



(10) 申请公布号 CN 116507724 A

(43) 申请公布日 2023.07.28

(21) 申请号 202180082330.8

(22) 申请日 2021.11.08

(30) 优先权数据

63/111,079 2020.11.08 US

63/175,036 2021.04.14 US

63/188,415 2021.05.13 US

63/196,178 2021.06.02 US

63/248,520 2021.09.26 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.06.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/058495 2021.11.08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/099159 EN 2022.05.12

(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 普拉尚·莫尼安

奇克杜·沙克蒂·希瓦利拉

苏布拉马尼安·马拉潘

钱德拉·瓦尔格赛

帕查穆图·坎德萨米 陆根良

于辉

大卫·查尔斯·唐奈·巴特勒

卢恰诺·恩里克·阿波尼 清水护

斯特凡尼·米歇尔·斯坦德利

大卫·约翰·布莱

安德鲁·古齐奥·赫什

吉加·德塞 杰克·大卫·戈弗雷

杨海林 岩本直树

贾亚坎森·库马拉萨米

安东尼·拉马蒂纳

汤姆·连堂·朴

(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 韩晓帆

(51) Int.Cl.

C12N 9/22 (2006.01)

权利要求书12页 说明书669页 附图48页

(54) 发明名称

寡核苷酸组合物及其方法

(57) 摘要

尤其是,本披露提供了寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物可用于腺苷修饰。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗可受益于腺苷修饰的多种病症、障碍或疾病的方法。

1. 一种寡核苷酸,其包含:  
第一结构域;以及  
第二结构域,  
其中:  
该第一结构域包含一个或多个2'-F修饰;  
该第二结构域包含一个或多个不具有2'-F修饰的糖;  
该第一结构域中约30%-70% (例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖独立地包含2'-F修饰;以及  
该第一结构域中30%-70% (例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。
2. 如权利要求1所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包含该靶腺苷向肌苷的转化。
3. 如权利要求2所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个 (例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等) 2'-F嵌段和一个或多个 (例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等) 分隔嵌段,其中每个2'-F嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,并且其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是不同于2'-F修饰的糖的糖。
4. 如权利要求3所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中有3个或更多个2'-F嵌段。
5. 如权利要求4所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中有2个或更多个分隔嵌段。
6. 如权利要求5所述的寡核苷酸,其中分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。
7. 如权利要求5所述的寡核苷酸,其中第一结构域中与第一结构域中的2'-F嵌段键合的每个嵌段是分隔嵌段。
8. 一种寡核苷酸,其包含:  
第一结构域;以及  
第二结构域,  
其中:  
该第一结构域包含一个或多个2'-F修饰;  
该第二结构域包含一个或多个不具有2'-F修饰的糖。
9. 一种寡核苷酸,其包含一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联,其中该寡核苷酸包含各自独立地包含一个或多个核碱基的第一结构域和第二结构域。
10. 如权利要求8或9所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包含该靶腺苷向肌苷的转化。
11. 如权利要求7所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约26-35个核碱基的长度。
12. 如权利要求7所述的寡核苷酸,其中该第一和第二结构域各自独立地具有约10-50个核碱基的长度。
13. 如权利要求12所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约50%-100%的核苷酸间键

联是经修饰的核苷酸间键联。

14. 如权利要求13所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含与靶腺苷相对的核昔。

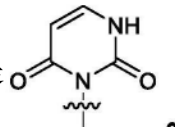
15. 如权利要求14所述的寡核苷酸,其中该相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的U,或是U的任选地经取代的或被保护的互变异构体,或是任选地经取代的或被保护的C,或是C的任选地经取代的或被保护的互变异构体,或是任选地经取代的或被保护的A,或是A的任选地经取代的或被保护的互变异构体,或是任选地经取代的或被保护的假异胞嘧啶的核碱基,或是该假异胞嘧啶的核碱基的任选地经取代的或被保护的互变异构体,或是核碱基BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

16. 如权利要求15所述的寡核苷酸,其中该核碱基是BA,其中BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

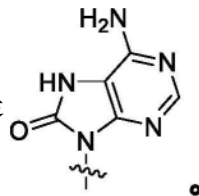
17. 如权利要求16所述的寡核苷酸,其中与U相比,BA与该腺苷的靶腺嘌呤具有较弱的氢键合。

18. 如权利要求16所述的寡核苷酸,其中环BA包含  $---X^2---X^3---$ 、 $---X^2---X^3---X^4---$ 、 $-X^1(---)---X^2---X^3---$ 、 $-X^1(---)---X^2---X^3---X^4---$ ,或具有式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a或BA-III-b的结构。

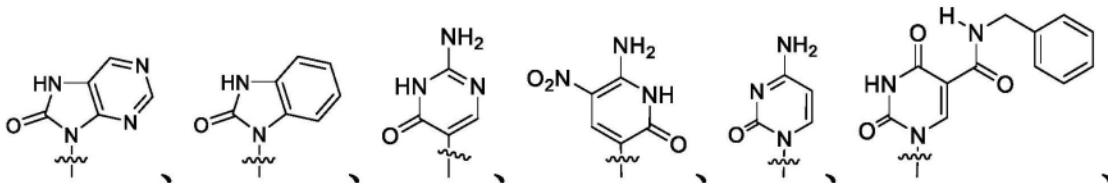
19. 如权利要求14所述的寡核苷酸,其中该相对的核碱基是

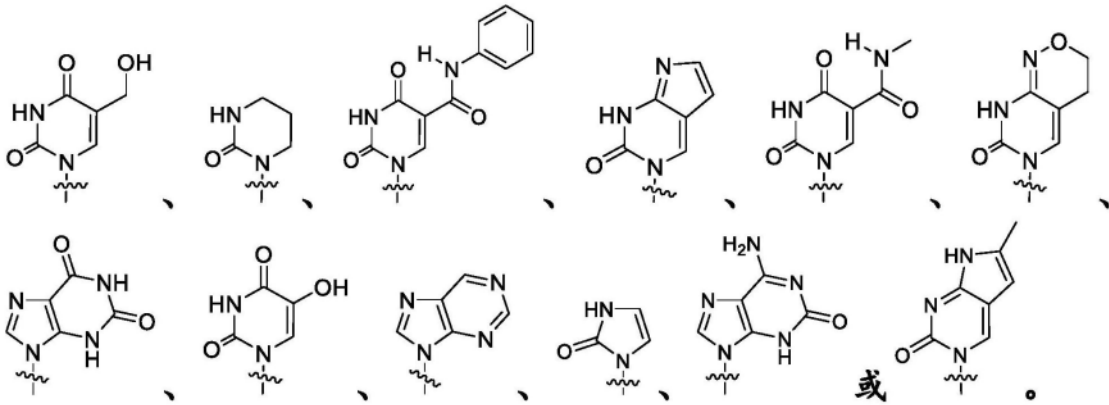


20. 如权利要求14所述的寡核苷酸,其中该相对的核碱基是



21. 如权利要求14所述的寡核苷酸,其中该相对的核碱基是





22. 如权利要求14所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约50%-100%的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

23. 如权利要求22所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约50%-100%的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

24. 如权利要求23所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

25. 如权利要求24所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

26. 如权利要求25所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。

27. 如权利要求26所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

28. 如权利要求25所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少50%-100%的手性核苷酸间键联是手性受控的。

29. 如权利要求28所述的寡核苷酸,其中该第二结构域从5'到3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。

30. 如权利要求29所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域具有约5-50个核碱基的长度。

31. 如权利要求30所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

32. 如权利要求31所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域具有3个核碱基的长度。

33. 如权利要求32所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含与靶腺苷相对的核苷。

34. 如权利要求33所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个天然DNA糖。

35. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个天然RNA糖。

36. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含约2'-F修饰的糖。

37. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖包含2'-OH。

38. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖是天然DNA糖。

39. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_1N_0$ ...3'中的 $N_1$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

40. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_1N_0$ ...3'中的 $N_1$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)包含2'-F。

41. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_0N_{-1}$ ...3'中的 $N_{-1}$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

42. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖、与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_1N_0$ ...3'中的 $N_1$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)和与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_0N_{-1}$ ...3'中的 $N_{-1}$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)各自独立地是天然DNA糖。

43. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖是天然DNA糖,与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_1N_0$ ...3'中的 $N_1$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)是2'-F修饰的糖,并且与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'-... $N_0N_{-1}$ ...3'中的 $N_{-1}$ 的糖,其中当与靶标比对时, $N_0$ 与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

44. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相对的核苷通过 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷。

45. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中与靶核苷相对的核苷(位置0)的3'紧邻的核苷(位置-1)通过不带负电荷的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷(位置-2)。

46. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该3'-紧邻核苷包含不是G的碱基。

47. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该3'-紧邻核苷包含次黄嘌呤。

48. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域具有约1-10个核碱基的长度。

49. 如权利要求34所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含是或含有GalNAc或其衍生物的部分。

50. 一种寡核苷酸,其包含如本文所述的经修饰的核碱基或经修饰的键联。

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

$P^L$ 是P或P(=W);

W是O、S或 $W^N$ ;

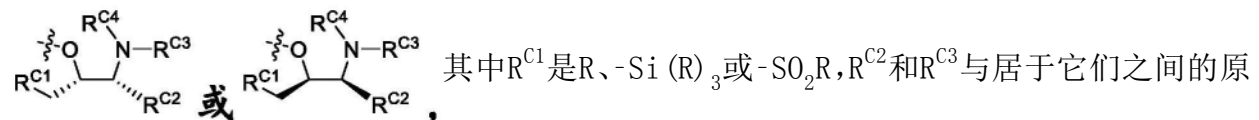
$R^{CA}$ 是或包含任选地经取代的或封端的手性助剂部分,

$O^5$ 是键合至糖的5'-碳的氧,并且

$O^3$ 是键合至糖的3'-碳的氧。

52. 如权利要求51所述的寡核苷酸,其中在经修饰的核苷酸间键联的每个位置独立地是具有 $-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$ 的结构键联。

53. 如权利要求52所述的寡核苷酸,其中每个 $R^{CA}$ 独立地是



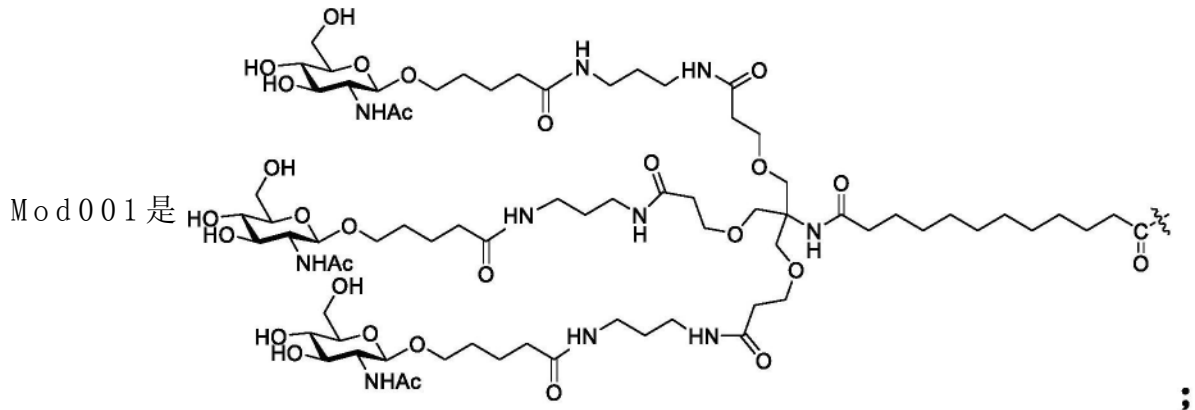
54. 如权利要求52所述的寡核苷酸,其中每个 $R^{CA}$ 独立地是

55. 如权利要求54所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SiPh<sub>2</sub>Me,或其中 $R^{C1}$ 是-SO<sub>2</sub>R,其中R是任

选地经取代的苯基。

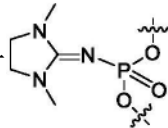
56. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA、CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA或CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列, 其中每个U可以独立地替代为T, 并且反之亦然。

57. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构, 其中:



L001是-NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-, 其中-NH-连接至Mod001;

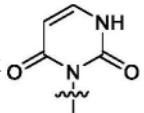
m代表对核苷的2'-OMe修饰;

n001R代表Rp n001键联, 其中n001键联具有的结构;

n001S代表Sp n001键联;

\*S代表Sp硫代磷酸酯键联;

f代表对核苷的2'-F修饰;

b008U代表碱基是的核苷; 以及

I代表碱基是次黄嘌呤的核苷。

58. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构, 其中修饰如权利要求1496或说明书中所述。

59. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SmCfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构, 其中修饰如权利要求1496 (和/或说明书) 中所述。

60. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SmCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构, 其中修饰如权利要求1496 (和/或说明书) 中所述。

61. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SfCmU\*

SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SmCfC\*SfUn001RfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

62. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SfU\*SfUn001RfC\*SfAfGn001RfUmCmCfC\*SfU\*SmUmU\*SfC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

63. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

64. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

65. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

66. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

67. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

68. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

69. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

70. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

71. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUmUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUteofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

72. 一种寡核苷酸,其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofUn001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构,其中修饰如权利要求1496(和/或说明书)中所述。

73. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈盐形式。

74. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

75. 如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性键联磷的非对映体过量

独立地是约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

76. 如权利要求1-75中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约10%-100%的纯度。

77. 一种药物组合物,其包含或递送有效量的如权利要求1-76中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂。

78. 一种寡核苷酸组合物,其包含多个寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同碱基序列,和

2) 独立地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;

其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是如权利要求1-76中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式;或

一种寡核苷酸组合物,其包含一种或多种多个寡核苷酸,其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列,和

2) 独立地在一个或多个手性核苷酸间键联(“手性受控的核苷酸间键联”)处的相同键联磷立体化学;

其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是如权利要求1-76中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式;或

一种组合物,其包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸的特征在于:

a) 共同碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同骨架手性中心模式;

d) 共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性受控的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸;并且

其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是如权利要求1-76中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式;或

一种寡核苷酸组合物,其包含多个寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同碱基序列,和

2) 独立地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;

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷;或

一种寡核苷酸组合物,其包含一种或多种多个寡核苷酸,其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列,和

2) 独立地在一个或多个手性核苷酸间键联(“手性受控的核苷酸间键联”)处的相同键联磷立体化学;

其中每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷;或

一种组合物,其包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸的特征在于:

- a) 共同碱基序列;
- b) 共同骨架键联模式;
- c) 共同骨架手性中心模式;
- d) 共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性受控的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸;并且

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

79. 如权利要求78所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是如权利要求57-72中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。

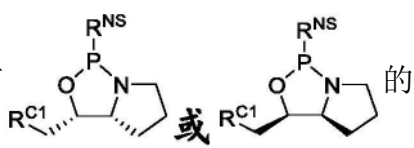
80. 如权利要求78-79中任一项所述的组合物,其中该组合物的寡核苷酸中多个寡核苷酸的共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的寡核苷酸的水平是约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS是约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性受控的核苷酸间键联的数目,或其中该组合物的寡核苷酸中多个寡核苷酸的共享与该多个寡核苷酸的寡核苷酸或其盐相同的构成的寡核苷酸的水平是约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS是约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc是手性受控的核苷酸间键联的数目。

81. 一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是如本文所述的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的,或

一种亚磷酰胺,其中核碱基是或包含环BA,其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构,或环BA的互变异构体,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

82. 如权利要求81所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有R<sup>NS</sup>-P(OR)N(R)<sub>2</sub>的结构,其中R<sup>NS</sup>是任选地被保护的核苷部分,并且每个R如本文所述,优选地其中亚磷酰胺具有R<sup>NS</sup>-P(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)N(i-Pr)<sub>2</sub>的结构。

83. 如权利要求81所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中磷键合至

该手性助剂部分的氧和氮原子,优选地其中该亚磷酰胺具有  的结构。

84. 如权利要求83所述的亚磷酰胺,其中R<sup>C1</sup>是-SiPh<sub>2</sub>Me。

85. 如权利要求83所述的亚磷酰胺,其中R<sup>C1</sup>是-SO<sub>2</sub>R,其中R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基或者其中R是任选地经取代的苯基。

86. 一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的5'-OH与如权利要求81-85中任一项所述的亚磷酰胺偶联。

87. 一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括:

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

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

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

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

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

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

一种方法,其包括:

使如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或组合物与样品接触,该样品包含靶核酸和腺苷脱氨酶,其中:

该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与该靶核酸的碱基序列基本上互补;并且

该靶核酸包含靶腺苷;

其中该靶腺苷被修饰;或

一种方法,其包括

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修

饰;或

一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;或

一种方法,其包括

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控的手性核苷酸间键联;并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰;或

一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控的手性核苷酸间键联;或

一种方法,其包括

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键联;并且

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”);并且

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰;或

一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;并且

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键联;并且

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”)。

89. 如权利要求88所述的方法,其中第一寡核苷酸组合物是如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸组合物。

90. 如权利要求86-88中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR酶。

91. 如权利要求87-90中任一项所述的方法,其中与不同于该靶核酸的核酸相比,该靶核酸与病症、障碍或疾病,或所需的特性或功能的减弱,或不期望的特性或功能的增强更相关,该不同在于该核酸在该靶腺苷的位置具有I或G而不是该靶腺苷。

92. 如权利要求91所述的方法,其中该靶腺苷是G至A突变。

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

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

94. 如权利要求93所述的方法,其中该病症、障碍或疾病适合A至G或A至I修饰。
95. 一种如说明书或示例实施例1-1905中任一项所述的化合物、寡核苷酸、组合物或方法。

## 寡核苷酸组合物及其方法

### 相关申请的交叉引用

[0001] 本申请要求一项或多项优先权申请的优先权,包括以下美国临时申请号:2020年11月8日提交的63/111,079,2021年4月14日提交的63/175036,2021年5月13日提交的63/188,415,2021年6月2日提交的63/196,178,和2021年9月26日提交的63/248,520。每个优先权申请的全部内容通过援引并入本文。

