 三氟甲磺酸酯
DCA	二氯乙酸
DEA	二乙胺
解嵌段	3% DCA，在甲苯中
过滤单元	过滤器装置，0.22 微米过滤器，康宁公司 (CORNING)
IBN	异丁腈
MeCN	乙腈
MS3A	分子筛，3Å
NLT	不少于

NMI	<i>N</i> -甲基咪唑
Ox	在吡啶/水中 0.04-0.06M 碘, 90/10, v/v
TEA	三乙胺
XH	苍耳烷氢化物
WFI	注射用水 (水)

[0491] 某些循环、步骤、反应、试剂、条件等在下面作为实例进行描述。

[0492] 实例合成工艺参数

工艺步骤	参数	设定点
合成循环	从第 1 至第 6 偶联	1.脱三苯甲基 2.偶联-1 3.帽-1 4.偶联-1 5.帽-1 6.修饰 - 硫醇化或叠氮化物反应 7.帽-2
	从第 7 至第 19, 除第 17 偶联	1.脱三苯甲基 2.偶联-2 3.帽-1 4.修饰 - 硫醇化或叠氮化物反应 5.帽-2
	第 17 偶联	1.脱三苯甲基

		2.偶联-2 3.修饰 - 氧化 4.帽-2
柱, 规模, 合成器	柱	不锈钢
	柱直径	2.7 cm
	柱床高	7.0 cm
	柱体积	40.1 mL
	规模	743 μmol
	合成器	AKTA OligoPilot 100
CPG	固体载体	mC-CPG
	载体负载	77 $\mu\text{mol/g}$
	调整的载体密度	0.24 g/c.c.
合成前洗 涤	合成前洗涤溶剂	MeCN
	合成前洗涤流速	424 cm/h
	合成前洗涤体积	2.0 CV
解嵌段 (脱三苯 甲基)	试剂	解嵌段
	控制模式	UV 表命令
	脱三苯甲基波长	436 nm
	脱三苯甲基 UV 表	开: 500 mA (1.2 CV 延迟) 关: 1000 mA
	UV 自动调零	在第一脱三苯甲基之前以支路中解

		嵌段自动调零
	脱三苯甲基流速	424 cm/h
	脱三苯甲基后 MeCN 洗涤	4.0 CV 424 cm/h
偶联-1	亚酰胺当量/支持物	2.5 当量
	亚酰胺的浓度和稀释液	在 100% MeCN 中的 0.2 M 的 dT-L-PSM, 和在 IBN-MeCN (20 : 80) 中的 0.2M dC-L-PSM、dC-D-PSM、mC-L-PSM、mU-L-PSM
	亚酰胺溶液的密度	未经调节的
	亚酰胺溶液的干燥	MS3A, 15%-20% w.r.t.亚酰胺溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
	活化剂	CMIMT
	活化剂浓度	在 MeCN 中 0.5 M
	活化剂当量/支持物	10.20
	活化剂溶液的密度	未经调节的
	活化剂溶液的干燥	MS3A, 10%, w.r.t.活化剂溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
	活化剂/亚酰胺摩尔比	4.079 : 1
	活化剂体积%	62%

	所有亚酰胺的偶联装料流速	58.4 cm/h
	活化剂的偶联装料流速	95.3 cm/h
	偶联装料体积 (亚酰胺 + 活化剂)	24.5 mL
	推送体积	4.5 mL
	再循环流速	212 cm/h
	再循环时间	16 min
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	2.0 CV
偶联-2	亚酰胺当量/支持物	2.5 当量
	亚酰胺的浓度和稀释液	在 100% MeCN 中的 0.2 M 的 dA-L-PSM、dT-L-PSM、Geo-L-PSM、Teo-L-PSM、Geo-CE, 和在 IBN-MeCN(20 : 80)中的 0.2M dC-L-PSM、dC-D-PSM
	亚酰胺溶液的密度	未经调节的
	亚酰胺溶液的干燥	MS3A, 15%-20% w.r.t.亚酰胺溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
	活化剂	CMIMT
	活化剂浓度	在 MeCN 中 0.5 M
	活化剂当量/支持物	10.20
	活化剂溶液的密度	未经调节的