### 背景技术

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

### 发明内容

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

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

[0005] 尤其是,本披露提供了与参考寡核苷酸和组合物(例如,本文描述的或本领域报道的那些)相比具有改进的特性和/或活性的经设计的寡核苷酸和组合物。例如,在一些实施例中,如本文所展示,提供的寡核苷酸和组合物可以提供改进的稳定性、药代动力学特性、药效学特性和/或改进的活性(例如,用于A至I编辑)。本文描述了各种经设计的寡核苷酸和组合物。例如,在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸及其组合物,包括其手性受控的寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含几个(例如,1个、2个、3个、4个或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷,这些核苷在其5'末端和3'末端独立地包含糖修饰(例如,2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)、双环糖(例如,LNA糖,cEt糖等))。在一些实施例中,最前几个(例如,1、2、3、4、或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷和/或最后几个(例如,1、2、3、4、或5个或更多个;在一些实施例中,3个或更多个)核苷独立地包含糖修饰。在一些实施例中,前3个或更多个核苷和最后3个或更多个核苷独立地包含糖修饰。在一些实施例中,与这样的核苷键合的一个或多个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酸基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,它们都是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,寡核苷酸包含核苷N<sub>0</sub>,其包含天然DNA糖(两个2'-H)、天然RNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,当寡核苷酸用于腺苷编辑时,N<sub>0</sub>是与靶腺苷相对的核苷。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖(数字前的“+”或没有任何内容表示向5'-方向计数(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>...3'))是2'-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖(“-”表示向3'-方向计数(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>...3'))是2'-F修饰的糖、天然DNA糖、或天然RNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖。在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,在N<sub>2</sub>和它们的5'末端寡核苷酸之间包含多个2'-F修饰的糖和多个2'-修饰的糖(例如,2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基、双环糖如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,寡核苷酸在从N<sub>2</sub>到它们的5'末端(例如,当第二结构域的第一子结构域以N<sub>2</sub>结束并包括N<sub>2</sub>时,第一结构域和第二结构域的第一子结构域组合)包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)分隔嵌段,其中2'-F嵌段中的每个核苷独立地包含2'-F修饰,分隔嵌段中的每个核苷独立地不包含2'-F修饰,并且每个嵌段独立地包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-10、2-15、2-10、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)核苷。在一些实施例中,存在两个或更多个这样的2'-F嵌段和两个或更多个这样的分隔嵌段。在一些实施例中,一个或多个或所有这样的分隔嵌段独立地键合至两个2'-F嵌段。在一些实施例中,一个或多个或所有分隔嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基或者是双环糖例如LNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,一个或多个或所有分隔嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,一个或多个或所有分隔嵌段中的每个核苷独立地包含2'-OMe或2'-MOE修饰。在一些实施例中,这样的2'-F和分隔嵌段中的每个独立地包含1、2、3、4或5个核苷。在一些实施例中,靠近N<sub>0</sub>的

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

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

(a) 第一结构域;以及

(b) 第二结构域,

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

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

[0007] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(a) 第一结构域;以及

(b) 第二结构域,

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

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

[0008] 在一些实施例中,第二结构域包含如本文所述的第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10、1-5、1-3、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖,其各自独立地包含2'-OR修饰,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2'-MOE、2'-O-L<sup>B</sup>-4',其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-等)。在一些实施例中,第一子结构域中的这样的糖多于2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域中的糖都不包含任何2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或2'-O-L<sup>B</sup>-4')。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖、天然RNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域的每个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,在第二子结构域中存在三个核苷。在一些

实施例中,当结合靶标时,这三个中的第二核苷与靶腺苷相对。在一些实施例中,第二核苷的糖不包含如本文所述的任何2'-OR修饰(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,这样的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,1-10、1-5、1-3、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖,其各自独立地包含2'-OR修饰,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2'-MOE、2'-O-L<sup>B</sup>-4',其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-,等)。在一些实施例中,第三子结构域中的这样的糖多于2'-F修饰的糖。

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

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

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

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

[0013] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含经修饰的核碱基。在一些实施例中,经修饰的核碱基促进对靶腺苷的修饰。在一些实施例中,与存在U时相比,与靶腺嘌呤相对的核

碱基保持与酶例如ADAR的相互作用,而与靶腺嘌呤的相互作用不如与U强烈(例如,形成较少的氢键)。在一些实施例中,相对的核碱基和/或其相关联的糖提供一定的灵活性(例如,当与U相比时)以促进酶(例如,ADAR1、ADAR2等)对靶腺苷的修饰。在一些实施例中,紧邻相对的核碱基(相对于靶腺嘌呤)的5'或3'的核碱基(例如,I及其衍生物)增强对靶腺嘌呤的修饰。尤其是,本披露认识到,当所提供的寡核苷酸及其靶核酸的双链体与修饰酶(例如,ADAR1或ADAR2)相互作用时,这样的核碱基可导致比G更小的空间位阻。在一些实施例中,选择(例如,当几个腺苷残基是合适的靶标时)和/或设计(例如,通过利用本文所述的多种核碱基)寡核苷酸的碱基序列,使得可以减小或消除空间位阻(例如,没有G与靶A的相对的核苷相邻)。

[0014] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸提供经修饰的核苷酸间键联(即,不是天然磷酸酯键联的核苷酸间键联)。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,手性核苷酸间键联)的键联磷是手性的并且可以按不同的构型( $R_p$ 和 $S_p$ )存在。尤其是,本披露展示,经修饰的核苷酸间键联的并入,特别是具有对键联磷中心的立体化学的控制(使得与立体随机寡核苷酸制备物相比,在这种控制中心处富集一种构型),可以显著改善特性(例如,稳定性)和/或活性(例如,腺苷修饰活性(例如,将腺苷转化成肌苷)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有显著高于立体随机制备物的立体化学纯度。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是手性受控的。

[0015] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸包含一个或多个手性核苷酸间键联,其键联磷是手性的(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联,或所有核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,等),或所有核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,至少一个手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个均是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,磷酰基胍核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个磷酰基胍核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联是n001。在一

些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n002。在一些实施例中,它是n006。在一些实施例中,它是n020。在一些实施例中,它是n004。在一些实施例中,它是n008。在一些实施例中,它是n025。在一些实施例中,它是n026。本文描述了各种经修饰的核苷酸间键联。键联磷可以是Rp或Sp。在一些实施例中,至少一个键联磷是Rp。在一些实施例中,至少一个键联磷是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,等),或所有手性核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个硫代磷酸酯核苷酸间键联,或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,等),或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少50%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少60%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少70%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少75%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少80%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少85%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少90%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少95%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少96%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少97%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少98%是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,不超过3、4、5、6、7、8、9或10个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过3个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过4个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过5个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过6个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过7个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过8个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过9个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,不超过10个连续的硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联未用于其中大部分(例如大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有的糖是天然DNA和/或RNA和/或2'-F修饰的糖的部分中。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,这样的核苷酸间键联中的一个或多个或大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有独立地键合至糖,这可以提高稳定性。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,这样的核苷酸间键联中的一个或多个或大多数(例如,大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有独立地键合至双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,当使用连续的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联时,这样的核苷酸间键联中的一个或多个或大多数(例如,

大于50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)或所有独立地键合至2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

[0016] 在一些实施例中,在组合物中控制所提供的寡核苷酸的一个或多个手性键联磷的立体化学。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的组合物,其中多个寡核苷酸共享共同碱基序列,并且独立地在一个或多个手性核苷酸间键联(“手性受控的核苷酸间键联”) (例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)处共享相同的键联磷构型(例如,对于手性键联磷,均是R<sub>p</sub>或均是S<sub>p</sub>)。在一些实施例中,它们在每个手性键联磷处共享相同的立体化学。在一些实施例中,多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享相同的构成。在一些实施例中,除了核苷酸间键联之外,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,组合物中的所有寡核苷酸、或共享共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%共享该多个寡核苷酸中的寡核苷酸的骨架手性中心模式。在一些实施例中,组合物中的所有寡核苷酸、或共享共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0017] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中组合物中所有寡核苷酸、或具有相同寡核苷酸碱基序列的所有寡核苷酸、或具有相同碱基序列以及糖和碱基修饰的所有寡核苷酸、或具有相同构成的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地在寡核苷酸的一个或多个手性核苷酸间键联(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性核苷酸间键联,或所有手性核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%)处共享相同的键联磷构型(例如,对于手性键联磷,均是R<sub>p</sub>或均是S<sub>p</sub>)。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中组合物中所有寡核苷酸、或具有相同寡核苷酸碱基序列的所有寡核苷酸、或具有相同碱基序列以及糖和碱基修饰的所有寡核苷酸、或具有相同构成的所有寡核苷酸的至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是一种或多种形式的寡核苷酸(例如,酸形式、盐形式(例如,药学上可接受的盐形式;如本领域技术人员所理解的,在寡核苷酸是盐的情况下,寡核苷酸的相应酸或碱形式的其他盐形式)等)。

[0018] 在一些实施例中,如本文所展示,手性受控的寡核苷酸组合物与相应的立体随机寡核苷酸组合物相比提供许多优点,例如更高的稳定性、活性等。在一些实施例中,据观察,手性受控的寡核苷酸组合物在采用ADAR蛋白的各种同种型(例如,ADAR1的p150和p110形式)时均提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I)活性,而相应的立体随机组合物仅在采用ADAR蛋白的某些同种型(例如,ADAR1的p150同种型)时才提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I)活性。

[0019] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含另外的部分,例如靶向部分、碳水化合物部分等。在一些实施例中,另外的部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体。在一些实施例中,另外的部分是或包含GalNAc或其衍生物。尤其是,另外的部分可以有利于向某些靶位置,例如细胞、组织、器官等(例如,包含与另外的部分相互作用的受体的位置)的递送。在一些实施例中,另外的部分有利于向肝的递送。

[0020] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物,特别是手性受控的寡核苷酸组合物的技术。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物是高纯度的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸在手性核苷酸间键联的键联磷处是至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%立体化学纯的。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸立体选择性地制备并且基本上不含立体异构体。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学(例如,包含R<sub>p</sub>和/或S<sub>p</sub>中的一者或多者,其中每个手性键联磷独立地是R<sub>p</sub>或S<sub>p</sub>)模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,在所提供的包含共享相同手性键联磷立体化学模式的相同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物中,组合物中与该多个寡核苷酸共享相同构成的所有寡核苷酸的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%共享相同的手性键联磷立体化学模式或是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0021] 在一些实施例中,本披露描述了用于评估寡核苷酸及其组合物的有用技术。例如,本披露的多种技术可用于评估腺苷修饰。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,腺苷的修饰/编辑可以通过测序、质谱法、对经修饰的核酸(例如,其中靶核酸的腺苷被转化成肌苷)的产物(例如,RNA、蛋白等)的评估(例如,水平、活性等)等来评估,任选地考虑修饰系统(例如,体外系统、离体系统、细胞、组织、器官、生物体、受试者等)中存在的其他组分(例如,ADAR蛋白)。本领域技术人员将理解,提供靶核酸的腺苷修饰的寡核苷酸也可以提供经修饰的核酸(例如,其中靶腺苷被转化成I)及其一种或多种产物(例如,mRNA、蛋白等)。在实施例中描述了某些有用的技术。

[0022] 如本文所述,可以多种形式提供/利用本披露的寡核苷酸和组合物。在一些实施例中,本披露提供了包含一种或多种形式的寡核苷酸的组合物,例如,酸形式(例如,其中天然磷酸酯键联以-O(P(O)(OH))-O-存在,硫代磷酸酯核苷酸间键联以-O(P(O)(SH))-O-存在)、碱形式、盐形式(例如,其中天然磷酸酯键联以盐形式(例如,钠盐(-O(P(O)(O<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>))-O-)存在,硫代磷酸酯核苷酸间键联以盐形式(例如,钠盐(-O(P(O)(S<sup>-</sup>Na<sup>+</sup>))-O-)存在)等。如本领域技术人员所理解的,寡核苷酸可以以多种盐形式存在,包括药学上可接受的盐,并且在溶液(例如,多种水性缓冲体系)中,阳离子可以从阴离子解离。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,该药物组合物包含所提供的寡核苷酸和/或其一种或多种药学上可接受的盐,以及药学上可接受的载剂。在一些实施例中,药物组合物是手性受控的寡核苷酸组合物。

[0023] 所提供的技术可用于多种目的。例如,本领域技术人员将理解,所提供的技术可用于涉及腺苷修饰的许多目的,例如,校正G至A突变,调节某些核酸和/或由其编码的产物的水平(例如,通过引入A至G/I修饰来降低蛋白的水平),调节剪接,调节翻译(例如,通过引入A至G/I修饰来调节翻译起始和/或终止位点)等。

[0024] 在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗适合腺苷修饰(例如,将A转化成I或G)的病症、障碍或疾病的技术。如本领域技术人员所理解的,I可执行G的一种或多种功能,例如碱基配对、翻译等。在一些实施例中,G至A突变可通过A至I的转化来校正,使得可以产生G形式核酸的一种或多种产物,例如蛋白。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与突变相关联的病症、障碍或疾病的技术,这些技术包括向易感该病症、障碍或疾病或者患有该病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的寡核苷酸或其组合物,该寡核苷酸或组合物可编辑突变。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的技术,这些技术包括向易患该病症、障碍或疾病或者患有该病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的寡核苷酸或其组合物,该寡核苷酸或组合物可修饰A。在一些实施例中,所提供的技术修饰转录物(例如, RNA转录物)中的A。在一些实施例中,A被转化成I。在一些实施例中,在翻译期间,蛋白合成机器将I读作G。在一些实施例中,A形式编码一种或多种与由其相应G形式编码的蛋白相比具有一种或多种更高的所需活性和/或一种或多种更好的所需特性的蛋白。在一些实施例中,A形式与其相应G形式相比提供更高水平的一种或多种具有一种或多种更高的所需活性和/或一种或多种更好的所需特性的蛋白。在一些实施例中,由A形式编码的产物在结构上与由其相应G形式编码的产物不同(例如,更长,在一些实施例中为全长蛋白)。在一些实施例中,A形式与其相应G形式相比提供在结构上相同的产物(例如,蛋白)。

[0025] 如本领域技术人员将理解的,许多病症、障碍或疾病与可通过所提供的技术修饰的突变相关并且可使用所提供的技术来预防和/或治疗。例如,据报道,超过20,000种病症、障碍或疾病与G至A突变相关,并且可以受益于A至I编辑。

## 附图说明

[0026] 图1. 所提供的技术提供与病症、障碍或疾病相关的突变的编辑,并提供具有改进特性和/或功能的产品。寡核苷酸组合物靶向SERPINA1 (SA1) 的PiZ突变。用指定的寡核苷酸组合物(25nM寡核苷酸)(WV-38621、WV-38622、WV-38630和非靶向(NT)对照WV-37317) 转染表达人SA1-PiZ等位基因的原代小鼠肝细胞。转染后5天收集培养基和RNA。通过RT-PCR和桑格测序对RNA编辑进行定量。通过ELISA测定(“SerpinA1 ng/ml”) 对培养基中的A1AT蛋白进行定量。所有样品均以N=6个重复进行评估。正如图中所示数据所证实的,所提供的技术可以提供靶人SERPINA1-PIZ mRNA的编辑。此外,图中的数据证实,所提供的技术提高了A1AT蛋白分泌水平,这表明所提供的技术可以校正蛋白质水平的突变,并且可以提供具有改进的A1AT蛋白正确折叠的蛋白质(P值:\*<0.05,\*\*<0.01,\*\*\*<0.005和\*\*\*\*<0.0005)。

[0027] 图2. 所提供的技术可以提供编辑。(a) 某些靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸。指定的细胞系用表达SERPINA1-Z等位基因转录物的慢病毒稳定感染,并用指定的寡核苷酸转染。HEK293T细胞也用表达ADAR1-p110或ADAR1-p150的质粒进行预转染。48小时后收集RNA,并通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。(b) 寡核苷酸靶向SERPINA1-Z等位基因。指定的细胞系用表达SERPINA1-Z等位基因转录物的慢病毒稳定感染,并用指定的寡核苷酸转染。HEK 293T细胞也用表达ADAR1-p110或ADAR1-p150的质粒进行预转染。48小时后收集RNA,并通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0028] 图3. 所提供的包括各种修饰(包括经修饰的碱基)的技术可以提供编辑。寡核苷酸

靶向SERPINA1-Z等位基因。稳定表达SERPINA1-Z等位基因转录物的HEK293T或SF8628细胞被转染指定的寡核苷酸。HEK293T细胞也用人ADAR1-p110或p150预转染。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0029] 图4.所提供的包括各种修饰(包括经修饰的碱基和各种类型的糖)的技术可以提供编辑。寡核苷酸靶向SERPINA1-Z等位基因。稳定表达SERPINA1-Z等位基因转录物的HEK293T细胞用人ADAR1-p110或p150和指定的寡核苷酸转染。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0030] 图5.所提供的包括各种修饰的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的GalNAc缀合型寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0031] 图6.所提供的技术可以提供编辑。将原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0032] 图7.所提供的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0033] 图8.所提供的包括各种修饰(包括碱基修饰)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0034] 图9.所提供的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0035] 图10.所提供的包括各种修饰(包括经修饰的核苷酸间键联)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0036] 图11.所提供的包括各种修饰(包括经修饰的核苷酸间键联)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0037] 图12.所提供的包括各种修饰(包括糖修饰)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0038] 图13.所提供的包括各种修饰(包括糖修饰)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0039] 图14.所提供的包括多种长度的寡核苷酸的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0040] 图15.所提供的包括各种修饰(包括各种类型的核苷酸间键联)的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)

[0041] 图16.所提供的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的GalNAc缀合型寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0042] 图17.所提供的包括多种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和/或其他化学部分的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的GalNAc缀合型寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0043] 图18.所提供的包括多种编辑区碱基序列的技术可以提供编辑。(a)评估了各种编辑区序列的寡核苷酸,包括与靶腺苷相对的核苷相邻的最近邻居。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。(b)评估了各种编辑区序列的寡核苷酸,包括与靶腺苷相对的核苷相邻的最近邻居。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。(c)评估了各种编辑区序列的寡核苷酸,包括与靶腺苷相对的核苷相邻的最近邻居。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0044] 图19.所提供的包括多种类型的核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0045] 图20.所提供的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0046] 图21.所提供的包括多种类型的糖、核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0047] 图22.所提供的包括多种类型的糖、核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0048] 图23.所提供的包括多种类型的糖、核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0049] 图24.所提供的包括多种类型的糖、核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0050] 图25.所提供的包括多种类型的糖、核苷和核苷酸间键联的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸进行裸式处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0051] 图26.所提供的技术可以提供编辑。在不同位置包含摇摆碱基对,例如G-U摇摆碱基对的寡核苷酸可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞用指定的靶向SERPINA-Z的寡核苷酸进行裸式处理。

[0052] 图27.所提供的包括各种修饰(包括核苷修饰)的技术可以提供编辑。寡核苷酸靶向β-肌动蛋白mRNA的3'UTR中的腺苷。将原代人肝细胞用指示的寡核苷酸以指示的浓度进行裸式处理。通过桑格测序来测量对靶标的编辑(n=2个生物学重复)。

[0053] 图28.所提供的包括各种修饰(包括糖修饰和经修饰的核苷酸间键联)的技术可以提供编辑。寡核苷酸靶向β-肌动蛋白mRNA的3'UTR中的腺苷。将原代人肝细胞用指示的寡核苷酸以指示的浓度进行裸式处理。通过桑格测序来测量对靶标的编辑(n=2个生物学重复)。

[0054] 图29.所提供的技术可以提供编辑。寡核苷酸靶向β-肌动蛋白mRNA的3'UTR中的腺苷。将原代人肝细胞用指示的寡核苷酸以指示的浓度进行裸式处理。通过桑格测序来测量对靶标的编辑(n=2个生物学重复)。

[0055] 图30.所提供的技术可以提供编辑。将人ADAR1-p110转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用指定的靶向UGP2的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。

[0056] 图31.所提供的技术可以在NHP中提供编辑。(a)非人灵长类动物(NHP)皮下给予指定的寡核苷酸(50mg/kg,n=3只动物)或PBS(n=1只动物)。7天后,对动物进行尸检并收集指定的组织。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。(b):指定组织中寡核苷酸的相应浓度,通过杂交ELISA测量。

[0057] 图32.所提供的包括各种修饰的技术可以提供编辑。(a)非人灵长类动物(NHP)鞘内给予指定的寡核苷酸(5mg或10mg,每个剂量n=2只动物)或人工脑脊液(aCSF)对照(n=1只动物)。在第8天(aCSF、5mg、10mg组)或第29天(10mg组)对动物进行尸检,并收集指定的组织。通过桑格测序对RNA编辑进行定量(n=2个生物学重复)。(b):指定组织中寡核苷酸的相应浓度,通过杂交ELISA测量。

[0058] 图33.所提供的包含双链体化设计的技术可以提供编辑。图示的寡核苷酸组合物包含两个共享16或18-bp互补序列的寡核苷酸,使它们能够相关联并创建可募集ADAR的双链RNA结构。一个寡核苷酸(36或32-bp)还包含靶向部分,该靶向部分与目的靶标特异性互补。如图所示,例如,组合的寡核苷酸设计靶向cLuc编码序列内的过早UAG终止密码子。HEK293T细胞用编码人ADAR1-p150的质粒、荧光素酶报告构建体和指示的寡核苷酸组合进行转染。将cLuc活性相对于模拟处理的样品中的Gluc表达归一化。对于包含双链体区和靶区的每个寡核苷酸(WV-42707至WV-42710和WV-42715至WV-42718),双链体化寡核苷酸从第一个到最后一个为WV-42719至WV-42730(即WV-42719、WV-42720、WV-42721、WV-42722、WV-

42723、WV-42724、WV-42725、WV-42726、WV-42727、WV-42728、WV-42729和WV-42730)。

[0059] 图34.所提供的包含双链体化设计的技术可以提供编辑。在一些实施例中,第一寡核苷酸(例如,双链体化寡核苷酸)包含茎环并且可以形成双链体,并且第二寡核苷酸(例如,包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸)可以用于靶向特定的转录物。在一些实施例中,第一和第二寡核苷酸互补序列(例如,15nt)允许它们相关联。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR多肽,例如ADAR1、ADAR2等。在图34中,组合的寡核苷酸设计靶向cLuc编码序列内的过早UAG终止密码子。HEK293T细胞用编码人ADAR1-p110或p150的质粒、荧光素酶报告构建体和指示的寡核苷酸组合进行转染。将cLuc活性相对于模拟处理的样品中的Gluc表达归一化。如所示,各种组合提供了编辑活性。

[0060] 图35.以某些寡核苷酸设计为例。(a)双链体化寡核苷酸和包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸。(b)包含茎环的双链体化寡核苷酸和包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸。

[0061] 图36.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。来自转基因模型(表达人ADARp110和人SERPINA1-Z等位基因)的原代小鼠肝细胞用靶向SERPINA1-Z等位基因的指定的GalNAc缀合型寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序测量RNA编辑。

[0062] 图37.各种寡核苷酸组合物可以提供体内编辑。给huADAR/SA1转基因小鼠模型皮下给予3x10mg/kg指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸。小鼠每隔一天给药一次,持续3天(第0、2、4天),并在第7天收集肝活检。通过桑格测序测量编辑百分比。使用具有多重比较校正的单向ANOVA(Dunnett's)来检验处理组相比于PBS组中SERPINA1-Z等位基因编辑的差异。\*\*\*\*:P值小于0.0001;\*\*\*:P值小于0.001;\*\* :P值小于0.005。通过比较每个样品的给药前值和第7天值来计算P值。

[0063] 图38.各种寡核苷酸组合物在体内编辑后可以增加血清AAT。如图37所述,在给药前和治疗后第7天从小鼠收集血清。血清中总人AAT的浓度通过市售的ELISA试剂盒(艾博抗公司(AbCam))测定。使用具有多重比较校正的匹配双因素ANOVA(Bonferroni)来检验经处理的样品中与PBS相比AAT丰度的差异。\*\*\*\*:P值小于0.0001;\*\*\*:P值小于0.001;\*\* :P值小于0.005。通过比较每个样品的给药前值和第7天值来计算P值。

[0064] 图39.所提供的寡核苷酸组合物可以降低突变体Z-AAT蛋白水平并增加血清中的野生型AAT蛋白水平。如图37所述,在给药前和治疗后第7天从小鼠收集血清。Z(突变体)与M(野生型)AAT同种型的相对丰度通过质谱法确定。然后将相对丰度应用于从ELISA获得的绝对浓度来计算每种同种型的绝对量(参见图38)。

[0065] 图40.通过各种寡核苷酸组合物进行编辑可以产生功能性野生型AAT蛋白。如图37所述,在给药前和治疗后第7天从小鼠收集血清。使用市售试剂盒(**EnzChek®**弹性蛋白酶测定试剂盒(E-12056))测定血清中的相对弹性蛋白酶抑制活性。使用具有多重比较校正的匹配双因素ANOVA(Bonferroni)来检验每个治疗组在第7天相比于给药前收集的血清中弹性蛋白酶抑制活性的差异。\*\*\*\*:P值小于0.0001;\*\*\*:P值小于0.001;\*\* :P值小于0.005。通过比较每个样品的给药前值和第7天值来计算P值。

[0066] 图41.所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用。(a)提供的寡核苷酸组合物编辑Keap1和NRF2转录物中的腺苷。用靶向Keap1或NRF2的寡核苷酸组合物和表达ADAR-p110(上条)或ADAR1-p150(下条)的质粒转染HEK293T细胞。处理后48小时收集RNA,并通过桑格测序测量Keap1和NRF2转录物的RNA编辑。“\*”:数据不可用。(b)提供的寡核苷酸技术可

以调节基因表达。用靶向NRF2或Keap1的指定的寡核苷酸和表达ADAR-p110或ADAR1-p150的质粒转染HEK293T细胞。处理后48小时收集RNA。通过qPCR测量受NRF2调节的各种基因的倍数变化。

[0067] 图42.所提供的技术可以提供稳健并且持久的体内编辑。用单次100ug ICV注射包含靶向UGP2的WV-40590寡核苷酸的寡核苷酸组合物治疗hADAR小鼠。在给药后1-16周之间测量UGP2编辑。

[0068] 图43.所提供的技术可以提供编辑。将原代人肝细胞通过裸式摄取用靶向UGP2的寡核苷酸组合物以1uM(左条)和0.3uM(右条)进行处理。处理后48小时收集RNA,并通过桑格测序测量RNA编辑(n=2个生物学重复)。

[0069] 图44.所提供的技术可以提供编辑。将人IPSC来源的神经元(iCell)通过裸式摄取用包含指定的靶向UGP2的寡核苷酸的寡核苷酸组合物以3uM(左条)和1uM(右条)进行处理。处理后6天收集RNA,并通过桑格测序测量RNA编辑(n=2个生物学重复)。

[0070] 图45.所提供的技术可以在体内提供编辑。将野生型(Wt)和hADAR小鼠用PBS(左条)或靶向UGP2的寡核苷酸组合物(中条=WV-38702,右栏=WV-48161)通过三个10mg/kg的皮下剂量(分别是第0天、第2天和第4天)进行处理。处理后1周分离小鼠肝脏并收集RNA。通过桑格测序测量RNA编辑(n=2个生物学重复)。

[0071] 图46.所提供的技术可以在包括免疫细胞的各种细胞群中进行编辑。在激活(添加PHA)或未激活(不添加PHA)条件下(左条=模拟,中间条=WV-37317含PHA,右条=WV-37317不含PHA)用靶向ACTB的寡核苷酸组合物以10uM浓度处理人PBMC。通过裸式摄取处理细胞。使用台式抗体/珠方案在处理4天分离细胞。收集RNA并通过桑格测序测量RNA编辑(n=2个生物学重复)。

[0072] 图47.所提供的技术可以在体内包括在眼中提供编辑。通过眼后室的脑室内(ICV)注射用指定剂量的靶向UGP2的寡核苷酸组合物治疗hADAR小鼠。在治疗后1周和4周分离小鼠眼并分离RNA。通过PCR和桑格测序测量RNA编辑。

[0073] 图48.所提供的技术可以在体内提供持久的编辑。将hADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因的小鼠在第0、2和4天通过皮下施用以10mg/kg剂量用靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物进行治疗。通过每周抽血在处理后的指定天收集小鼠血清。(a)人AAT蛋白的水平通过ELISA测量。。数据表示为平均值±sem。统计:匹配双因素ANOVA;ns:不显著,\*\*: $P < 0.01$ ,\*\*\*: $P < 0.001$ 。(b)质谱法和ELISA用于确定野生型(WT/M-AAT)和突变体(Z-AAT/突变体)AAT蛋白的相对比例。

[0074] 图49.所提供的技术可以提供编辑。将hADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞以指定的浓度用寡核苷酸组合物处理,该寡核苷酸组合物包含指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的GalNAc缀合型寡核苷酸。处理后48小时分离RNA,并通过桑格测序测量RNA编辑(n=2个生物学重复)。

[0075] 图50.所提供的技术可以在体内提供编辑。将hADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因的小鼠在第0、2和4天通过皮下施用以5mg/kg剂量用靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物进行治疗。在处理第7天收集小鼠肝活检。通过桑格测序在雄性(左条)和雌性(右条)小鼠(每种性别n=3只动物)中测量RNA编辑。

[0076] 图51.所提供的技术可以提供编辑。将hADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的

原代小鼠肝细胞用指定浓度的靶向SERPINA-Z等位基因的寡核苷酸组合物进行处理。处理后48小时分离RNA,并通过桑格测序测量RNA编辑(n=3个生物学重复)。

[0077] 图52.所提供的技术可以在体内提供功能性的经编辑的多肽。将hADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因的小鼠在第0、2和4天通过皮下施用以10mg/kg剂量用靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物进行治疗。通过每周抽血在指定天收集小鼠血清。通过ELISA和质谱法对人AAT蛋白的水平进行定量,以评估野生型(PiM/WT,左条)和突变体(PiZ/突变体,右条)AAT蛋白的相对比例。

[0078] 图53.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0079] 图54.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N=2个生物学重复)。

[0080] 图55.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因的编辑(N=2个生物学重复)。

[0081] 图56.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b001A、b008U、b010U、b001C、b008C、b011U、b002G、b012U等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0082] 图57.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U、b010U、b001C、b008C、b011U、b012U等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0083] 图58.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如核碱基修饰、键联修饰、糖修饰等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0084] 图59.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如Csm11、Csm12、b009Csm11、b009Csm12、Gsm11、Gsm12、Tsm11、Tsm12、L010等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0085] 图60.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、sm15等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和

SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0086] 图61.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U、b001A等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0087] 图62.所提供的技术可以提供编辑。尤其是,表明可以在各种位置使用其中R不是-H的2'-OR修饰。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0088] 图63.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0089] 图64.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0090] 图65.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0091] 图66.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0092] 图67.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、2'-MOE等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0093] 图68.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、2'-MOE等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑

(N=2个生物学重复)。

[0094] 图69.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、2'-MOE等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0095] 图70.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、2'-MOE等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0096] 图71.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、sm15等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0097] 图72.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如n001、n002、n006、n020等键联)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0098] 图73.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b001A,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、吗啉糖等)等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0099] 图74.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b001A,等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe、吗啉糖等)等)的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0100] 图75.各种最近的邻居可以提供编辑活性。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0101] 图76.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰((例如b008U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b004I、b002G、b009U等)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、2'-OMe等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0102] 图77.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种糖和核碱基修饰(例如,在b002A、b003A、b008U、b001C、Tsm11、Tsm12、b004C、b007C、2'-F、2'-OMe等中)、键联修

饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键,如n001)等)等的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0103] 图78.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种糖和核碱基修饰(例如,在b003A、b008U、b001C、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等中)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键,如n001)等)等的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0104] 图79.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种糖和核碱基(例如,在N<sub>1</sub>的dI、b001A、b003A、b008U、b001C、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等中)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键,例如n001)等)等的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0105] 图80.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种糖和核碱基(例如,在N<sub>1</sub>的dI、b001A、b002A、b003A、b008U、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等中)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键,例如n001)等)等的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0106] 图81.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种糖和核碱基(例如,在N<sub>1</sub>处的Csm11、Csm12、b009Csm11、b009Csm12等中)、键联修饰(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键,如n001)等)等的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。

[0107] 图82.包含各种类型的核苷酸间键联的寡核苷酸可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰(例如碱基修饰(例如,b008U、b014I等)、键联修饰(例如PS(硫代磷酸酯)、PN(例如磷酰基胍键,例如n001、n004、n008、n025、n026等)、糖修饰(例如2'-F、2'-OMe、2'-MOE等)等)的寡核苷酸的组合物。确认了对人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞中SERPINA1-Z等位基因中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。对于每个寡核苷酸组合物,从左到右分别为1.0uM、0.33uM、0.11uM、0.037uM。

[0108] 图83.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰及其模式的寡核苷酸的组合物。对于各种寡核苷酸组合物,确认了原代人肝细胞中UGP2中靶腺苷的编辑(N=2个生物学重复)。测试的浓度从左到右为1uM、0.1uM和0.01uM。

[0109] 图84.所提供的技术可以提供编辑。制备并评估了包含各种修饰及其模式的寡核苷酸的组合物,并在各种浓度下确认了原代人肝细胞中UGP2中靶腺苷的编辑。

[0110] 图85.所提供的技术可以在体内提供编辑。确认人ADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因的小鼠中SERPINA1-Z等位基因中的靶腺苷的体内编辑。经治疗的小鼠的血清AAT水平也增加。

[0111] 图86.所提供的技术可以在体内提供编辑。制备了包含各种核碱基(例如,b008U、次黄嘌呤等)、键联(例如PO、PS、PN(例如磷酰基胍键,例如n001)等)、糖修饰(例如,2'-F、

2'-OMe、2'-MOE等)等及其模式的寡核苷酸。确认了靶腺苷的编辑和血清AAT的增加(每组N=4只动物)。顶部:在第10天的SERPINA1编辑。底部:血清AAT倍数变化。

### 具体实施方式

[0112] 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

[0113] 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。

[0114] 如本文在本披露中使用的,除非上下文另有明确说明,否则(i)术语“一个(a)”或“一种(an)”可以理解为是指“至少一个”;(ii)术语“或”可以理解为“和/或”;(iii)术语“包含(comprising)”,“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另外的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。

[0115] 除非另有说明,否则寡核苷酸及其元件(例如,碱基序列、糖修饰、核苷酸间键联、键联磷立体化学、其模式等)的描述是从5'至3'进行的。如本领域的技术人员将理解,在一些实施例中,寡核苷酸可以作为盐形式,特别是药学上可接受的盐形式(例如,钠盐)提供和/或使用。如本领域技术人员也将理解的,在一些实施例中,组合物中的单一寡核苷酸可被认为具有相同的构成和/或结构,即使在这样的组合物(例如,液体组合物)中,特别地,这样的寡核苷酸在特定时间可能处于不同的一种或多种盐形式(并且例如在液体组合物中时,其可以溶解并且寡核苷酸链可以阴离子形式存在)。例如,本领域技术人员将理解,在给定的pH下,沿着寡核苷酸链的单个核苷酸间键联可以呈酸(H)形式,或呈多种可能的盐形式之一(例如,钠盐或不同阳离子的盐,取决于制备物或组合物中可能存在哪些离子),并且将会理解,只要它们的酸形式(例如,用H<sup>+</sup>代替所有阳离子,如果有的话)具有相同的构成和/或结构,这样的单一寡核苷酸可以适当地认为具有相同的构成和/或结构。

[0116] 脂肪族基:如本文所用,“脂肪族基”意指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元(但非芳香族)的直链(即非支链)或支链的经取代或未取代的烃链,或完全饱和或含有一个或多个不饱和单元(但非芳香族)的经取代或未取代的单环、双环或多环烃环,或其组合。在一些实施例中,脂肪族基团含有1-50个脂肪族碳原子。在一些实施例中,脂肪族基团含有1-20个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-10个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-9个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-8个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团含有1-7个脂肪族碳原子。在其他实施例中,脂肪族基团

含有1-6个脂肪族碳原子。在其他实施例中，脂肪族基团含有1-5个脂肪族碳原子，并且在其他实施例中，脂肪族基团含有1、2、3或4个脂肪族碳原子。合适的脂肪族基团包括但不限于直链或支链的经取代或未取代的烷基、烯基、炔基及其杂合物，诸如(环烷基)烷基、(环烯基)烷基或(环烷基)烯基。

[0117] 烯基：如本文所用，术语“烯基”是指如本文所定义的具有一个或多个双键的脂肪族基团。

[0118] 烷基：如本文所用，术语“烷基”以其本领域中的一般含义给出，并且可以包括饱和脂肪族基团，包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环族基)、经烷基取代的环烷基和经环烷基取代的烷基。在一些实施例中，烷基具有1-100个碳原子。在某些实施例中，直链或支链烷基的骨架中具有约1-20个碳原子(例如，直链是 $C_1-C_{20}$ ，支链是 $C_2-C_{20}$ )，替代性地具有约1-10个碳原子。在一些实施例中，环烷基环在这类环为单环、双环或多环时在其环结构中具有约3-10个碳原子，替代性地在环结构中具有约5、6或7个碳原子。在一些实施例中，烷基可以是低级烷基，其中低级烷基包含1-4个碳原子(例如，直链低级烷基是 $C_1-C_4$ )。

[0119] 炔基：如本文所用，术语“炔基”是指如本文所定义的具有一个或多个三键的脂肪族基团。

[0120] 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。

[0121] 动物：如本文中所示，术语“动物”是指动物界的任何成员。在一些实施例中，“动物”是指处于任何发育阶段的人。在一些实施例中，“动物”是指处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施例中，非人动物是哺乳动物(例如，啮齿类动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施例中，动物包括但不限于哺乳动物、鸟类、爬行动物、两栖动物、鱼类和/或蠕虫。在一些实施例中，动物可是转基因动物、经基因工程化的动物和/或克隆体。

[0122] 芳基：如本文所用，单独使用或作为较大部分如“芳烷基”、“芳烷氧基”或“芳氧基烷基”的一部分使用的术语“芳基”是指总共具有五个至三十个环成员的单环、双环或多环环系，其中体系中的至少一个环是芳香族的。在一些实施例中，芳基为总共具有五个至十四个环成员的单环、双环或多环环系，其中体系中的至少一个环是芳香族的，并且其中体系中的各环含有3至7个环成员。在一些实施例中，每个单环单元是芳香族的。在一些实施例中，芳基是联芳基。术语“芳基”与术语“芳基环”可互换使用。在本披露的某些实施例中，“芳基”是指包括但不限于苯基、联苯基、萘基、联萘基、蒽基等的芳香族环系，其可具有一个或多个取代基。如本文所用，还包括在术语“芳基”的范围内的是其中芳环与一个或多个非芳环稠合的基团，如茚满基、邻苯二甲酰亚胺基、萘啶基、啡啶基或四氢萘基等。

[0123] 特征性部分：如本文所用，术语“特征性部分”在最广泛的意义上是指下述物质部分：其存在(或不存在)与该物质的特定特征、属性或活性的存在(或不存在)相关。在一些实施例中，物质的特征性部分是在该物质中和在共享特定特征、属性或活性的相关物质中发现，而未在不共享特定特征、属性或活性的那些物质中发现的部分。在某些实施例中，特征性部分与完整物质共享至少一个功能特性。例如，在一些实施例中，蛋白质或多肽的“特征