	活化剂溶液的干燥	MS3A, 10%, w.r.t.活化剂溶液, v/v 干燥时间 = NLT 4h
	活化剂/亚酰胺摩尔比	4.079 : 1
	活化剂体积%	62%
	所有亚酰胺的偶联装料 流速	58.4 cm/h
	活化剂的偶联装料流速	95.3 cm/h
	偶联装料体积 (亚酰胺 + 活化剂)	24.5 mL
	推送体积	4.5 mL
	再循环流速	212 cm/h
	再循环时间	8 min
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	2.0 CV
帽 1	模式	流通式
	试剂	帽 B
	柱体积 (CV)	0.1 CV
	接触时间 (CT)	0.5 min
	试剂装料流速	4 mL/min
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	MeCN 推送流速	4 mL/min

修饰 (硫醇化)	模式	流通式
	试剂	0.1M XH, 在吡啶中
	硫醇化试剂的密度	未经调节的
	装料体积	0.6 CV
	装料流速	84.0 cm/h
	接触时间	3 min
	MeCN 推送流速	84.0 cm/h
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	硫代后 MeCN 洗涤流速 (Flow_AB)	424 cm/h
	硫代后 MeCN 洗涤体积	1.0 CV
修饰 (叠氮化物反应)	模式	流通式
	试剂	0.3M ADIH, 在 MeCN 中
	叠氮化物试剂的密度	未经调节的
	装料体积	1.0 CV
	接触时间	15 min
	装料流速	28.0 cm/h
	MeCN 推送流速	28.0 cm/h
	MeCN 推送体积	1.5 CV
修饰 (氧化)	模式	流通式
	试剂	Ox

	碘当量/固体支持物	3.0 当量
	接触时间	2.0 min
	试剂装料流速	233.6 cm/h
	MeCN 推送流速	233.6 cm/h
	MeCN 推送体积	1.3 CV
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	1.0 CV
帽 2	试剂	帽 A
		帽 B
	模式	流通式
	装料体积	0.4 CV
	接触时间	0.8 min
	装料流速	帽 A 泵 A = 105.0 cm/h
		帽 B 泵 B = 105.0 cm/h
	MeCN 推送体积_AB	1.3 CV
	MeCN 推送流速_AB	MeCN 泵 A = 105.0 cm/h
		MeCN 泵 B = 105.0 cm/h
	加帽洗涤体积_AB	1.0 CV
	加帽洗涤流速_AB	424 cm/h
合成后 MeCN 洗 涤	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤流量	2.0 CV

除去磷保护基团	试剂	20% DEA, 在 MeCN 中
	递送模式	流通式
	装料体积	5.0 CV
	接触时间	15 min
	装料流速	140 cm/h
	装料 MeCN 推送流速	140 cm/h
	装料 MeCN 推送体积	1.3 CV
	MeCN 洗涤流速	424 cm/h
	MeCN 洗涤体积	3.0 CV

[0493] 以743 μ mol的规模进行切割和脱保护(C&D)。某些有用的切割和脱保护过程参数如下所示(上文描述了磷保护基团的切割,例如手性助剂,如PSM(例如,被-C(O)R(例如乙酰基)在氨基基团封端)、CE等):

工艺步骤	参数	设定点
切割和脱保护	反应容器	额定压力反应器
	规模	743 μ mol
	试剂	冷的浓 NH_4OH
	试剂体积	200 ± 10 mL/mmol
	反应时间	16.0 ± 1.0 h
	培养摇床 rpm	180 ± 10 rpm
	反应温度	$45.0^\circ\text{C} \pm 2.0^\circ\text{C}$
	过滤前冷却至室温	$< 25^\circ\text{C}$