性部分”是含有氨基酸的连续区段或氨基酸的连续区段的集合的部分，这些氨基酸区段一起是蛋白质或多肽特有的。在一些实施例中，每个这样的连续区段通常包含至少2、5、10、15、20、50或更多个氨基酸。通常，物质的特征性部分（例如，蛋白、抗体等的特征性部分）是这样的部分，其除了上文指定的序列和/或结构同一性之外，还与相关的完整物质共享至少一种功能特性。在一些实施例中，特征性部分可以是生物活性的。

[0124] 手性控制：如本文所用，“手性控制”是指控制寡核苷酸内的手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学标识。如本文所用，手性核苷酸间键联是其键联磷为手性的核苷酸间键联。在一些实施例中，通过寡核苷酸的糖和碱基部分中不存在的手性元件实现控制，例如，在一些实施例中，通过在寡核苷酸制备期间使用一种或多种手性助剂实现控制，这些手性助剂通常是寡核苷酸制备期间使用的手性亚磷酰胺的一部分。与手性控制形成对比，本领域普通技术人员将认识到，如果使用常规寡核苷酸合成来形成手性核苷酸间键联，则不使用手性助剂的这样的常规寡核苷酸合成不能控制手性核苷酸间键联处的立体化学。在一些实施例中，控制寡核苷酸内每个手性核苷酸间键联中的每个手性键联磷的立体化学标识。

[0125] 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）共享共同碱基序列，其中该多个寡核苷酸（或核酸）在一个或多个手性核苷酸间键联（手性受控的或立体限定的核苷酸间键联，其手性键联磷在组合物中呈 $R_p$ 或 $S_p$ （“立体限定的”），而非如同非手性受控的核苷酸间键联一样的随机 $R_p$ 和 $S_p$ 混合物）处共享相同的键联磷立体化学。在一些实施例中，手性受控的寡核苷酸组合物包含共享以下的多个寡核苷酸（或核酸）：1) 共同碱基序列，2) 共同骨架键联模式，以及3) 共同骨架磷修饰模式，其中该多个寡核苷酸（或核酸）在一个或多个手性核苷酸间键联（手性受控的或立体限定的核苷酸间键联，其手性键联磷在组合物中呈 $R_p$ 或 $S_p$ （“立体限定的”），而非如同非手性受控的核苷酸间键联一样的随机 $R_p$ 和 $S_p$ 混合物）处共享相同的键联磷立体化学。与非手性受控的寡核苷酸组合物中的随机水平相比，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/控制的或富集的（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%）是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中，手性受控的寡核苷酸组合物中共享共同碱基序列、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%）是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

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碱基序列、共同碱基修饰模式、共同糖修饰模式、共同核苷酸间键联类型模式、和/或共同核苷酸间键联修饰模式的所有寡核苷酸的约1%-100%（例如，约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%，或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%）。在一些实施例中，该多个寡核苷酸在约1-50个（例如，约1-10、1-20、5-10、5-20、10-15、10-20、10-25、10-30、或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20、或至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20个）手性核苷酸间键联处共享相同的立体化学。在一些实施例中，该多个寡核苷酸在约1%-100%（例如，约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%，约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%，或至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%）的手性核苷酸间键联处共享相同的立体化学。在一些实施例中，多个寡核苷酸（或核酸）共享相同的糖和/或核碱基修饰模式。在一些实施例中，多个寡核苷酸（或核酸）是相同寡核苷酸的多种形式（例如，相同寡核苷酸的酸和/或多种盐）。在一些实施例中，多个寡核苷酸（或核酸）具有相同的构成。在一些实施例中，多个寡核苷酸（或核酸）的水平为组合物中的与多个寡核苷酸（或核酸）具有相同构成的所有寡核苷酸（或核酸）的约1%-100%（例如，约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%，或约5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%，或至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%）。在一些实施例中，每个手性核苷酸间键联是手性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链具有至少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链具有至少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链具有至少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链具有至少99%的非对映纯度。在一些实施例中，水平的百分比为或至少为(DS)<sup>nc</sup>，其中DS为如本披露所述的非对映纯度（例如，90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更高），并且nc为如本披露所述的手性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,水平的百分比为或至少为(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为95%-100%。例如,当DS为99%并且nc为10时,该百分比为或至少为90%((99%)<sup>10</sup>≈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.....NxNy.....中Nx与Ny之间的键联,二聚体是NxNy)。在一些实施例中,不是所有的手性核苷酸间键联都是手性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。

[0126] 可比较的:术语“可比较的”在本文中用于描述两组(或更多组)彼此充分相似的条件或环境,以允许比较所获得的结果或观察到的现象。在一些实施例中,可比较的条件或环境的组的特征在于多个基本相同的特征和一个或少数变化的特征。本领域普通技术人员将理解,当由足够数量和类型的基本相同的特征表征时,条件的组彼此是可比较的,以保证合理的结论,即在不同组的条件或环境下获得的结果或观察到的现象的差异是由那些变化的特征的变化引起或指示的。

[0127] 环脂肪族:术语“环脂肪族(cycloaliphatic)”、“碳环(carbocycle)”、“碳环基(carbocyclyl)”、“碳环基团(carbocyclic radical)”和“碳环(carbocyclic ring)”可互换使用,并且如本文所用,是指除非另有说明否则具有3至30个环成员的如本文所述的饱和或部分不饱和但非芳香族的环状脂肪族单环、双环或多环环系。环脂肪族基团包括但不限于环丙基、环丁基、环戊基、环戊烯基、环己基、环己烯基、环庚基、环庚烯基、环辛基、环辛烯基、降莰基、金刚烷基和环辛二烯基。在一些实施例中,环脂肪族基团具有3-6个碳原子。在一些实施例中,环脂肪族基团是饱和的并且是环烷基。术语“环脂肪族”还可包括与一个或多个芳香族或非芳香族环稠合的脂肪族环,诸如十氢萘基或四氢萘基。在一些实施例中,环脂肪族基团是双环的。在一些实施例中,环脂肪族基团是三环的。在一些实施例中,环脂肪族基团是多环的。在一些实施例中,“环脂肪族”是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但非芳香族的C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>单环烃或C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub>双环或多环烃,其具有连至分子的其余部分的单一连接点,或是指完全饱和或含有一个或多个不饱和单元但非芳香族的C<sub>9</sub>-C<sub>16</sub>多环烃,其具有连至分子的其余部分的单一连接点。

[0128] 杂脂肪族:如本文所用,术语“杂脂肪族”以它在本领域中的普通含义给出,并且是

指其中一个或多个碳原子独立地被一个或多个杂原子(例如,氧、氮、硫、硅、磷等)代替的如本文所述的脂肪族基团。在一些实施例中,选自C、CH、CH<sub>2</sub>及CH<sub>3</sub>的一个或多个单元独立地被一个或多个杂原子(包括其经氧化和/或取代形式)代替。在一些实施例中,杂脂肪族基团是杂烷基。在一些实施例中,杂脂肪族基团是杂烯基。

[0129] 杂烷基:如本文所用,术语“杂烷基”以它在本领域中的普通含义给出,并且是指其中一个或多个碳原子独立地被一个或多个杂原子(例如,氧、氮、硫、硅、磷等)代替的如本文所述的烷基。杂烷基的实例包括但不限于烷氧基、聚(乙二醇)-、经烷基取代的氨基、四氢呋喃基、哌啶基、吗啉基等。

[0130] 杂芳基:如本文所用,单独使用或作为较大部分例如“杂芳烷基”或“杂芳烷氧基”的一部分使用的术语“杂芳基”和“杂芳-”是指总共具有五个至三十个环成员的单环、双环或多环体系,其中体系中的至少一个环是芳香族且至少一个芳环原子为杂原子。在一些实施例中,杂芳基是具有5至10个环原子的基团(即,单环、双环或多环),在一些实施例中具有5、6、9或10个环原子。在一些实施例中,每个单环单元是芳香族的。在一些实施例中,杂芳基具有在环状阵列中共有的6、10或14个π电子;并且除碳原子外,还具有一至五个杂原子。杂芳基包括但不限于噻吩基、呋喃基、吡咯基、咪唑基、吡啶基、三唑基、四唑基、噁唑基、异噁唑基、噁二唑基、噻唑基、异噻唑基、噻二唑基、吡啶基、哒嗪基、嘧啶基、吡嗪基、吡咯基、喹啉基、咪唑基、喹啉基、蝶啶基。在一些实施例中,杂芳基是杂联芳基,诸如联吡啶基等。如本文所用,术语“杂芳基”和“杂芳基-”还包括其中杂芳环与一个或多个芳基环、环脂肪族环或杂环基团稠合的基团,其中附接基团或附接点在杂芳环上。非限制性实例包括吡啶基、异吡啶基、苯并噻吩基、苯并呋喃基、二苯并呋喃基、吡啶基、苯并咪唑基、苯并噻唑基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、酞嗪基、喹啉基、喹喔啉基、4H-喹啉基、吡嗪基、吡啶基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噁嗪基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、以及吡啶并[2,3-b]-1,4-噁嗪-3(4H)-酮。杂芳基可以是单环的、双环的或多环的。术语“杂芳基”可以与术语“杂芳基环”、“杂芳基基团”或“杂芳香族基”互换使用,这些术语中的任一者包括任意地经取代的环。术语“杂芳烷基”是指被杂芳基取代的烷基,其中烷基部分和杂芳基部分独立地任意地经取代。

[0131] 杂原子:如本文所用,术语“杂原子”意指不是碳或氢的原子。在一些实施例中,杂原子是硼、氧、硫、氮、磷或硅(包括氮、硫、磷或硅的氧化形式;氮(例如,季铵化形式、亚胺基团中的形式等)、磷、硫、氧的带电形式;等等)。在一些实施例中,杂原子是硅、磷、氧、硫或氮。在一些实施例中,杂原子是硅、氧、硫或氮。在一些实施例中,杂原子是氧、硫或氮。

[0132] 杂环:如本文所用,术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基(heterocyclyl)”、“杂环基团(heterocyclic radical)”和“杂环(heterocyclic ring)”如本文所用可互换使用,并且是指饱和或部分不饱和且具有一个或多个杂原子环原子的单环、双环或多环部分(例如,3-30元)。在一些实施例中,杂环基团是稳定的5元至7元单环或7元至10元双环杂环部分,其是饱和或部分不饱和的且除碳原子外具有一个或多个、优选地一至四个如以上所定义的杂原子。当关于杂环的环原子使用时,术语“氮”包括经取代的氮。作为实例,在具有0-3个选自氧、硫和氮的杂原子的饱和或部分不饱和环中,氮可以是N(如在3,4-二氢-2H-吡咯基中)、NH(如在吡咯烷基中)或<sup>+</sup>NR(如在经N-取代的吡咯烷基中)。杂环可以在产生稳定结构的任何杂原子或碳原子处与其侧基附接,并且任何环原子可以任意地经取代。这样的饱和或部分不饱和的杂环基团的实例包括但不限于四氢呋喃基、四氢噻吩基、吡咯烷基、哌啶

基、吡咯啉基、四氢喹啉基、四氢异喹啉基、十氢喹啉基、噁唑烷基、哌嗪基、二噁烷基、二氧戊环基、二氮杂**萘**基、氧氮杂**萘**基、硫氮杂**萘**基、吗啉基和奎宁环基。术语“杂环(heterocycle)”、“杂环基(heterocyclyl)”、“杂环基环(heterocyclyl ring)”、“杂环基团(heterocyclic group)”、“杂环部分(heterocyclic moiety)”和“杂环基团(heterocyclic radical)”在本文中可互换使用,并且还包括其中杂环基环与一个或多个芳基、杂芳基或脂肪族环稠合的基团,诸如吡啶基、3H-吡啶基、苯并二氢吡喃基、菲啶基或四氢喹啉基。杂环基可以是单环的、双环的或多环的。术语“杂环基烷基”是指被杂环基取代的烷基,其中烷基部分和杂环基部分独立地任选地经取代。

[0133] 同一性:如本文所用,术语“同一性”是指聚合物分子之间,例如核酸分子(例如,寡核苷酸、DNA、RNA等)之间和/或多肽分子之间的整体相关性。在一些实施例中,如果聚合分子的序列是至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%相同的,则认为它们彼此“基本上相同”。例如,两个核酸或多肽序列的同一性百分比的计算可以通过为了最佳比较目的而对两个序列进行比对来进行(例如,可以在第一序列和第二序列中的一个或两个中引入缺口以实现最佳比对,并且出于比较目的,可以忽略不相同的序列)。在某些实施例中,为了比较目的而比对的序列的长度为参考序列长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少是95%或基本上100%。然后比较相应位置的核苷酸。当第一序列中的一个位置被与第二序列中相应位置相同的残基(例如,核苷酸或氨基酸)占据时,则分子在该位置是相同的。考虑到缺口的数目和每个缺口的长度(这需要引入以实现两个序列的最佳比对),两个序列之间的同一性百分比为序列共享的相同位置的数目的函数。可以使用数学算法完成序列的比较和两个序列之间的百分比同一性的确定。例如,可以使用Meyers和Miller算法(CABIOS[生物学中的计算机应用],1989,4:11-17)确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比,该算法已被并入ALIGN程序(2.0版)。在一些示例性实施例中,使用ALIGN程序进行的核酸序列比较使用PAM120权重残差表、缺口长度罚分12和缺口罚分4。替代性地,可以使用NWSgapdna.CMP矩阵,使用GCG软件包中的GAP程序确定两个核苷酸序列之间的同一性百分比。

[0134] 核苷酸间键联:如本文所用,短语“核苷酸间键联”通常是指连接寡核苷酸或核酸的核苷单元的键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸二酯键联,如在天然存在的DNA和RNA分子中广泛发现的(天然磷酸酯键联(-OP(=O)(OH)O-),如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在)。在一些实施例中,核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联(不是天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,核苷酸间键联是“经修饰的核苷酸间键联”,其中磷酸二酯键联的至少一个氧原子或-OH被不同的有机或无机部分代替。在一些实施例中,这种有机或无机部分选自= S、= Se、= NR'、-SR'、-SeR'、-N(R')<sub>2</sub>、B(R')<sub>3</sub>、-S-、-Se-和-N(R')-,其中每个R'独立地如本披露中所定义和描述的。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸三酯键联、硫代磷酸酯键联(或硫代磷酸酯二酯键联,即-OP(=O)(SH)O-,如本领域技术人员所理解的,其可以盐形式存在),或硫代磷酸三酯键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是例如PNA(肽核酸)或PMO(二氨基磷酸酯吗啉基寡聚物)键联之一。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联(例如,某些所提

供的寡核苷酸中的n001)。本领域普通技术人员理解,由于键联中存在酸或碱部分,核苷酸间键联可以在给定pH下作为阴离子或阳离子存在。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是命名为s、s1、s2、s3、s4、s5、s6、s7、s8、s9、s10、s11、s12、s13、s14、s15、s16、s17和s18的经修饰的核苷酸间键联,如WO 2017/210647中所述。

[0135] 体外:如本文所用,术语“体外”是指在人造环境中发生的事件,例如在试管或反应容器中,在细胞培养物中等,而不是在生物体(例如,动物、植物和/或微生物)内。

[0136] 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。

[0137] 键联磷:如本文所定义,短语“键联磷”用于指示所提及的特定磷原子是存在于核苷酸间键联中的磷原子,该磷原子对应于如天然存在的DNA和RNA中存在的磷酸二酯核苷酸间键联的磷原子。在一些实施例中,键联磷原子位于经修饰的核苷酸间键联中,其中磷酸二酯键联的每个氧原子任选地且独立地被有机或无机部分代替。在一些实施例中,键联磷原子是手性的(例如,如在硫代磷酸酯核苷酸间键联中)。在一些实施例中,键联磷原子是非手性的(例如,如在天然磷酸酯键联中)。

[0138] 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。

[0139] 经修饰的核苷:术语“经修饰的核苷”是指衍生自天然核苷或在化学上类似于天然核苷但包含使其与天然核苷有区别的化学修饰的部分。经修饰的核苷的非限制性实例包括在碱基和/或糖处包含修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例包括在糖处具有2'修饰的那些。经修饰的核苷的非限制性实例还包括无碱基核苷(其缺乏核碱基)。在一些实施例中,经修饰的核苷能够具有核苷的至少一种功能,例如,在能够与包含至少互补碱基序列的核酸碱基配对的聚合物中形成部分。

[0140] 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。

[0141] 经修饰的糖:术语“经修饰的糖”是指可以代替糖的部分。经修饰的糖模仿糖的空间排列、电子特性、或一些其他物理化学特性。在一些实施例中,如本披露中所述,经修饰的糖是经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。有用的2'-修饰的实例在本领域中被广泛使用并在本文中描述。在一些实施例中,2'-修饰是2'-F。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OMe。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖(例如,LNA、BNA等中使用的糖)。在一些实施例中,在寡核苷酸的情况下,经修饰的糖是不是

通常在天然RNA或DNA中发现的核糖或脱氧核糖的糖。

[0142] 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。

[0143] 核碱基:术语“核碱基”是指核酸中参与氢键合的部分,该氢键合以序列特异性方式将一条核酸链与另一条互补链结合。最常见的天然存在的核碱基是腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、尿嘧啶(U)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)。在一些实施例中,天然存在的核碱基是经修饰的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,天然存在的核碱基是甲基化的腺嘌呤、鸟嘌呤、尿嘧啶、胞嘧啶或胸腺嘧啶。在一些实施例中,核碱基包含杂芳基环,其中环原子是氮,并且当在核苷中时,氮键合至糖部分。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,氮键合至糖部分。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)。

[0144] 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。

[0145] 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、磷酸乙酰酯(phosphonoacetate)、硫代磷酸乙酰酯,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。

[0146] 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。

[0147] 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。

[0148] 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,寡核苷酸的长度为约25至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约26至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约27至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约28至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约29至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约30至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约31至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约32至约70个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约25至约60个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约25至约50个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约25至约40个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为约30至约40个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少4个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少5个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少6个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少7个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为至少8个核苷。在一些实施例中,寡核苷酸的长度为

至少9个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少10个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少11个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少12个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少15个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少16个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少17个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少18个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少19个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少20个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少25个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少26个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少27个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少28个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少29个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少30个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少31个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少32个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少33个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少34个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少35个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少36个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少37个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少38个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少39个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为至少40个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为25个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为26个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为27个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为28个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为29个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为30个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为31个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为32个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为33个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为34个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为35个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为36个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为37个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为38个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为39个核苷。在一些实施例中，寡核苷酸的长度为40个核苷。在一些实施例中，在寡核苷酸长度中计数的每个核苷独立地包含核碱基，该核碱基包含具有至少一个氮环原子的环。在一些实施例中，寡核苷酸长度中计数的每个核苷独立地包含A、T、C、G或U，或任选地经取代的A、T、C、G或U，或A、T、C、G或U的任选地经取代的互变异构体。

[0149] 寡核苷酸类型：如本文所用，短语“寡核苷酸类型”用于定义具有特定碱基序列、骨架键联模式（即，核苷酸间键联类型（例如，磷酸酯、硫代磷酸酯、硫代磷酸三酯等）的模式）、骨架手性中心模式[即，键联磷立体化学模式（Rp/Sp）]以及骨架磷修饰模式的寡核苷酸。在一些实施例中，共同的指定“类型”的寡核苷酸彼此在结构上相同。