工艺步骤	参数	设定点
	初始粗滤装置	过滤单元
	过滤模式	在真空中
	载体洗涤溶剂	WFI
	载体洗涤体积	250 - 350 mL/mmol

[0494] 粗寡核苷酸的UPLC分析表明,脱盐前粗样品中全长产物的纯度(%FLP)为63.9%。粗产率估计为850D单位/ μmol 。FLP净产率为540D/ μmol (2.01mg/ μmol)。粗品储存条件为2°C-8°C;也可以利用其他合适的储存条件。通过LC-MS证实了WV-29878的分子量(计算值6988.8;观察值6987.1)。

实例2.所提供的寡核苷酸和组合物可以有效地敲低MAPT

[0495] 设计、构建、表征和评估了各种MAPT寡核苷酸和组合物。如本领域技术人员所理解的,可以利用各种技术来评估所提供的寡核苷酸及其组合物的特性和/或活性。本实例中介绍了一些此类技术。本领域技术人员理解,根据本披露可以容易地利用许多其他技术。如本文所证明,MAPT寡核苷酸和组合物尤其在例如降低其靶核酸和由此编码的蛋白水平方面具有高活性。

[0496] 在一些实施例中,在iCell Neuron模型中评估了各种MAPT寡核苷酸。在一组评估中,为了确定MAPT寡核苷酸的活性,使用安捷伦Bravo液体处理平台将不同浓度的寡核苷酸递送至铺板在**Matrigel**[®] (康宁,康宁公司,纽约州,美国)包被的384孔板上的iCell神经元群(富士细胞动力公司(FUJIFILM Cellular Dynamics))。接种后24小时,用含有固定浓度寡核苷酸的新鲜培养基替换培养基,并在裸式(自由摄取)条件下将细胞与寡核苷酸一起孵育5天。处理后第5天,切割细胞,并使用QuantiGene[™] Singleplex分支DNA测定(赛默飞世尔公司)定量mRNA。在一些实验中,使用了不靶向MAPT的对照寡核苷酸(例如,WV-12891,如表1B所示)。

[0497] 定量人MAPT mRNA,并使用人微管蛋白将水平标准化。将mRNA敲低水平计算为相对于非靶向对照(例如,表1B中所示的WV-12891)的mRNA剩余百分比(在1 μM 寡核苷酸处理中),并且IC₅₀值可以通过寡核苷酸浓度相对于mRNA剩余百分比的四个参数曲线拟合确定。

[0498] 表2A显示了相对于非靶向对照(例如,WV-12891)处理的剩余mRNA百分比;表2B显示了IC₅₀值(例如,通过寡核苷酸浓度相对于剩余mRNA百分比的四参数曲线拟合确定)。

[0499] 表2A.某些寡核苷酸/组合物的活性。

该表显示了相对于非靶向对照(例如,WV-12891)的剩余mRNA百分比(在1 μM 寡核苷酸处理时)。SD:标准差n:动物数量。

ID	剩余 MAPT 百分比 (1 uM)	SD	n	ID	剩余 MAPT 百分比 (1 uM)	SD	n	ID	剩余 MAPT 百分比 (1 uM)	SD	n
WV-3 0673	18.3	2.9	4	WV-3 1033	29.84	5.26	4	WV-3 3054	23	4	4
WV-3 0970	90.85	6.96	4	WV-3 1034	41.98	0.81	3	WV-3 3056	17.83	2.17	4
WV-3 0971	83.35	2.36	4	WV-3 1035	26.89	2.52	4	WV-3 3057	9.42	1.81	4
WV-3 0972	71.83	4.87	4	WV-3 1036	28.97	1.38	4	WV-3 3058	11.6	1.5	4
WV-3 0973	77.41	5.33	4	WV-3 1037	56.75	6.18	4	WV-3 3059	5.33	1.12	4
WV-3 0974	109.55	2.46	4	WV-3 1038	93.86	3.15	4	WV-3 3060	6.54	1.19	4
WV-3	92.25	15.3	4	WV-3	51.19	0.93	3	WV-3	4.15	0.4	4