[0150] 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,所有这样的分子属于同一类型(即,在结构上彼此相同)。然而,在一些实施例中,所提供的组合物包含多个不同类型的寡核苷酸(通常以预定的相对量)。

[0151] 任选地经取代的:如本文所述,本披露的化合物(例如,寡核苷酸)可以含有任选地经取代的部分和/或经取代的部分。通常,术语“经取代的”,无论前面是否有术语“任选地”,均意指指定部分的一个或多个氢被合适的取代基代替。除非另外指明,否则“任选地经取代的”基团可以在该基团的每个可取代位置处具有合适的取代基,并且当任何给定结构中的超过一个位置可以被选自指定群组的超过一个取代基取代时,在每一位置处的取代基可以相同或不同。在一些实施例中,任选地经取代的基团是未取代的。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。

[0152] 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; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OR}^\circ$ ;  $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$ ;  $-\text{O}-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{CH}(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{Ph}$ , 其可经 $\text{R}^\circ$ 取代;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ , 其可经 $\text{R}^\circ$ 取代;  $-\text{CH}=\text{CHPh}$ , 其可以被 $\text{R}^\circ$ 取代;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}$ -吡啶基, 其可经 $\text{R}^\circ$ 取代;  $-\text{NO}_2$ ;  $-\text{CN}$ ;  $-\text{N}_3$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OSiR}^\circ_3$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{OC}(\text{O})\text{C}(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SR}^\circ$ ;  $-\text{SC}(\text{S})\text{SR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SC}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{C}(\text{S})\text{SR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$ ;  $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{C}(\text{NOR}^\circ)\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SSR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$ ;  $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$ ;  $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$ ;  $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$ ;  $-\text{Si}(\text{R}^\circ)_3$ ;  $-\text{OSi}(\text{R}^\circ)_3$ ;  $-\text{B}(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{OB}(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{OB}(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{P}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$ ;  $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{OP}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$ ;  $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)(\text{SR}^\circ)$ ;  $-\text{SP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$ ;  $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$ ;  $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$ ;  $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$ ;  $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$ ;  $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$ ;  $-(\text{C}_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$ ; 或  $-(\text{C}_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$ , 其中每个 $\text{R}^\circ$ 可如本文所定义取代且独立地是氢;  $\text{C}_{1-20}$ 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 $\text{C}_{1-20}$ 杂脂肪族;  $-\text{CH}_2-$ ( $\text{C}_{6-14}$ 芳基);  $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}$ ( $\text{C}_{6-14}$ 芳基);  $-\text{CH}_2-$ (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 $\text{R}^\circ$ 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。

[0153]  $\text{R}^\circ$ (或由两个独立出现的 $\text{R}^\circ$ 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;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{R}^\bullet$ ;  $-(\text{卤代}\text{R}^\bullet)$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OH}$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{OR}^\bullet$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{CH}(\text{OR}^\bullet)_2$ ;  $-\text{O}(\text{卤代}\text{R}^\bullet)$ ;  $-\text{CN}$ ;  $-\text{N}_3$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{R}^\bullet$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OH}$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SR}^\bullet$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{SH}$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NH}_2$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NHR}^\bullet$ ;  $-(\text{CH}_2)_{0-2}\text{NR}^\bullet_2$ ;  $-\text{NO}_2$ ;  $-\text{SiR}^\bullet_3$ ;  $-\text{OSiR}^\bullet_3$ ;  $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^\bullet$ ;  $-(\text{C}_{1-4}$ 直链或支链亚烷基) $\text{C}(\text{O})\text{OR}^\bullet$ 或 $-\text{SSR}^\bullet$ , 其中每个 $\text{R}^\bullet$ 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 $\text{C}_{1-4}$ 脂肪族;  $-\text{CH}_2\text{Ph}$ ;  $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$ 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<sup>0</sup>的饱和碳原子上的合适的二价取代基包括=O及=S。

[0154] 例如在合适的碳原子上的合适的二价取代基独立地是以下这些：=O、=S、=NNR<sup>\*</sup><sub>2</sub>、=NNHC(O)R<sup>\*</sup>、=NNHC(O)OR<sup>\*</sup>、=NNHS(O)<sub>2</sub>R<sup>\*</sup>、=NR<sup>\*</sup>、=NOR<sup>\*</sup>、-O(C(R<sup>\*</sup>)<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>O-或-S(C(R<sup>\*</sup>)<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>S-，其中各独立出现的R<sup>\*</sup>是选自氢、可如下文所定义经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基，以及具有0至4个独立地选自氮、氧及硫的杂原子的未经取代的5元至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<sup>\*</sup>)<sub>2-3</sub>O-，其中每个独立出现的R<sup>\*</sup>选自氢、可以如下文所定义地被取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基，以及具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的未经取代的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环。

[0155] R<sup>\*</sup>的脂肪族基团上的合适的取代基独立地是卤素、-R<sup>\*</sup>、-(卤代R<sup>\*</sup>)、-OH、-OR<sup>\*</sup>、-(卤代R<sup>\*</sup>)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR<sup>\*</sup>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>\*</sup>、-NR<sup>\*</sup><sub>2</sub>或-NO<sub>2</sub>，其中每个R<sup>\*</sup>是未取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代，且独立地是C<sub>1-4</sub>脂肪族、-CH<sub>2</sub>Ph、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>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。

[0156] 在一些实施例中，可取代氮上的合适取代基独立地是 -R<sup>†</sup>、-NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(O)R<sup>†</sup>、-C(O)OR<sup>†</sup>、-C(O)C(O)R<sup>†</sup>、-C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>†</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>、-S(O)<sub>2</sub>NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(S)NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(NH)NR<sup>†</sup><sub>2</sub> 或 -N(R<sup>†</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>；其中每个R<sup>†</sup>独立地是氢，可按以下定义经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基，未取代的-OPh或具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的5-6元饱和环、部分不饱和环或芳基环，或不予上述定义向左地，但两个独立出现的R<sup>†</sup>及其一个或多个插入原子一起形成未取代的具有0-4个独立地选自氮、氧和硫的杂原子的3-12元饱和的、部分不饱和的或芳基的单环或双环。

[0157] R<sup>†</sup>的脂肪族基团上的合适的取代基独立地是卤素、-R<sup>\*</sup>、-(卤代R<sup>\*</sup>)、-OH、-OR<sup>\*</sup>、-(卤代R<sup>\*</sup>)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR<sup>\*</sup>、-NH<sub>2</sub>、-NHR<sup>\*</sup>、-NR<sup>\*</sup><sub>2</sub>或-NO<sub>2</sub>，其中每个R<sup>\*</sup>是未取代的或在前面有“卤代”的情况下仅被一个或多个卤素取代，且独立地是C<sub>1-4</sub>脂肪族基、-CH<sub>2</sub>Ph、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>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。

[0158] P-修饰：如本文所用，术语“P-修饰”是指在键联磷处除立体化学修饰以外的任何修饰。在一些实施例中，P-修饰包含添加、取代或移除与键联磷共价衔接的侧基部分。

[0159] 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。

[0160] 药物组合物：如本文所用，术语“药物组合物”是指与一种或多种药学上可接受的载剂一起配制的活性剂。在一些实施例中，活性剂以适合于在治疗方案中施用的单位剂量存在，其显示当施用于相关群体时实现预定的治疗效果的统计学显著概率。在一些实施例中，药物组合物能以固体或液体形式被特别配制以进行施用，包括适用于以下的那些：口服施用，例如，浸液(drench)(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如，针对口腔、舌下和全身吸收的那些)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、糊剂(应用于舌)；肠胃外施用，例如，作为例如无菌

溶液或悬浮液或持续释放的配制品通过皮下、肌内、静脉内或硬膜外注射；局部应用，例如，作为乳膏剂、软膏剂、或控制释放贴剂或喷雾剂应用于皮肤、肺或口腔；阴道内或直肠内，例如作为阴道栓剂、乳膏剂或泡沫剂；舌下；眼部；透皮；或经鼻、肺以及应用于其他粘膜表面。

[0161] 药学上可接受的：如本文所用，短语“药学上可接受的”是指在合理医学判断的范围内适合于与人和动物的组织接触使用而无过多毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症，与合理的效益/风险比相称的那些化合物、材料、组合物和/或剂型。

[0162] 药学上可接受的载剂：如本文所用，术语“药学上可接受的载剂”意指药学上可接受的材料、组合物或媒介物，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、乙基纤维素和乙酸纤维素；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/或聚酸酐；以及在药物配制品中采用的其他无毒相容的物质。

[0163] 药学上可接受的盐：如本文所用，术语“药学上可接受的盐”是指适合于在制药环境中使用的这样的化合物的盐，即，在合理医学判断的范围内，适合于与人和低等动物的组织接触使用而无不当毒性、刺激、过敏反应等并且与合理的效益/风险比相称的盐。药学上可接受的盐是本领域公知的。例如，S.M. Berge等人在J. Pharmaceutical Sciences [药物科学杂志]，66:1-19(1977)中详细地描述了药学上可接受的盐。在一些实施例中，药学上可接受的盐包括但不限于无毒的酸加成盐，其是使用无机酸诸如盐酸、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)。

[0164] 预定的:“预定的”意指有意选择的或非随机的或控制的,例如与随机出现、随机或在无控制的情况下达成相反。阅读本说明书的本领域普通技术人员将理解,本披露提供了以下技术,这些技术允许对将并入寡核苷酸组合物中的特定化学特征和/或立体化学特征进行选择且进一步允许具有这类化学特征和/或立体化学特征的寡核苷酸组合物的受控制备。这样的所提供的组合物是如本文所述的“预定的”。因为某些寡核苷酸通过不进行控制以有意产生特定化学特征和/或立体化学特征的过程而偶然产生,所以可能含有这些寡核苷酸的组合物不是“预定的”组合物。在一些实施例中,预定的组合物是可有意识地复制(例如,通过对经控制的过程的重复)的组合物。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的预定水平意指组合物中该多个寡核苷酸的绝对量和/或相对量(比率、百分比等)是经控制的。在一些实施例中,组合物中多个寡核苷酸的预定水平通过手性受控的寡核苷酸制备而获得。

[0165] 保护基:如本文所用,术语“保护基”是本领域熟知的并且包括在Protecting Groups in Organic Synthesis[有机合成中的保护基]T.W.Greene和P.G.M.Wuts,第3版,John Wiley&Sons[约翰威利父子公司],1999(其全部内容通过援引并入本文)中详细描述的那些。还包括那些特别适用于核苷和核苷酸化学的保护基,这些保护基在由Serge L.Beaucage等人在2012年6月编辑的Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry[核酸化学实验室指南]中描述,将章节2的全部内容通过援引并入本文。合适的氨基保护基包括氨基甲酸甲酯、氨基甲酸乙酯、氨基甲酸9-苄基甲酯(Fmoc)、氨基甲酸9-(2-磺基)苄基甲酯、氨基甲酸9-(2,7-二溴)苄基甲酯、氨基甲酸2,7-二叔丁酯-[9-(10,10-二氧代-10,10,10,10-四氢噻吨基)]甲酯(DBD-Tmoc)、氨基甲酸4-甲氧基苯甲酰甲酯(Phenoc)、氨基甲酸2,2,2-三氯乙酯(Troc)、氨基甲酸2-三甲基甲硅烷基乙酯(Teoc)、氨基甲酸2-苯基乙酯(hZ)、氨基甲酸1-(1-金刚烷基)-1-甲基乙酯(Adpoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-卤代乙酯、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2-二溴乙酯(DB-t-BOC)、氨基甲酸1,1-二甲基-2,2,2-三氯乙酯(TCBOC)、氨基甲酸1-甲基-1-(4-联苯基)乙酯(Bpoc)、氨基甲酸1-(3,5-二叔丁基苯基)-1-甲基乙酯(t-Bumeoc)、氨基甲酸2-(2'-和4'-吡啶基)乙酯(Pyoc)、氨基甲酸2-(N,N-二环己

基甲酰胺基)乙酯、氨基甲酸叔丁酯(BOC)、氨基甲酸1-金刚烷基酯(Adoc)、氨基甲酸乙烯基酯(Voc)、氨基甲酸烯丙基酯(Alloc)、氨基甲酸1-异丙基烯丙基酯(Ipaoc)、氨基甲酸肉桂基酯(Coc)、氨基甲酸4-硝基肉桂基酯(Noc)、氨基甲酸8-喹啉基酯、氨基甲酸N-羟基哌啶基酯、氨基甲酸烷基二硫酯、氨基甲酸苄基酯(Cbz)、氨基甲酸对甲氧基苄基酯(Moz)、氨基甲酸对硝基苄基酯、氨基甲酸对溴苄基酯、氨基甲酸对氯苄基酯、氨基甲酸2,4-二氯苄基酯、氨基甲酸4-甲基亚磺酰基苄基酯(Msz)、氨基甲酸9-蒎基甲基酯、氨基甲酸二苯基甲基酯、氨基甲酸2-甲基硫代乙基酯、氨基甲酸2-甲基磺酰基乙基酯、氨基甲酸2-(对甲苯磺酰基)乙基酯、氨基甲酸[2-(1,3-二噻烷基)]甲基酯(Dmoc)、氨基甲酸4-甲基苯硫基酯(Mtpc)、氨基甲酸2,4-二甲基苯硫基酯(Bmpc)、氨基甲酸2-膦酰基乙酯(Peoc)、氨基甲酸2-三苯基膦酰异丙酯(Ppoc)、氨基甲酸1,1-二甲基-2-氰乙基酯、氨基甲酸间氯对酰氧基苄基酯、氨基甲酸对(二羟基硼基)苄基酯、氨基甲酸5-苯并异噁唑基甲基酯、氨基甲酸2-(三氟甲基)-6-色酮基甲基酯(Tcroc)、氨基甲酸间硝基苄基酯、氨基甲酸3,5-二甲氧基苄基酯、氨基甲酸邻硝基苄基酯、氨基甲酸3,4-二甲氧基-6-硝基苄基酯、氨基甲酸苯基(邻硝基苯基)甲基酯、吩噻嗪基-(10)-羰基衍生物、N'-对甲苯磺酰基氨基羰基衍生物、N'-苯基氨基硫代羰基衍生物、氨基甲酸叔戊酯、硫代氨基甲酸S-苄基酯、氨基甲酸对氰基苄基酯、氨基甲酸环丁基酯、氨基甲酸环己基酯、氨基甲酸环戊基酯、氨基甲酸环丙基甲基酯、氨基甲酸对癸氧基苄基酯、氨基甲酸2,2-二甲氧基羰基乙烯基酯、氨基甲酸邻-(N,N-二甲基甲酰胺基)苄基酯、氨基甲酸1,1-二甲基-3-(N,N-二甲基甲酰胺基)丙基酯、氨基甲酸1,1-二甲基丙炔基酯、氨基甲酸二(2-吡啶基)甲基酯、氨基甲酸2-咪喃基甲基酯、氨基甲酸2-碘乙基酯、氨基甲酸异冰片基酯、氨基甲酸异丁基酯、氨基甲酸异烟酯、氨基甲酸对(对'-甲氧基苯基偶氮)苄基酯、氨基甲酸1-甲基环丁基酯、氨基甲酸1-甲基环己基酯、氨基甲酸1-甲基-1-环丙基甲基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(3,5-二甲氧基苯基)乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(对苯基偶氮基苯基)乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-苯基乙基酯、氨基甲酸1-甲基-1-(4-吡啶基)乙基酯、氨基甲酸苯基酯、氨基甲酸对(苯偶氮基)苄基酯、氨基甲酸2,4,6-三叔丁基苯基酯、氨基甲酸4-(三甲基铵)苄基酯、氨基甲酸2,4,6-三甲基苄基酯、甲酰胺、乙酰胺、氯乙酰胺、三氯乙酰胺、三氟乙酰胺、苯乙酰胺、3-苯基丙酰胺、吡啶酰胺、3-吡啶基甲酰胺、N-苯甲酰基苯基丙氨酰基衍生物、苯甲酰胺、对苯基苯甲酰胺、邻硝基苯基乙酰胺、邻硝基苯氧基乙酰胺、乙酰乙酰胺、(N'-二硫代苄基氧基羰基氨基)乙酰胺、3-(对羟基苯基)丙酰胺、3-(邻硝基苯基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻硝基苯氧基)丙酰胺、2-甲基-2-(邻苯基偶氮基苯氧基)丙酰胺、4-氯丁酰胺、3-甲基-3-硝基丁酰胺、邻硝基肉桂酰胺、N-乙酰基蛋氨酸衍生物、邻硝基苯甲酰胺、邻(苯甲酰基氧基甲基)苯甲酰胺、4,5-二苯基-3-噁唑啉-2-酮、N-邻苯二甲酰亚胺、N-二噻丁二酰亚胺(Dts)、N-2,3-二苯基马来酰亚胺、N-2,5-二甲基吡咯、N-1,1,4,4-四甲基二甲硅烷基氮杂环戊烷加合物(STABASE)、5-取代的1,3-二甲基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、5-取代的1,3-二苄基-1,3,5-三氮杂环己-2-酮、1-取代的3,5-二硝基-4-吡啶酮、N-甲胺、N-烯丙胺、N-[2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基]甲胺(SEM)、N-3-乙酰氧基丙胺、N-(1-异丙基-4-硝基-2-氧代-3-吡咯啉-3-基)胺、季铵盐、N-苄基胺、N-二(4-甲氧基苯基)甲胺、N-5-二苯并环庚胺、N-三苯基甲胺(Tr)、N-[4-甲氧基苯基]二苯基甲基胺(MMTr)、N-9-苯基苄基胺(PhF)、N-2,7-二氯-9-苄基亚甲胺、N-二茂铁基甲基氨基(Fcm)、N-2-吡啶甲基氨基N'-氧化物、N-1,1-二甲基硫代亚甲基胺、N-亚苄基胺、N-对甲氧基亚苄基胺、N-二苯基亚甲基

胺、N-[(2-吡啶基)均三甲苯基]亚甲基胺、N-(N',N'-二甲氨基亚甲基)胺、N,N'-异亚丙基二胺、N-对硝基苄基胺、N-亚水杨基胺、N-5-氯亚水杨基胺、N-(5-氯-2-羟基苯基)苄基亚甲基胺、N-环亚己基胺、N-(5,5-二甲基-3-氧代-1-环己烯基)胺、N-硼烷衍生物、N-二苯基硼酸衍生物、N-[苯基(五羰基铬-或钨)羰基]胺、N-铜螯合物、N-锌螯合物、N-硝基胺、N-亚硝基胺、胺N-氧化物、二苯基膦酰胺(dpp)、二甲基硫代膦酰胺(Mpt)、二苯基硫代膦酰胺(Ppt)、二烷基氨基磷酸酯、二苄基氨基磷酸酯、二苯基氨基磷酸酯、苯亚磺酰胺、邻硝基苯亚磺酰胺(Nps)、2,4-二硝基苯亚磺酰胺、五氯苯亚磺酰胺、2-硝基-4-甲氧基苯亚磺酰胺、三苯基甲基亚磺酰胺、3-硝基吡啶亚磺酰胺(Npys)、对甲苯磺酰胺(Ts)、苯磺酰胺、2,3,6-三甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mtr)、2,4,6-三甲氧基苯磺酰胺(Mtb)、2,6-二甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Pme)、2,3,5,6-四甲基-4-甲氧基苯磺酰胺(Mte)、4-甲氧基苯磺酰胺(Mbs)、2,4,6-三甲基苯磺酰胺(Mts)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯磺酰胺(iMds)、2,2,5,7,8-五甲基苯并二氢吡喃-6-磺酰胺(Pmc)、甲磺酰胺(Ms)、 $\beta$ -三甲基甲硅烷基乙磺酰胺(SES)、9-蒎磺酰胺、4-(4',8'-二甲氧基萘基甲基)苯磺酰胺(DNMBS)、苄基磺酰胺、三氟甲基磺酰胺和苯甲酰甲基磺酰胺。