0975		4		1039				3061			
WV-3 0976	93.11	14.2	4	WV-3 1040	64.52	12.9 7	4	WV-3 3062	4.89	0.04	3
WV-3 0977	89.31	4.88	4	WV-3 1041	87.04	7.68	4	WV-3 3063	18.53	0.31	3
WV-3 0978	95.91	1.7	3	WV-3 1042	59.22	1.77	4	WV-3 3064	12.24	1.3	4
WV-3 0979	107.72	18.6 6	4	WV-3 1043	57.13	2.31	4	WV-3 3065	6.38	0.53	4
WV-3 0980	86.12	11.3 6	4	WV-3 1044	40.3	1.81	4	WV-3 3066	7.34	0.66	4
WV-3 0981	113.03	6.19	4	WV-3 1045	91.84	2.17	4	WV-3 3067	61.03	5.05	4
WV-3 0982	82.32	9.17	4	WV-3 1046	66.42	0.71	3	WV-3 3068	10.4	2.46	4
WV-3 0983	95.54	8.46	4	WV-3 1048	50.57	13.6 1	4	WV-3 3069	26.69	2.91	4
WV-3 0984	90.35	7.23	4	WV-3 1049	49.42	5.05	4	WV-3 3070	8.48	1.08	4
WV-3 0985	91.71	19.8	4	WV-3 1050	52.95	2.73	4	WV-3 3071	4.86	0.37	4
WV-3 0986	109.4	11.1 1	4	WV-3 1051	52.96	2.29	4	WV-3 3072	7.72	1.2	4
WV-3 0987	118.49	9.3	4	WV-3 1052	55.26	0.43	3	WV-3 3073	3.52	0.33	4

WV-3 0988	105.79	11.4 6	4	WV-3 3008	64.6	3.48	3	WV-3 3074	5.98	0.73	4
WV-3 0989	100.67	5.44	4	WV-3 3009	71.61	1.49	3	WV-3 3075	37.71	5.09	4
WV-3 0990	81.49	3.99	4	WV-3 3011	45.54	6.09	4	WV-3 3076	83.19	9.84	4
WV-3 0991	82.77	0.24	3	WV-3 3012	83.5	11.6 2	4	WV-3 3077	12.14	0.66	4
WV-3 0992	81.88	5.17	3	WV-3 3013	59.65	7.58	4	WV-3 3078	42.53	5.68	4
WV-3 0993	85.28	5.52	4	WV-3 3014	68.75	9.32	4	WV-3 3079	68.09	8.54	4
WV-3 0994	75.57	3.01	3	WV-3 3015	59.45	16.5 4	4	WV-3 3080	34.18	2.68	4
WV-3 0995	73.55	6.85	4	WV-3 3016	60.75	3.52	4	WV-3 3081	26.45	4.3	4
WV-3 0996	60.96	3.68	4	WV-3 3017	87.45	7.8	4	WV-3 3082	17.63	2.2	4
WV-3 0997	52.84	3.68	4	WV-3 3018	53.61	10.5 6	4	WV-3 3083	89.29	2.7	4
WV-3 0998	66.44	0.4	3	WV-3 3019	92.34	14.8 6	4	WV-3 3084	41.48	1.32	3
WV-3 0999	92.51	5.58	3	WV-3 3020	54.32	20.3 5	4	WV-3 3085	34.5	4.27	4
WV-3 1000	54.77	2.07	3	WV-3 3021	102.03	12.5 1	4	WV-3 3086	30.8	4.38	4