[0166] 适当保护的羧酸进一步包括但不限于甲硅烷基-、烷基-、烯基-、芳基-、和芳基烷基-保护的羧酸。合适的甲硅烷基基团的实例包括三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基联苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基等。合适的烷基基团的实例包括甲基、苄基、对甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、三苯甲基、叔丁基、四氢吡喃-2-基。合适的烯基的实例包括烯丙基。合适的芳基的实例包括任选地经取代的苯基、联苯基、或萘基。合适的芳基烷基的实例包括任选地经取代的苄基(例如,对甲氧基苄基(MPM)、3,4-二甲氧基苄基、邻硝基苄基、对硝基苄基、对卤代苄基、2,6-二氯苄基、对氰基苄基),以及2-吡啶甲基和4-吡啶甲基。

[0167] 合适的羟基保护基包括甲基、甲氧基甲基(MOM)、甲基硫代甲基(MTM)、叔丁基硫代甲基、(苯基二甲基甲硅烷基)甲氧基甲基(SMOM)、苄基氧基甲基(BOM)、对甲氧基苄基氧基甲基(PMBM)、(4-甲氧基苯氧基)甲基(对-AOM)、愈创木酚甲基(GUM)、叔丁氧基甲基、4-戊烯基氧基甲基(POM)、甲硅烷氧基甲基、2-甲氧基乙氧基甲基(MEM)、2,2,2-三氯乙氧基甲基、二(2-氯乙氧基)甲基、2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基甲基(SEMOR)、四氢吡喃基(THP)、3-溴四氢吡喃基、四氢噻喃基、1-甲氧基环己基、4-甲氧基四氢吡喃基(MTHP)、4-甲氧基四氢噻喃基、4-甲氧基四氢噻喃基S,S-二氧化物、1-[(2-氯代-4-甲基)苯基]-4-甲氧基哌啶-4-基(CTMP)、1,4-二噁烷-2-基、四氢呋喃基、四氢噻吩基(tetrahydrothiofuranyl)、2,3,3a,4,5,6,7,7a-八氢-7,8,8-三甲基-4,7-桥亚甲基苯并呋喃-2-基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、1-甲基-1-甲氧基乙基、1-甲基-1-苄基氧基乙基、1-甲基-1-苄基氧基-2-氟乙基、2,2,2-三氯乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、2-(苯基氢硒基)乙基、叔丁基、烯丙基、对氯苄基、对甲氧基苄基、2,4-二硝基苄基、苄基、对甲氧基苄基、3,4-二甲氧基苄基、邻硝基苄基、对硝基苄基、对卤代苄基、2,6-二氯苄基、对氰基苄基、对苯基苄基、2-吡啶甲基、4-吡啶甲基、3-甲基-2-吡啶甲基N-氧化基、二苯基甲基、p,p'-二硝基二苯甲基、5-二苯并环庚基、三苯基甲基、 $\alpha$ -萘基二苯基甲基、对甲氧基苄基二苯基甲基、二(对甲氧基苄基)苄基甲基、三(对甲氧基苄基)甲基、4-(4'-溴苯酰基氧基苄基)二苯基甲基、4,4',4''-三(4,5-二氯邻苯二甲酰亚胺基苄基)甲基、4,4',4''-三(乙酰丙酰基氧基苄基)甲基、4,4',4''-三(苯甲酰基

氧基苯基)甲基、3-(咪唑-1-基)二(4',4''-二甲氧基苯基)甲基、1,1-二(4-甲氧基苯基)-1'-苄基甲基、9-蒎基、9-(9-苯基)吨基、9-(9-苯基-10-氧代)蒎基、1,3-苯并二硫烷-2-基、苯并异噻唑基S,S-二氧化基、三甲基甲硅烷基(TMS)、三乙基甲硅烷基(TEs)、三异丙基甲硅烷基(TIPS)、二甲基异丙基甲硅烷基(IPDMS)、二乙基异丙基甲硅烷基(DEIPS)、二甲基叔己基(hexyl)甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基(TBDMS)、叔丁基二苯基甲硅烷基(TBDPS)、三苄基甲硅烷基、三对二甲苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、二苯基甲基甲硅烷基(DPMS)、叔丁基甲氧基苯基甲硅烷基(TBMPs)、甲酸酯、苯甲酰甲酸酯、乙酸酯、氯乙酸酯、二氯乙酸酯、三氯乙酸酯、三氟乙酸酯、甲氧基乙酸酯、三苯基甲氧基乙酸酯、苯氧基乙酸酯、对氯苯氧基乙酸酯、3-苯基丙酸酯、4-氧代戊酸酯(乙酰丙酸酯)、4,4-(亚乙基二硫代)戊酸酯(乙酰丙酰基二硫代乙缩醛)、新戊酸酯、金刚酸酯(adamantoate)、巴豆酸酯、4-甲氧基巴豆酸酯、苯甲酸酯、对苯基苯甲酸酯、2,4,6-三甲基苯甲酸酯(菜酸酯(mesitoate))、烷基甲基碳酸酯、9-苄基甲基碳酸酯(Fmoc)、烷基乙基碳酸酯、烷基2,2,2-三氯乙基碳酸酯(Troc)、2-(三甲基甲硅烷基)乙基碳酸酯(TMSEC)、2-(苯基磺酰基)乙基碳酸酯(Psec)、2-(三苯基磷鎓基)乙基碳酸酯(Peoc)、烷基异丁基碳酸酯、烷基乙烯基碳酸酯、烷基烯丙基碳酸酯、烷基对硝基苯基碳酸酯、烷基苄基碳酸酯、烷基对甲氧基苄基碳酸酯、烷基3,4-二甲氧基苄基碳酸酯、烷基邻硝基苄基碳酸酯、烷基对硝基苄基碳酸酯、烷基S-苄基硫代碳酸酯、4-乙氧基-1-萘基碳酸酯、二硫代碳酸甲酯、2-碘苯甲酸酯、4-叠氮基丁酸酯、4-硝基-4-甲基戊酸酯、邻-(二溴甲基)苯甲酸酯、2-甲酰基苯磺酸酯、2-(甲硫基甲氧基)乙基、4-(甲硫基甲氧基)丁酸酯、2-(甲硫基甲氧基甲基)苯甲酸酯、2,6-二氯-4-甲基苯氧基乙酸酯、2,6-二氯-4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基乙酸酯、2,4-二(1,1-二甲基丙基)苯氧基乙酸酯、氯二苯基乙酸酯、异丁酸酯、单琥珀酸酯、(E)-2-甲基-2-丁烯酸酯、对-(甲氧基羰基)苯甲酸酯、 $\alpha$ -萘甲酸酯、硝酸酯、烷基N,N,N',N'-四甲基二氨基磷酸酯、烷基N-苯基氨基甲酸酯、硼酸酯、二甲基硫磷基、烷基2,4-二硝基苯基次磺酸酯、硫酸酯、甲磺酸酯(methanesulfonate, mesylate)、苄基磺酸酯以及甲苯磺酸酯(Ts)。为了保护1,2-二醇或1,3-二醇,保护基包括亚甲基缩醛、亚乙基缩醛、1-叔丁基亚乙基缩酮、1-苯基亚乙基缩酮、(4-甲氧基苯基)亚乙基缩醛、2,2,2-三氯亚乙基缩醛、缩丙酮、亚环戊基缩酮、亚环己基缩酮、亚环庚基缩酮、亚苄基缩醛、对-甲氧基亚苄基缩醛、2,4-二甲氧基亚苄基缩酮、3,4-二甲氧基亚苄基缩醛、2-硝基亚苄基缩醛、甲氧基亚甲基缩醛、乙氧基亚甲基缩醛、二甲氧基亚甲基原酸酯、1-甲氧基亚乙基原酸酯、1-乙氧基亚乙基原酸酯、1,2-二甲氧基亚乙基原酸酯、 $\alpha$ -甲氧基亚苄基原酸酯、1-(N,N-二甲基氨基)亚乙基衍生物、 $\alpha$ -(N,N'-二甲基氨基)亚苄基衍生物、2-氧杂亚环戊基原酸酯、二-叔丁基亚甲硅烷基(DTBS)、1,3-(1,1,3,3-四异丙基二硅氧烷亚基)衍生物(TIPDS)、四-叔丁氧基二硅氧烷-1,3-二亚基衍生物(TBDS)、碳酸酯、环硼酸酯、乙基硼酸酯和苯基硼酸酯。

[0168] 在一些实施例中,羟基保护基是乙酰基、叔丁基、叔丁氧基甲基、甲氧基甲基、四氢吡喃基、1-乙氧基乙基、1-(2-氯乙氧基)乙基、2-三甲基甲硅烷基乙基、对氯苯基、2,4-二硝基苯基、苄基、苯甲酰基、对苯基苯甲酰基、2,6-二氯苄基、联苯基甲基、对硝基苄基、三苯基甲基(三苯甲基)、4,4'-二甲氧基三苯甲基、三甲基甲硅烷基、三乙基甲硅烷基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基联苯基甲硅烷基、三苯基甲硅烷基、三异丙基甲硅烷基、苯甲酰基甲酸酯、氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、新戊酰基、9-苄基甲基碳酸酯、甲磺酸酯、甲苯磺酸

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

[0169] 受试者:如本文所用,术语“受试者”或“测试受试者”是指任何生物体,根据本披露向该生物体施用化合物(例如,寡核苷酸)或组合物,例如用于实验、诊断、预防和/或治疗目的。通常的受试者包括动物(例如,哺乳动物,如小鼠、大鼠、兔、非人灵长类动物、和人;昆虫;蠕虫;等)和植物。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者可能患有和/或易患疾病、障碍和/或病症。

[0170] 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。与第二序列基本上相同或互补的碱基序列与第二序列不完全相同或互补,但与第二序列大部分或几乎相同或互补。在一些实施例中,具有与另一寡核苷酸或核酸基本上互补的序列的寡核苷酸以与具有完全互补序列的寡核苷酸类似的方式与该寡核苷酸或核酸形成双链体。此外,生物和/或化学领域的普通技术人员应当理解的是生物学和化学现象(如果有的话)很少会达到完成和/或进行到完成或实现或避免绝对的结果。因此,术语“基本上”被用在此处用来获得在许多生物学和/或化学现象中潜在地缺少的内在的完全性。

[0171] 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。

[0172] 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。

[0173] 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。

[0174] 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病率的量。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。

[0175] 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。

[0176] 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。

[0177] 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。

[0178] 如本领域技术人员将理解的,本文描述的涉及所提供的化合物(例如,寡核苷酸)的方法和组合物通常也适用于这样的化合物的药学上可接受的盐。

#### 某些实施例的描述

[0179] 寡核苷酸可用于多种应用,例如治疗、诊断和研究应用。天然存在的核酸的用途受到例如它们对内切和外切核酸酶的敏感性的限制。这样,已经开发了多种合成的对应物来规避这些缺点和/或进一步改善多种特性和活性。这些合成对应物包括含有化学修饰的合成寡核苷酸,这些化学修饰例如为碱基修饰、糖修饰、骨架修饰等,其尤其使得这些分子不太容易降解且改善了寡核苷酸的其他特性和/或活性。

[0180] 从结构的角度来看,对核苷酸间键联的修饰会引入手性,并且某些特性和活性可能会受到寡核苷酸的键联磷原子构型的影响。例如,骨架键联磷原子的手性尤其会影响结合亲和力、与互补RNA的序列特异性结合、对核酸酶的稳定性、活性、递送、药代动力学等。

[0181] 尤其是,本披露利用用于控制多种结构元件例如糖修饰及其模式、核碱基修饰及其模式、经修饰的核苷酸间键联及其模式、键联磷立体化学及其模式、另外的化学部分(通常不在寡核苷酸链中的部分)及其模式等的技术。由于能够完全控制寡核苷酸的结构元件,本披露提供了具有改进的和/或新的特性和/或活性的寡核苷酸,其用于多种应用,例如作为治疗剂、探针等。例如,如本文所展示,所提供的寡核苷酸及其组合物对于编辑靶核酸中的靶腺苷特别有效,以在一些实施例中通过将A转化成I来校正G至A突变。

[0182] 在一些实施例中,寡核苷酸包含与核酸(例如,DNA、前体mRNA、mRNA等)的4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60,典型地15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个连续碱基相同或者完全或基本上互补的序列。在一些实施例中,核酸是包含一个或多个靶腺苷的靶核酸。在一些实施例中,靶核酸包含一个且不多于一个靶腺苷。在一些实施例中,寡核苷酸可与靶核酸杂交。在一些实施例中,这样的杂交有利于核酸或其产物中的A被例如ADAR1、ADAR2等修饰(例如,将A转化成I)。

[0183] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有碱基序列,该碱基序列是或包含本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸或核酸的约10-40、约15-40、约20-40、或至少27、至少28、至少29、至少30、至少31、至少32、至少33、至少34个连续碱基,或与本文披露的靶RNA序列基因、转录物等互补的序列,并且其中每个T可以任选地并且独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供了如本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸或寡核苷酸组合物。

[0184] 在一些实施例中,寡核苷酸是用于在靶核酸(例如,RNA)中定点编辑核苷(例如,靶腺苷)的单链寡核苷酸。

[0185] 如本文所述,寡核苷酸可以含有一个或多个经修饰的核苷酸间键联(非天然磷酸酯键联)。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联,其键联磷是手性

的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、天然磷酸酯键联等)。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个中性核苷酸间键联。

[0186] 在一些实施例中,寡核苷酸是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸是手性纯的(或“立体纯的”,“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( $S_p$ 或 $R_p$ )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 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联,\*R代表 $R_p$ 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。

[0187] 在一些实施例中,寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个立体随机核苷酸间键联(在核苷酸碱键联处的 $R_p$ 和 $S_p$ 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,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个)手性受控的核苷酸间键联(在核苷酸碱键联处的 $R_p$ 或 $S_p$ 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。

[0188] 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,本披露的寡核苷酸为约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80-100%、90-100%、95-100%、50%-90%,或约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%立体化学纯的。

[0189] 在一些实施例中,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸

组合物是立体随机或不是手性受控的。在一些实施例中,在所提供的组合物的寡核苷酸中不存在手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,组合物中寡核苷酸的核苷酸间键联包含一个或多个手性受控的核苷酸间键联(例如,手性受控的寡核苷酸组合物)。

[0190] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,其中寡核苷酸中的一个或多个核苷酸间键联是手性受控的,并且一个或多个核苷酸间键联是立体随机的(非手性受控的)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸,其中寡核苷酸中包含手性键联磷的每个核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的碱基序列,以及相同的碱基和糖修饰。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的碱基序列,以及相同的碱基、糖和核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含具有相同组成的寡核苷酸,其中一个或多个核苷酸间键联是手性受控的,并且一个或多个核苷酸间键联是立体随机的(非手性受控的)。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含具有相同组成的寡核苷酸,其中包含手性键联磷的每个核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有寡核苷酸或具有共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0191] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备、评估和/或利用所提供的寡核苷酸及其组合物的技术。

[0192] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“一个或多个”是1-200、1-150、1-100、1-90、1-80、1-70、1-60、1-50、1-40、1-30、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个。在一些实施例中,“一个或多个”是一个。在一些实施例中,“一个或多个”是两个。在一些实施例中,“一个或多个”是三个。在一些实施例中,“一个或多个”是四个。在一些实施例中,“一个或多个”是五个。在一些实施例中,“一个或多个”是六个。在一些实施例中,“一个或多个”是七个。在一些实施例中,“一个或多个”是八个。在一些实施例中,“一个或多个”是九个。在一些实施例中,“一个或多个”是十个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少一个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少两个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少三个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少四个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少五个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少六个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少七个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少八个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少九个。在一些实施例中,“一个或多个”是至少十个。

[0193] 如本披露中使用的,在一些实施例中,“至少一个”是一个或多个。

[0194] 作为示例,针对变量描述了各种实施例,例如, $R$ 、 $R^L$ 、 $L$ 等。针对变量(例如 $R$ )描述的实施例通常适用于可以是这样的变量的所有变量(例如, $R'$ 、 $R''$ 、 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 等)。

#### 寡核苷酸

[0195] 尤其是,本披露提供了具有多种设计的寡核苷酸,其可包含如本披露所述的多种核碱基及其模式、糖及其模式、核苷酸间键联及其模式和/或另外的化学部分及其模式。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可指导靶核酸中的A至I编辑。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸是能够在靶RNA序列中定点编辑腺苷(将A转化成I)的单链寡核苷酸。

[0196] 在一些实施例中,寡核苷酸具有合适的长度和序列互补性以与靶核酸特异性杂交。在一些实施例中,寡核苷酸足够长并且与靶核酸足够互补以将靶核酸与其他核酸区分开来从而降低脱靶效应。在一些实施例中,寡核苷酸足够短以有利于递送,降低制造复杂性和/或成本,从而维持所需的特性和活性(例如,腺苷的编辑)。

[0197] 在一些实施例中,寡核苷酸具有约10-200个(例如,约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200、10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列的长度为约10-60个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15-50个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约15至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约25至约34个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约26至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约27至约32个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约29至约35个核碱基。在一些实施例中,碱基序列的长度为约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为35个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为34个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为33个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为32个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为31个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为30个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为29个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为28个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为27个核碱基。在一些其他实施例中,碱基序列的长度为或至少为26个核碱基。在一些其他实施例中,双链体中互补部分的碱基序列的长度为至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、16、27、28、29、30、31、32、33、34、35个或更多个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少18个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少19个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少20个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少21个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少22个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少23个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少24个核碱基。在一些其他实施例中,其长度为至少25个核碱基。尤其是,本披露提供了与先前报道的腺苷编辑寡核苷酸相比具有相当的或更好的特性和/或相当的或更高的活性但长度更短的寡核苷酸。

[0198] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列互补(例如,与包含靶腺苷的靶核酸的一部分互补),具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对(AT、AU和CG)的错配。在一些实施例中,不存在错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个