WV-3 1001	79.84	3.9	4	WV-3 3022	64.06	6.26	4	WV-3 3087	14.73	1.12	4
WV-3 1002	61.37	1.41	3	WV-3 3023	102.51	3.29	3	WV-3 3088	18.25	2.37	4
WV-3 1003	79.16	2.56	3	WV-3 3024	90.38	9.69	4	WV-3 3089	12.27	1.16	4
WV-3 1004	41.93	1.06	3	WV-3 3025	94.92	3.54	4	WV-3 3090	20.49	3.7	4
WV-3 1005	58.25	6.04	4	WV-3 3026	91.73	5.2	4	WV-3 7497	39.77	1.80	4
WV-3 1006	48.35	3.23	4	WV-3 3027	68.1	4.41	4	WV-3 7498	7.11	2.33	4
WV-3 1007	57.71	4.88	4	WV-3 3028	63.71	6.08	4	WV-3 7499	12.91	1.96	4
WV-3 1008	33.63	2.05	4	WV-3 3029	66.47	4.25	4	WV-3 7500	9.71	1.70	4
WV-3 1009	35.21	7.98	4	WV-3 3030	64.15	8.94	4	WV-3 7501	8.82	3.11	4
WV-3 1010	27.09	5.21	4	WV-3 3031	49.57	2.86	3	WV-3 7502	11.53	2.74	4
WV-3 1011	60.96	9.46	4	WV-3 3032	54.28	0.81	3	WV-3 7503	9.28	2.78	4
WV-3 1012	28.89	2.38	4	WV-3 3033	30	0.42	3	WV-3 7504	75.28	10.1 5	4
WV-3 1013	89.17	0.91	3	WV-3 3034	30.22	1.59	4	WV-3 7505	23.69	0.69	3

WV-3 1014	36.41	3.02	3	WV-3 3035	44.55	7.68	4	WV-3 7506	33.27	5.21	4
WV-3 1015	47.85	10.5 1	4	WV-3 3036	72.35	6.24	4	WV-3 7507	12.05	1.61	4
WV-3 1016	33.88	7.87	4	WV-3 3037	17.34	4.72	4	WV-3 7508	14.43	1.24	4
WV-3 1017	30.16	0.33	3	WV-3 3038	40.09	2.95	4	WV-3 7509	18.90	2.36	4
WV-3 1018	37.25	3.18	4	WV-3 3039	23.34	0.17	3	WV-3 7510	24.24	1.30	3
WV-3 1019	27.78	1.32	4	WV-3 3040	33.44	7.46	4	WV-3 7511	44.05	1.05	3
WV-3 1020	32.37	1.7	4	WV-3 3041	9.97	2.03	4	WV-3 7512	6.64	1.83	4
WV-3 1021	36.42	4.74	4	WV-3 3042	16.54	0.22	3	WV-3 7513	11.26	1.18	4
WV-3 1022	41.74	1.37	3	WV-3 3043	26.66	2.71	4	WV-3 7514	9.79	0.90	4
WV-3 1023	34.88	1.27	3	WV-3 3044	30.72	1.06	3	WV-3 7515	7.59	1.87	4
WV-3 1024	32.69	3.05	4	WV-3 3045	15.09	1.35	4	WV-3 7516	8.27	0.68	4
WV-3 1025	48.32	1.13	4	WV-3 3046	15.8	2.53	4	WV-3 7517	7.86	0.88	4
WV-3 1026	41.51	4.03	4	WV-3 3047	11.97	1.85	4	WV-3 7518	65.92	11.4 5	4

WV-3 1027	27.14	0.39	3	WV-3 3048	42.65	2.07	4	WV-3 7519	24.38	2.76	4
WV-3 1028	37.56	2.51	4	WV-3 3049	10.8	0.47	4	WV-3 7520	30.54	2.59	4
WV-3 1029	82.9	4.07	3	WV-3 3050	3.12	0.2	8	WV-3 7521	12.04	1.42	4
WV-3 1030	33.38	0.68	4	WV-3 3051	71.88	4.25	4	WV-3 7522	15.46	1.74	4
WV-3 1031	58.43	1.4	4	WV-3 3052	16.85	1.85	4	WV-3 7523	18.44	1.96	4
WV-3 1032	30.75	8.5	4	WV-3 3053	31.19	3.99	4	WV-3 7524	22.38	0.87	3