错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。在一些实施例中,寡核苷酸可以含有不是为互补性而设计的一部分(例如,环、蛋白结合序列等,用于募集蛋白,例如ADAR)。如本领域技术人员将理解的,当计算错配和/或互补性时,可以适当地排除这样的部分。在一些实施例中,例如寡核苷酸与靶核酸之间的互补性为约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。在一些实施例中,互补性为至少约60%。在一些实施例中,互补性为至少约65%。在一些实施例中,互补性为至少约70%。在一些实施例中,互补性为至少约75%。在一些实施例中,互补性为至少约80%。在一些实施例中,互补性为至少约85%。在一些实施例中,互补性为至少约90%。在一些实施例中,互补性为至少约95%。在一些实施例中,在寡核苷酸的长度上互补性为100%。在一些实施例中,在寡核苷酸的长度上,除了在与靶核苷(例如,腺苷)相对的核苷处,互补性为100%。通常,互补性基于沃森-克里克碱基对AT、AU和CG。本领域技术人员将理解,当评估不同长度的两个序列(例如,所提供的寡核苷酸和靶核酸)的互补性时,互补性可适当地基于较短序列的长度和/或两个序列之间的最大互补性。在许多实施例中,寡核苷酸和靶核酸具有足够的互补性,使得修饰选择性地针对靶腺苷位点。

[0199] 在一些实施例中,一个或多个错配独立地是摇摆。在一些实施例中,每个错配是摇摆。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,摇摆是G-U、I-A、G-A、I-U、I-C、I-T、A-A或反向A-T。在一些实施例中,摇摆是G-U、I-A、G-A、I-U或I-C。在一些实施例中,当I是与靶核苷相对的核苷相邻的3'紧邻核苷时,I-C可以被认为匹配。在一些实施例中,形成摇摆对的碱基(例如,可以形成G-U摇摆的U)可以替代形成匹配对的碱基(例如,与G匹配的C)并且可以提供具有编辑活性的寡核苷酸。

[0200] 在一些实施例中,寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0201] 在一些实施例中,两个错配之间、错配和寡核苷酸的一端或两端(或其一部分,例如第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域)之间和/或错配和与靶腺苷相对的核苷之间的距离可独立地是0-50、0-40、0-30、0-25、0-20、0-15、0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-

9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34或35个)核碱基(不包括错配、末端核苷和与靶腺苷相对的核苷)。在一些实施例中,数目为0-30。在一些实施例中,数目为0-20。在一些实施例中,数目为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20。在一些实施例中,两个错配之间的距离为0-20。在一些实施例中,两个错配之间的距离为1-10。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的5'末端核苷之间的距离为0-20。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的5'末端核苷之间的距离为5-20。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的3'末端核苷之间的距离为0-40。在一些实施例中,错配和寡核苷酸的3'末端核苷之间的距离为5-20。在一些实施例中,错配和与靶腺苷相对的核苷之间的距离为0-20。在一些实施例中,错配和与靶腺苷相对的核苷之间的距离为1-10。在一些实施例中,对于一定距离,核碱基的数目为0。在一些实施例中,它是1。在一些实施例中,它是2。在一些实施例中,它是3。在一些实施例中,它是4。在一些实施例中,它是5。在一些实施例中,它是6。在一些实施例中,它是7。在一些实施例中,它是8。在一些实施例中,它是9。在一些实施例中,它是10。在一些实施例中,它是11。在一些实施例中,它是12。在一些实施例中,它是13。在一些实施例中,它是14。在一些实施例中,它是15。在一些实施例中,它是16。在一些实施例中,它是17。在一些实施例中,它是18。在一些实施例中,它是19。在一些实施例中,它是20。在一些实施例中,错配位于第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域或第三子结构域的末端,例如5'末端或3'末端。在一些实施例中,错配位于与靶腺苷相对的核苷处。

[0202] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以指导靶核酸中的腺苷编辑(例如,将A转化成I)并且具有由本文披露的寡核苷酸的碱基序列组成、包含该碱基序列或包含该碱基序列的一部分(例如,10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或更多个连续碱基的跨度)的碱基序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然,并且该寡核苷酸包含碱基、糖和/或核苷酸间键联的至少一种非天然存在的修饰。

[0203] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个碳水化合物部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个GalNAc部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个靶向部分。本文描述了可以与寡核苷酸链缀合的这样的另外的化学部分的非限制性实例。

[0204] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。在一些实施例中,G至A突变的校正是或包括将A转化成I,其可以在翻译或其他生物过程中被读作G。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可经由ADAR介导的脱氨来指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可通过募集内源性ADAR(例如,在靶细胞中)并且促进ADAR介导的脱氨而经由ADAR介导的脱氨来指导靶序列或其产物中的G至A突变的校正。然而,无论如何,本披露不限于任何特定机制。在一些实施例中,本披露提供了能够经由双链RNA干扰、单链RNA干扰、RNA酶H介导的敲低、翻译的空间位阻、ADAR介导的脱氨、或两个或更多个这样的机制的组合操作的寡核苷酸、组合物、方法等。

[0205] 在一些实施例中,寡核苷酸包含本文例如在表中所述的结构元件或其部分。在一些实施例中,寡核苷酸具有包含该碱基序列(或其一部分)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,在表或图中,或本文

以其他方式披露的)寡核苷酸的形式。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可指导靶序列或其产物中G至A突变的校正。

[0206] 尤其是,所提供的寡核苷酸可与其靶核酸(例如,前体mRNA、成熟mRNA等)杂交。在一些实施例中,寡核苷酸可以在RNA加工的任何阶段与靶RNA序列核酸(包括但不限于前体mRNA或成熟mRNA)杂交。在一些实施例中,寡核苷酸可与寡核苷酸核酸或其互补序列的任何元件杂交,包括但不限于:启动子区域、增强子区域、转录终止区域、翻译起始信号、翻译终止信号、编码区域、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。

[0207] 在一些实施例中,寡核苷酸与来源于靶点(例如,靶序列)的有义链的转录物的两个或更多个变体杂交。

[0208] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含水平增加的一种或多种同位素。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸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标记。在一些实施例中,所提供的组合物中的所提供的寡核苷酸(例如,组合物的多个寡核苷酸)包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰,其中这些寡核苷酸含有富集水平的氘。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在一个或多个位置被氘标记(用 $^2\text{H}$ 代替 $^1\text{H}$ )。在一些实施例中,寡核苷酸链或与该寡核苷酸链缀合的任何部分(例如,靶向部分等)的一个或多个 $^1\text{H}$ 经 $^2\text{H}$ 取代。这样的寡核苷酸可用于本文所述的组合物和方法中。

[0209] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如本文所述的一个或多个经修饰的核碱基、一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一定水平的经修饰的核碱基、经修饰的糖和/或经修饰的核苷酸间键联,例如分别为寡核苷酸内的所有核碱基、糖和核苷酸间键联的约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。

[0210] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含约2-50个(例如,约2、3、4、5、6、7、8、9、或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50、或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等、2-40、2-30、2-25、2-20、2-15、2-10、3-40、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-40、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-40、5-30、5-25、5-20、5-

15、5-10、6-40、6-30、6-25、6-20、6-15、6-10、7-40、7-30、7-25、7-20、7-15、7-10、8-40、8-30、8-25、8-20、8-15、8-10、9-40、9-30、9-25、9-20、9-15、9-10、10-40、10-30、10-25、10-20、10-15、约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)连续的具有2'-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含2个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含3个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含4个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含5个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含6个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含7个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含8个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含9个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含10个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个2'-F修饰的糖嵌段,其中2'-F修饰的糖嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F修饰的糖嵌段独立地包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个如本文所述的连续的2'-F修饰的糖或由其组成。在一些实施例中,两个连续的2'-F修饰的糖嵌段独立地由分隔嵌段分开,该分隔嵌段包含一个或多个独立地不是2'-F修饰的糖的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分隔嵌段。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分隔嵌段。在一些实施例中,每个与第一结构域2'-F嵌段键合的第一结构域嵌段是分隔嵌段。在一些实施例中,每个与第一结构域分隔嵌段键合的第一结构域嵌段是第一结构域2'-F嵌段。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地未经2'-F修饰。在一些实施例中,分隔嵌段中的两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)或所有糖独立地未经2'-F修饰。在一些实施例中,分隔嵌段包含一个或多个双环糖(例如,LNA糖、cEt糖等)和/或一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,两个或更多个非2'-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,两个或更多个2'-OR修饰的糖是连续的,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE糖。在一些实施例中,分隔嵌段包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中2'-F修饰的糖没有彼此相邻。在一些实施例中,分隔嵌段不包含2'-F修饰的糖。在一些

实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段包含2'-OMe糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分隔嵌段独立地包含1、2、3、4或5个核苷。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分隔嵌段独立地包含1、2或3个核苷。

[0211] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是经修饰的糖。在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是独立选自2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基糖和双环糖(例如,LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,百分比为约或至少约30%。在一些实施例中,百分比为约或至少约40%。在一些实施例中,百分比为约或至少约50%。在一些实施例中,百分比为约或至少约60%。在一些实施例中,百分比为约或至少约70%。在一些实施例中,百分比为约或至少约80%。在一些实施例中,百分比为约或至少约90%。在一些实施例中,百分比为约或至少约95%。

[0212] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是独立选自2'-F修饰的糖和2'-OR修饰的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基糖。在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-

80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是独立地选自2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖和2'-MOE修饰的糖的经修饰的糖。在一些实施例中，百分比为约或至少约30%。在一些实施例中，百分比为约或至少约40%。在一些实施例中，百分比为约或至少约50%。在一些实施例中，百分比为约或至少约60%。在一些实施例中，百分比为约或至少约70%。在一些实施例中，百分比为约或至少约80%。在一些实施例中，百分比为约或至少约90%。在一些实施例中，百分比为约或至少约95%。

[0213] 在一些实施例中，所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是独立地选自2'-F修饰的糖和2'-OMe修饰的糖的经修饰的糖。在一些实施例中，百分比为约或至少约30%。在一些实施例中，百分比为约或至少约40%。在一些实施例中，百分比为约或至少约50%。在一些实施例中，百分比为约或至少约60%。在一些实施例中，百分比为约或至少约70%。在一些实施例中，百分比为约或至少约80%。在一些实施例中，百分比为约或至少约90%。在一些实施例中，百分比为约或至少约95%。

[0214] 在一些实施例中，所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是2'-F修饰的糖。在一些实施例中，百分比为约或至少约30%。在一些实施例中，百分比为约或至少约40%。在一些实施例中，百分比为约或至少约50%。在一些实施例中，百分比为约或至少约60%。在一些实施例中，百分比为约或至少约70%。在一些实施例中，百分比为约或至少约80%。在一些实施例中，百分比为约或至少约90%。在一些实施例中，百分比为约或至少约95%。在一些实施例中，10个或更多(例如，约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个，10-50、10-40、10-30、10-25、15-50、15-40、15-30、15-25、20-50、20-40、20-30、20-25个等)糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中，寡核苷酸包含两个或更多个(例如，2-30、2-25、2-20、2-15、3-10、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个2'-F嵌段，每个嵌段独立地包含两个或

更多个(例如,2-30、2-25、2-20、2-15、3-10、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含两个或更多个如本文所述的被一个或多个如本文所述的分隔嵌段分隔的2'-F嵌段。在一些实施例中,2'-F嵌段具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,2'-F嵌段具有不超过2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过2、3、4、5、6、7、8、9、或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过9个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过8个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过7个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过6个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段中的每个糖是2'-F修饰的糖,并且每个2'-F嵌段独立地具有不超过4个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是不包含2'-F修饰的糖的嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OR修饰的糖的嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖或双环糖的嵌段。在一些实施例中,与2'-F嵌段键合的每个嵌段独立地是包含天然DNA或RNA糖、2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖的嵌段。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个核苷独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与第二结构域中的2'-F嵌段键合的第二结构域中的每个核苷独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0215] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、

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

[0216] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,百分比为约或至少约30%。在一些实施例中,百分比为约或至少约40%。在一些实施例中,百分比为约或至少约50%。在一些实施例中,百分比为约或至少约60%。在一些实施例中,百分比为约或至少约70%。在一些实施例中,百分比为约或至少约80%。在一些实施例中,百分比为约或至少约90%。在一些实施例中,百分比为约或至少约95%。

[0217] 在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,所有糖中的约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等是2'-MOE修饰的糖。

[0218] 在一些实施例中,最前(5'末端)一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、2-10、2-9、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-10、3-9、3-8、

3-7、3-6、3-5、3-4个等)和/或最后(3'末端)一个或几个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、1-4、1-3、2-10、2-9、2-8、2-7、2-6、2-5、2-4、2-3、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、3-5、3-4个等)核苷独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最前一个或几个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后一个或几个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最前一个和最后一个或几个糖都独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地是非2'-F修饰的糖,例如,双环糖、2'-OR修饰的糖,其中R如本文所述并且不是-H(例如,任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)。在一些实施例中,它们独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,它们独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,它们独立地是2'-OMe修饰的糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖(例如,LNA、cEt等),如本文所述。在一些实施例中,最前几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最前几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖和一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖(例如,LNA、cEt等),如本文所述。在一些实施例中,最后几个糖包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最后几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含一个或多个2'-OMe修饰的糖和一个或多个2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最前几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最前几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的经修饰糖,其中每个经修饰糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最后几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的经修饰糖,其中每个经修饰糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含三个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含四个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含五个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含六个或更多个连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖包含两个或更多个(例如,2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)连续的2'-MOE修饰的糖。

[0219] 在一些实施例中,最前几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)是经修饰的糖。在一些实施例中,最前几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或

10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖是经修饰的糖,其各自独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)和双环糖(例如,包含2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的糖,其中-CH<sub>2</sub>-任选地经取代(例如,LNA糖,cEt糖(例如,(S)-cEt)))。在一些实施例中,最前几个糖中的两个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最前几个糖中的三个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最前几个糖中的四个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,一个或多个糖是连续的。在一些实施例中,最前一个、两个、三个或四个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,最前两个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最前三个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最前四个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个双环糖独立地是LNA糖或cEt糖。在一些实施例中,最前几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最前几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最前几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最前几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最前几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最前几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前两个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前三个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前四个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最前一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前两个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前三个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最前四个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个这样的经修饰的糖独立地是核苷的糖,该核苷的核碱基是任选地经取代或保护的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代或保护的互变异构体。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联,例如,n001,是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,如本文所述,第一和第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,除了第一个核苷和第二个核苷之间的核苷酸间键联之外,

与包含最前几个经修饰的糖中的一个或多个或最前几个修饰糖的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,各自是手性受控的。在一些实施例中,各自是Sp。在一些实施例中,第一个核苷任选地通过接头,例如,L001,通过其5'-端碳(在一些实施例中,通过磷酸基团)连接至另外的部分,例如Mod001。

[0220] 在一些实施例中,最后几个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖中的一个或多个(1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)是经修饰的糖。在一些实施例中,最后几个(1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个)糖中的一个或多个(1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个)糖是经修饰的糖,其各自独立地选自2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)和双环糖(例如,包含2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的糖,其中-CH<sub>2</sub>-任选地经取代(例如,LNA糖,cEt糖(例如,(S)-cEt))。在一些实施例中,最后几个糖中的两个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最后几个糖中的三个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最后几个糖中的四个或更多个是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,一个或多个糖是连续的。在一些实施例中,最后一个、两个、三个或四个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,最后两个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最后三个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,最后四个糖是经修饰的糖,各自独立地选自2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基和双环糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个双环糖独立地是LNA糖或cEt糖。在一些实施例中,最后几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最后几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最后几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最后几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最后几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖中的一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)糖中的每一个或最后几个(例如,1、2、3、4或5个)糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后两个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后三个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后四个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后一个、两个、三个、四个或更多个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后两个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后三个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后四个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个这样的经修饰的糖独立地是核苷的糖,该核苷的核碱基是任选地经取代或保护的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的任选地经取代或保护的互变异构体。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷

酸间键联,例如,n001,是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,一个或多个这样的糖独立地键合至硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,如本文所述,最后一个和倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,除了最后一个核苷和倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联,与包含最后几个经修饰的糖中的一个或多个或最后几个修饰糖的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,各自是手性受控的。在一些实施例中,各自是Sp。

[0221] 在一些实施例中,位置+1处的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置+1处的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,位置0处的糖是天然DNA糖(位置0处的核苷在比对时与靶腺苷相对)。在一些实施例中,位置-1处的糖是DNA糖。在一些实施例中,位置-2处的糖是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖(例如,包含2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的糖,其中-CH<sub>2</sub>-任选地经取代(例如,LNA糖,cET糖(例如,(S)-cEt))。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,它是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,它是双环糖。在一些实施例中,它是LNA糖。在一些实施例中,它是cEt糖。在一些实施例中,位置-3处的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置-3之后(例如,位置-4、-5、-6等)的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖(例如,包含2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的糖,其中-CH<sub>2</sub>-任选地经取代(例如,LNA糖,cET糖(例如,(S)-cEt))。在一些实施例中,各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,各自是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,各自是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,一个或多个独立地是2'-OMe修饰的糖,并且一个或多个独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,位置-1和位置-2处的核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,位置-2和-3处的核苷之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,如本文所述,最后一个和倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的3'侧的核苷之间的每个核苷酸间键联(除了位置-1和-2的核苷之间的键联、位置-2和-3的核苷之间的键联以及最后一个和倒数第二个核苷之间的键联)独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,各自是Sp。

[0222] 在一些实施例中,最前和/或最后一个或几个糖是经修饰的糖,例如双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等)。在一些实施例中,这样的糖可以增加寡核苷酸的稳定性、亲和力和/或活性。在一些实施例中,当与一个或多个另外的化学部分缀合时,寡核苷酸的5'末端和/或3'末端的糖

不是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,这样的5'末端糖不连接到另外的化学部分。在一些实施例中,5'末端糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'末端糖是缀合至另外的化学部分的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,这样的3'末端糖不连接到另外的化学部分。在一些实施例中,3'末端糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端糖是缀合至另外的化学部分的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖是相对于与靶腺苷相对的核苷的3'侧糖(例如,3'侧核苷(例如N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>等)的糖)。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-F修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个,或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,寡核苷酸的最后一个核苷的糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,它是2'-OMe修饰的糖;在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个,或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个,或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个,或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖或3'侧糖包含一个或多个,或两个或更多个连续的2'-F修饰的糖,寡核苷酸的最后一个核苷的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,与腺苷相对的核苷的3'侧的两个且不超过两个核苷独立地具有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它们在位置-4和-5。在一些实施例中,它们是寡核苷酸的倒数第二个和倒数第三个核苷。在一些实施例中,与腺苷相对的核苷的3'侧的一个且不超过一个核苷具有2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它在位置-3。在一些实施例中,它是寡核苷酸的倒数第4个核苷。

[0223] 在一些实施例中,双环糖或2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)存在于包含一个或多个(例如,1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、2-30、2-25、2-20、2-25、2-10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)糖是2'-F修饰的糖的区中。在一些实施例中,在这样的区中的如本文所述的糖的大部分是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,两个或更多个2'-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,区是第一结构域。在一些实施例中,双环糖存在于这样的区中。在一些实施例中,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基的2'-OR修饰的糖存在于这样的区中。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖存在于这样的区中。在一些实施例中,2'-MOE修饰的糖存在于这样的区中。

[0224] 在一些实施例中,位置-5、-4、-3、+1、+2、+4、+5、+6、+7和+8处(位置0是与靶腺苷相对的核苷的位置;“+”是从与靶腺苷相对的核苷向寡核苷酸的5'末端移动,并且“-”是从与靶腺苷相对的核苷向寡核苷酸的3'末端移动;例如,在5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'中,如果N<sub>0</sub>是与靶腺苷相对的核苷,则其位于位置0,并且N<sub>1</sub>位于位置+1,并且N<sub>-1</sub>位于位置-1)的一个或多个糖独立