[0500] 表2B. 某些寡核苷酸/组合物的IC₅₀。

该表显示了IC₅₀值(例如,通过寡核苷酸浓度相对于剩余mRNA百分比的四参数曲线拟合确定)。CI:置信区间。例如,95%置信区间是可以确定95%包含真实值的值范围。

ID	体外 IC₅₀ (uM)	95% CI (uM)	ID	体外 IC₅₀ (uM)	95% CI (uM)
WV-26758	0.138	0.119 至 0.16	WV-36875	0.107	0.076 至 0.153
WV-26759	0.223	0.163 至 0.288	WV-36876	0.135	0.101 至 0.183
WV-29875	0.169	0.137 至 0.211	WV-36877	0.111	0.086 至 0.144
WV-29876	0.049	0.031 至 0.064	WV-37299	2.043	1.245 至 6.066
WV-29877	0.073	0.042 至 0.131	WV-37300	0.818	0.52 至 1.53
WV-29878	0.084	0.068 至 0.106	WV-37301	0.781	0.565 至 1.13

WV-29879	0.12	0.09 至 0.158	WV-37302	0.47	0.354 至 0.653
WV-29880	0.109	0.085 至 0.14	WV-37303	0.608	0.484 至 0.786
WV-29881	0.13	0.094 至 0.182	WV-37304	0.717	0.491 至 1.15
WV-29882	0.1	0.091 至 0.11	WV-37305	0.542	0.375 至 0.851
WV-29883	0.032	0.022 至 0.04	WV-37499	0.276	0.206 至 0.371
WV-29884	0.062	0.031 至 0.121	WV-37500	0.202	0.136 至 0.301
WV-29885	0.095	0.058 至 0.162	WV-37501	0.215	0.141 至 0.33
WV-29886	0.069	0.051 至 0.096	WV-37502	0.213	0.165 至 0.277
WV-29887	0.088	0.055 至 0.138	WV-37503	0.232	0.192 至 0.282
WV-29888	0.149	0.113 至 0.199	WV-37511	1.193	0.192 至 7.414
WV-30672	0.205	0.143 至 0.269	WV-37512	0.143	0.104 至 0.197
WV-30674	0.108	0.14 至 0.222	WV-37513	0.226	0.146 至 0.351
WV-32808	0.141	0.086 至 0.233	WV-37514	0.209	0.162 至 0.271
WV-32809	0.139	0.103 至 0.195	WV-37515	0.2	0.159 至 0.251
WV-32810	0.208	0.16 至 0.273	WV-37516	0.153	0.129 至 0.184
WV-32811	0.134	0.111 至 0.163	WV-37517	0.164	0.125 至 0.217
WV-32813	0.107	0.085 至 0.136	WV-38924	0.034	0.021 至 0.056
WV-32814	0.103	0.079 至 0.135	WV-38925	0.036	0.024 至 0.054
WV-32815	0.121	0.09 至 0.167	WV-38926	0.046	0.028 至 0.078
WV-32816	0.083	0.065 至 0.105	WV-38927	0.084	0.054 至 0.132
WV-32817	0.083	0.066 至 0.106	WV-38928	0.049	0.036 至 0.066

WV-32818	0.123	0.083 至 0.176	WV-38929	0.043	0.034 至 0.055
WV-32819	0.131	0.097 至 0.175	WV-38930	0.086	0.071 至 0.106
WV-32820	0.143	0.124 至 0.166	WV-38931	0.104	0.078 至 0.14
WV-32821	0.126	0.104 至 0.154	WV-40376	0.103	0.087 至 0.124
WV-32822	0.15	0.114 至 0.203	WV-40377	0.105	0.092 至 0.121
WV-32823	0.043	0.032 至 0.059	WV-40378	0.123	0.096 至 0.158
WV-32824	0.052	0.043 至 0.064	WV-40379	0.105	0.082 至 0.135
WV-32825	0.095	0.072 至 0.126	WV-40380	0.08	0.067 至 0.095
WV-32826	0.054	0.043 至 0.07	WV-40381	0.078	0.058 至 0.105
WV-32827	0.094	0.075 至 0.12			

实例3.所提供的寡核苷酸和组合物在体内具有活性

[0501] 除其他事项外,本披露证明所提供的寡核苷酸和组合物在体内具有活性。在本实例中,动物程序是按照Biomere (伍斯特市,马萨诸塞州,美国)的IACUC指南进行的。转基因人类野生型MAPT (hTau) 小鼠在无tau的背景上含有完整的人类内含子、外显子、5' 和3' UTR MAPT序列。在3-4个月大的混合性别hTau小鼠中,以所期望的寡核苷酸浓度(包括第1天的100 μ g)经由脑室内(ICV)施用用2.5 μ L给药。通过CO₂窒息对动物进行安乐死,然后用盐水进行心脏灌注,收集组织样品并在干冰中速冻。使用Direct-zol 96RNA试剂盒(Zymo)提取总RNA。按照制造商的说明,使用大容量cDNA反转录试剂盒(赛默飞世尔公司)从RNA样品中生产cDNA,并在CFX System中使用iQ Multiplex Powermix(伯乐公司)进行qPCR分析(如本领域技术人员所理解的,可以使用商业探针,例如MAPT Hs00213484_m1 FAM和Tubb3 Mm00727586_s1 VIC PL(赛默飞世尔公司))。计算mRNA敲低水平为相对于PBS处理的剩余mRNA百分比($\Delta \Delta$ Ct)。如所证实的,提供的技术可以在约或至少约4、8、12、18或24周内提供降低的MAPT产物水平和/或活性。

[0502] 结果示于表3A-3B中。表3A显示了在指定时间点海马体中的剩余MAPT百分比。对于每个时间点,将数据标准化为PBS治疗组。N=8只小鼠/组。表3B显示了在指定时间点皮层中的剩余MAPT百分比。对于每个时间点,将数据标准化为PBS治疗组。N=8只小鼠/组。阴性对照是PBS(磷酸盐缓冲盐水)。

[0503] 表3A. 在指定时间点海马体中的剩余MAPT百分比。

	PBS: 4wk	WV-1 4104: 4wk	WV-2 9875: 4wk	WV-2 9877: 4wk	WV-2 9878: 4wk	PBS: 8wk	WV-1 4104: 8wk	WV-2 9875: 8wk	WV-2 9877: 8wk	WV-2 9878: 8wk
平均值	1.00	0.19	0.07	0.11	0.06	1.00	0.19	0.18	0.08	0.09
标准差	0.11	0.10	0.03	0.15	0.02	0.11	0.11	0.17	0.12	0.11
	PBS: 12wk	WV-1 4104: 12wk	WV-2 9875: 12wk	WV-2 9877: 12wk	WV-2 9878: 12wk	PBS: 18wk	WV-1 4104: 18wk	WV-2 9875: 18wk	WV-2 9877: 18wk	WV-2 9878: 18wk
平均值	1.00	0.32	0.17	0.08	0.11	1.00	0.67	0.65	0.40	0.69
标准差	0.14	0.19	0.13	0.04	0.06	0.20	0.21	0.23	0.29	0.29
	PBS: 24wk	WV-1 4104: 24wk	WV-2 9875: 24wk	WV-2 9877: 24wk	WV-2 9878: 24wk					
平均值	1.03	0.61	0.66	0.73	0.56					
标准差	0.20	0.13	0.15	0.39	0.18					

[0504] 表3B. 在指定时间点皮层中的剩余MAPT百分比。

	PBS: 4wk	WV-1 4104: 4wk	WV-2 9875: 4wk	WV-2 9877: 4wk	WV-2 9878: 4wk	PBS: 8wk	WV-1 4104: 8wk	WV-2 9875: 8wk	WV-2 9877: 8wk	WV-2 9878: 8wk
平均值	1.00	0.35	0.21	0.27	0.14	1.00	0.29	0.31	0.12	0.26
标准差	0.15	0.19	0.10	0.23	0.04	0.14	0.13	0.20	0.04	0.22
	PBS: 12wk	WV-1 4104: 12wk	WV-2 9875: 12wk	WV-2 9877: 12wk	WV-2 9878: 12wk	PBS: 18wk	WV-1 4104: 18wk	WV-2 9875: 18wk	WV-2 9877: 18wk	WV-2 9878: 18wk
平均值	1.00	0.44	0.36	0.16	0.23	1.00	0.88	0.91	0.56	0.84
标准差	0.26	0.15	0.17	0.08	0.10	0.11	0.30	0.18	0.31	0.28
	PBS: 24wk	WV-1 4104: 24wk	WV-2 9875: 24wk	WV-2 9877: 24wk	WV-2 9878: 24wk					
平均值	1.00	0.75	0.74	0.66	0.64					
标准差	0.15	0.19	0.10	0.16	0.23					

[0505] 在非人类灵长类动物中也证实了所提供技术的活性。在一些实施例中,用12mg WV-29878的单一剂量鞘内治疗2至4岁的食蟹猴(n=6)。给药后11或29天处死动物。在本实施例中,动物程序是根据IACUC、美国国家研究委员会和的加拿大动物保健委员会指南下在查尔斯河实验室(塞内维尔, QC加拿大)进行的。解剖脑和脊髓组织的多个区域,并在液氮中速冻。使用RiboPure试剂盒(生命技术公司)提取总RNA。按照制造商的说明,使用Superscript IV VIL0 Master Mix试剂盒(英杰公司(Invitrogen))从RNA样品中生产cDNA,并在QuantStudio 7Flex实时PCR系统中使用Taqman Gene Expression Master Mix(赛默飞世尔公司)进行qPCR分析(如本领域技术人员所理解的,可以使用商业探针,例如MAPT Mf00902189_m1 FAM和ARL1Mf02795431_m1 VIC PL(赛默飞世尔公司))。计算mRNA敲低水平为相对于未处理动物的剩余mRNA%($\Delta \Delta Ct$)。

[0506] 某些结果示于表4中。表4显示了给药后第29天在各个脑和脊髓区域中的剩余MAPT%。对于每个时间点,将数据标准化为未治疗组。如所证实的,所提供的技术可以提供例如给药后约或至少约29天或1个月的活性。

[0507] 表4. 食蟹猴中给药后29天的剩余MAPT%。

	对照	海马	脑皮层	颈段脊髓	胸段脊髓	腰段脊髓
平均值	100	11.5	7.848	31.08	21.36	5.967
标准差	12.22	0.9978	3.504	16.92	11.8	2.961

[0508] 虽然本文中已描述且展示了多种实施例,但本领域普通技术人员将容易想到,用于执行本披露中所描述的功能和/或获得本披露中所描述的结果和/或一个或多个优势的

多种其他方法和/或结构,并且此类变化和/或修改中的每一者均被视为包括在内。更一般而言,本领域普通技术人员将容易理解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和构型意在作为实例,并且实际参数、尺寸、材料和/或构型可取决于使用本披露的教导的一个或多个特定应用。本领域技术人员将认知到、或不使用过度常规实验就能够确定本披露的实施例的许多等效物。因此,应理解,前述实施例仅通过实例方式呈现,且在所附权利要求书及其等效物的范围内,可以与具体描述和要求的不同的方式实践所要求的技术。另外,如果特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法不是相互不兼容的,则在本披露的范围内包括两个或更多个此类特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法的任何组合。