地是2'-F修饰糖。在一些实施例中,位置+1处的糖和位置-5、-4、-3、+2、+4、+5、+6、+7和+8处的一个或多个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,位置+1位的糖和位置-5、-4、-3、+2、+4、+5、+6、+7和+8处的一个糖独立地是2'-F修饰的糖。

[0225] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个、2-10、3-10、2-5、2-4、2-3、3-5、3-4个等等)天然DNA糖。在一些实施例中,一个或多个天然DNA糖位于编辑区,例如位置+1、0和/或-1。在一些实施例中,天然DNA糖位于寡核苷酸的最前几个核苷(例如,最前1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷)内。在一些实施例中,寡核苷酸的第一、第二和/或第三核苷独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中,天然DNA糖键合至经修饰的核苷酸间键联,诸如不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联n001或硫代磷酸酯核苷酸间键联(在各种实施例中,Sp)。

[0226] 寡核苷酸可以包含各种类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至包含可改进稳定性(例如,对核酸酶的抗性)的经修饰的糖的核苷。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至双环糖。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至2'-修饰的糖。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,天然磷酸酯键联键合至2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、中性核苷酸间键联和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、磷酰基胍核苷酸间键联和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、n001和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,大多数或每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是如本文所述的Sp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001,是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001,是Sp。

[0227] 在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和中性核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和n001。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,大多数或每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是如本文所述的Sp。在一些实施例中,一个或多个(例如,1、2、3、4或5个)

硫代磷酸酯核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001,是Rp。在一些实施例中,大多数或每个不带负电荷的核苷酸间键联,例如n001,是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或n001核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,或者是中性核苷酸间键联,或者是磷酰基胍核苷酸间键联,或者是n001。

[0228] 在一些实施例中,本披露的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核碱基。根据本披露,可以将多种修饰引入糖和/或核碱基。例如,在一些实施例中,修饰是US 9006198中描述的修饰。在一些实施例中,修饰是在US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858中描述的修饰,其中每一个的糖、碱基和核苷酸间键联通过引用独立地并入本文。

[0229] 在一些实施例中,核苷中的核碱基是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。

[0230] 在一些实施例中,糖是包含2'-修饰(例如,2'-F、2'-OR,其中R是任选地经取代的脂肪族基)的经修饰的糖,或双环糖(例如,LNA糖),或无环糖(例如,UNA糖)。

[0231] 在一些实施例中,如本文所述,所提供的寡核苷酸包含一个或多个结构域,其各自独立地具有如本文所述的某些长度、修饰、键联磷立体化学等。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸,其中寡核苷酸包含各自独立地包含一个或多个核碱基的第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的一个或多个结构域和/或子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第一结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第二结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第一子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第二子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含如本文所述的第三子结构域的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个区的寡核苷酸,每个区独立地选自第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,其各自独立地如本文所述。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

第一结构域;以及

第二结构域,

其中:

该第一结构域包含一个或多个2'-F修饰；

该第二结构域包含一个或多个不具有2'-F修饰的糖。

[0232] 在一些实施例中，寡核苷酸或其部分（例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等）包含一定水平的经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中，经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中，经修饰的糖是无环糖（例如，通过断裂相应环糖的C2-C3键）。在一些实施例中，经修饰的糖包含5'-修饰。通常，除非另有说明，例如由上下文说明，否则本披露的寡核苷酸在其5'末端具有游离的5'-OH并且在其3'末端具有游离的3'-OH。在一些实施例中，寡核苷酸的5'末端糖可以包含经修饰的5'-OH。

[0233] 在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有糖的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为至少约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比为至少约90%。在一些实施例中，百分比为至少约95%。在一些实施例中，百分比为约100%。

[0234] 在一些实施例中，大多数是至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在一些实施例中，大多数是约50%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在一些实施例中，大多数为约或至少约50%。在一些实施例中，大多数为约或至少约55%。在一些实施例中，大多数为约或至少约60%。在一些实施例中，大多数为约或至少约65%。在一些实施例中，大多数为约或至少约70%。在一些实施例中，大多数为约或至少约75%。在一些实施例中，大多数为约或至少约80%。在一些实施例中，大多数为约或至少约85%。在一些实施例中，大多数为约或至少约90%。在一些实施例中，大多数为约或至少约95%。

[0235] 在一些实施例中，寡核苷酸或其部分（例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等）包含一定水平的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸或其部分（例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等）包含一定水平的手性核苷酸间键联。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-

100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为至少约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比为至少约90%。在一些实施例中，百分比为至少约95%。在一些实施例中，百分比为约100%。

[0236] 在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中，百分比为至少约50%。在一些实施例中，百分比为至少约55%。在一些实施例中，百分比为至少约60%。在一些实施例中，百分比为至少约65%。在一些实施例中，百分比为至少约70%。在一些实施例中，百分比为至少约75%。在一些实施例中，百分比为至少约80%。在一些实施例中，百分比为至少约85%。在一些实施例中，百分比为至少约90%。在一些实施例中，百分比为至少约95%。在一些实施例中，百分比为约100%。

[0237] 在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如，第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中，水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、

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

[0238] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一定水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、

65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平分别是寡核苷酸或其部分中所有手性受控的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0239] 虽然不希望受理论的束缚,但注意到在一些情况下,核苷酸间键联的Rp和Sp构型可影响由寡核苷酸和靶核酸诸如RNA形成的双链复合物的螺旋构象的结构变化,并且ADAR蛋白可通过多个结构域识别多种靶标(例如,由寡核苷酸和靶核酸诸如RNA形成的双链复合物)并与其相互作用。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物促进和/或增强寡核苷酸、靶核酸和/或ADAR蛋白的相互作用谱,以通过多种修饰的并入和/或对立体化学的控制来提供ADAR蛋白的有效腺苷修饰。

[0240] 在一些实施例中,寡核苷酸可具有或包含碱基序列;核苷酸间键联、碱基修饰、糖修饰,另外的化学部分或其模式;和/或本文例如在表中所述的任何其他结构元件。

[0241] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或组合物的特征在于,当其在系统(例如,ADAR介导的脱氨系统)中与包含靶腺苷的靶核酸接触时,靶腺苷的修饰(例如,靶A的脱氨)相对于在参考条件(例如,选自由不存在组合物、存在参考寡核苷酸或组合物及其组合组成

的组)下观察到的靶腺苷的修饰得到改善。在一些实施例中,修饰,例如ADAR介导的脱氨(例如,内源性ADAR介导的脱氨)增加10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%,或2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、40、50、60、70、80、90、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000倍或更多。

[0242] 在一些实施例中,寡核苷酸以盐形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以盐的形式提供,这些盐包含作为盐形式存在的带负电荷的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、天然磷酸酯键联等)。在一些实施例中,寡核苷酸以药学上可接受的盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以钠盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以铵盐的形式提供。在一些实施例中,寡核苷酸以金属盐例如钠盐的形式提供,其中每个带负电荷的核苷酸间键联独立地呈盐形式(例如,针对钠盐,对于硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $-O-P(O)(SNa)-O-$ ,对于天然磷酸酯键联是 $-O-P(O)(ONa)-O-$ ,等等)。

[0243] 在一些实施例中,寡核苷酸是手性受控的,其包含一个或多个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸是立体化学纯的。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其组合物基本上不含其他立体异构体。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物。

[0244] 如本文所述,本披露的寡核苷酸可以高纯度(例如,50%-100%)提供。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸具有高立体化学纯度(例如,50%-100%)。在一些实施例中,所提供的组合物中的寡核苷酸具有高立体化学纯度(例如,一种立体异构体与相同寡核苷酸的其他立体异构体相比具有高百分比(例如,50%-100%))。在一些实施例中,百分比为至少或约50%。在一些实施例中,百分比为至少或约60%。在一些实施例中,百分比为至少或约70%。在一些实施例中,百分比为至少或约75%。在一些实施例中,百分比为至少或约80%。在一些实施例中,百分比为至少或约85%。在一些实施例中,百分比为至少或约90%。在一些实施例中,百分比为至少或约95%。

#### 第一结构域

[0245] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。下文以实例描述某些实施例。

[0246] 在一些实施例中,第一结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有17个核碱基的长度。在一些实施例中,第一结构域具有18个核碱基的长度。在一

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

[0247] 在一些实施例中,第一结构域是寡核苷酸的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。

在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。

在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。

在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。

[0248] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0249] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,存在1个摇摆。在一些实施例中,存在2个摇摆。在一些实施例中,存在3个摇摆。在一些实施例中,存在4个摇摆。在一些实施例中,存在5个摇摆。在一些实施例中,存在6个摇摆。在一些实施例中,存在7个摇摆。在一些实施例中,存在8个摇摆。在一些实施例中,存在9个摇摆。在一些实施例中,存在10个摇摆。

[0250] 在一些实施例中,第一结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0251] 在一些实施例中,第一结构域与靶核酸完全互补。

[0252] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0253] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0254] 在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含约2-50个(例如,约2、3、4、5、6、7、8、9、或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50、或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等、2-40、2-30、2-25、2-20、2-15、2-10、3-40、3-30、3-25、3-20、3-15、3-10、4-40、4-30、4-25、4-20、4-15、4-10、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、6-40、6-30、6-25、6-20、6-15、6-10、7-40、7-30、7-25、7-20、7-15、7-10、8-40、8-30、8-25、8-20、8-15、8-10、9-40、9-30、9-25、9-20、9-15、9-10、10-40、10-30、10-25、10-20、10-15、约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)连续的具有2'-F修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含2个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含3个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含4个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含5个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含6个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含7个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含8个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含9个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含10个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含两个或更多个2'-F修饰的糖嵌段,其中2'-F修饰的糖嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F修饰的糖嵌段独立地包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个如本文所述的连续的2'-F修饰的糖或由其组成。在一些实施例中,两个连续的2'-F修饰的糖嵌段独立地由分隔嵌段分开,该分隔嵌段包含一个或多个独立地不是2'-F修饰的糖的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地未经2'-F修饰。在一些实施例中,分隔嵌段中的两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)或所有糖独立地未经2'-F修饰。在一些实施例中,分隔嵌段包含一个或多个双环糖(例如,LNA糖、cEt糖等)和/或一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含一个或多个2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,两个或更多个非2'-F修饰的糖是连续的。在一些实施例中,两个或更多个2'-OR修饰的糖是连续的,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,分隔嵌段包含两个或更多个(例如,2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个)连续的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE糖。在一些实施例中,分隔

嵌段包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中2'-F修饰的糖没有彼此相邻。在一些实施例中,分隔嵌段不包含2'-F修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基或双环糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,分隔嵌段包含2'-OMe糖和2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分隔嵌段独立地包含1、2、3、4或5个核苷。在一些实施例中,每个2'-F嵌段和每个分隔嵌段独立地包含1、2或3个核苷。

[0255] 在一些实施例中,第一结构域中的所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,百分比为至少约40%。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约60%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约70%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约80%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约90%。

[0256] 在一些实施例中,第一结构域不含双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含一个或

多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较低。在一些实施例中,双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平单独地或组合地为约10%-80%(例如,约10%-75%、10-70%、10%-65%、10%-60%、10%-50%、约20%-60%、约30%-60%、约20%-50%、约30%-50%、约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%等)。在一些实施例中,组合的2'-OR修饰的糖(其中R不-H)(例如,组合的2'-OMe和2'-MOE修饰的糖,如果有的话)的水平为约10-70%(例如,约10%-60%、10%-50%、约20%-60%、约30%-60%、约20%-50%、约30-50%、约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%等)。在一些实施例中,第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OMe。在一些实施例中,第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OMe。在一些实施例中,第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约40%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约30%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约25%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约20%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中不超过约10%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,如本文所述,2'-OR是2'-MOE或2'-OMe。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。在一些实施例中,第一结构域中的多个5'末端糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一结构域中的多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个)5'末端糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,来自第一结构域的5'末端的前约1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,前一个是2'-OR修饰的。在一些实施例中,前两个独立地是2'-OR修饰的。在一些实施例中,前三个独立地是2'-OR修饰的。在一些实施例中,前四个独立地是2'-OR修饰的。在一些实施例中,前五个独立地是2'-OR修饰的。在一些实施例中,结构域(例如,第一结构域)、子结构域(例如,第一子结构域)或寡核苷酸中的所有2'-OR修饰均是相同的。在一些实施例中,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。

[0257] 在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2'-OR。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2'-OMe。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2'-MOE。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2'-MOE或2'-OMe。在一些实施例中,第一结构域中没有糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中的每个糖均包含2'-F。

[0258] 在一些实施例中,第一结构域中的糖的约40-70% (例如,约40%-70%、40%-60%、50%-70%、50%-60%等,或约40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%等)被2'-F修饰,并且第一结构域中的糖的约10%-60% (例如,约10%-50%、20%-60%、30%-60%、30%-50%、40%-50%等,或约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%或60%)独立地被2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖(例如,LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,第一结构域中约20%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约25%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约30%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约35%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约40%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约50%-60%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约50%-70%的糖经2'-F修饰。在一些实施例中,第一结构域中约20%-60%的糖独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约30%-60%的糖独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约40%-60%的糖独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约30%-50%的糖独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖。在一些实施例中,第一结构域中约40%-50%的糖独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或是双环糖。在一些实施例中,第一结构域中的糖(它们独立地经2'-OR修饰(其中R不是-H)或者是双环糖)中的每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,它们中的每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,它们中的每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,它们中的每一个独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0259] 在一些实施例中,第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域中的核苷酸间键联的约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键

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

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

[0260] 在一些实施例中，第一结构域包含一定水平的Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，水平为第一结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%，10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例

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

[0261] 在一些实施例中,第一结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第一结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。

[0262] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第一结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手

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

[0263] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的键合至两个2'-OR修饰的糖的核苷酸间键联是独立的天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的键合至两个2'-OMe或2'-MOE修饰的糖的核苷酸间键联是独立的天然磷酸酯键联。

[0264] 在一些实施例中,在本披露的寡核苷酸或其一部分中,例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等,键合至两个2'-F修饰的糖的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,它独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,它独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联或Rp磷酰基胍核苷酸间键联,如Rp n001。在一些实施例中,键合至两个2'-F修饰的糖的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。

[0265] 在一些实施例中,第一结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第一结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第一结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第一结构域基本上不与ADAR的第二RBD结构域接触。在一些实施例中,第一结构域基本上不与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

### 第二结构域

[0266] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5'至3'包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。下文以实例描述第二结构域的某些实施例。在一些实施例中,第二结构域包含与待修饰(例如,转化成I)的靶腺苷相对的核苷。

[0267] 在一些实施例中,第二结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有16个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有17个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有18个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有19个核碱基的长度。在一些实施例中,第二结构域具有20个核碱基的长度。

[0268] 在一些实施例中,第二结构域是寡核苷酸的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比

为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。

在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。

在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。

在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。

[0269] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0270] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,存在1个摇摆。在一些实施例中,存在2个摇摆。在一些实施例中,存在3个摇摆。在一些实施例中,存在4个摇摆。在一些实施例中,存在5个摇摆。在一些实施例中,存在6个摇摆。在一些实施例中,存在7个摇摆。在一些实施例中,存在8个摇摆。在一些实施例中,存在9个摇摆。在一些实施例中,存在10个摇摆。

[0271] 在一些实施例中,第二结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0272] 在一些实施例中,第二结构域与靶核酸完全互补。

[0273] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0274] 在一些实施例中,第二结构域包含与靶腺苷相对的核苷,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时。在一些实施例中,相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的U,或是U的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相对的核碱基是U。

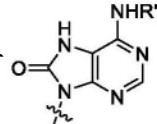
[0275] 在一些实施例中,与U相比,相对的核碱基与靶腺苷的靶腺嘌呤具有较弱的氢键合。在一些实施例中,与U相比,相对的核碱基与靶腺苷的靶腺嘌呤形成较少的氢键。在一些实施例中,相对的核碱基与蛋白(例如,ADAR)的一个或多个氨基酸残基形成一个或多个氢键,这些残基与和靶腺苷相对的U形成一个或多个氢键。在一些实施例中,相对的核碱基与ADAR的每个氨基酸残基形成一个或多个氢键,该每个氨基酸残基与和靶腺苷相对的U形成一个或多个氢键。在一些实施例中,通过减弱与靶A的氢键合和/或维持或增强与蛋白诸如ADAR1、ADAR2等的相互作用,某些相对的核碱基有利于和/或促进腺苷修饰,例如被ADAR蛋白诸如ADAR1和ADAR2修饰。

[0276] 在一些实施例中,相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的C,或是C的任选地经取代的或被保护的互变异构体。在一些实施例中,相对的核碱基是C。在一些实施例中,相

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

[0277] 在一些实施例中,核苷,例如与靶腺苷相对的核苷(也可称为“相对的核苷”)如本文所述是无碱基的(例如,具有L010、L012、L028等的结构)。

[0278] 经修饰的核碱基的许多有用的实施例,例如用于相对的核碱基,也在下面描述。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基的寡核苷酸,例如,与靶核苷如A相对的核苷,其是或包含A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I和zdnP。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基的寡核苷酸,例如,与靶核苷如A相对的核苷,其是或包含b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I和zdnP。在一些实施例中,如本文所述(例如,在各种寡核苷酸中),本披露提供了包含核碱基的寡核苷酸,例如,与靶核苷如A相对的核苷,其是或包含C、A、b007U、b001U、b001A、b002U、b001C、b003U、b002C、b004U、b003C、b005U、b002I、b006U、b003I、b008U、b009U、b002A、b003A、b001G或zdnP。在一些实施例中,核碱基是C。在一些实施例中,核碱基是A。在一些实施例中,核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,核碱基是b002I。在一些实施例中,核碱基是b003I。在一些实施例中,核碱基是b004I。在一些实施例中,核碱基是b014I。在一些实施例中,核碱基是b001C。在一些实施例中,核碱基是b002C。在一些实施例中,核碱基是b003C。在一些实施例中,核碱基是b004C。在一些实施例中,核碱基是b005C。在一些实施例中,核碱基是b006C。在一些实施例中,核碱基是b007C。在一些实施例中,核碱基是b008C。在一些实施例中,核碱基是b009C。在一些实施例中,核碱基是b001U。在一些实施例中,核碱基是b002U。在一些实施例中,核碱基是b003U。在一些实施例中,核碱基是b004U。在一些实施例中,核碱基是b005U。在一些实施例中,核碱基是b006U。在一些实施例中,核碱基是b007U。在一些实施例中,核碱基是b008U。在一些实施例中,核碱基是b009U。在一些实施例中,核碱基是b011U。在一些实施例中,核碱基是b012U。在一些实施例中,核碱基是b013U。在一些实施例中,核碱基是b001A。在一些实施例中,核碱基是b002A。在一些实施例中,核碱基是b003A。在一些实施例中,核碱基是b001G。在一些实施例中,核碱基是b002G。在一些实施例中,核碱基是zdnP。在一些实施例中,如本领域技术人员理解的,对核碱基进行

保护,例如用于寡核苷酸合成。例如,在一些实施例中,核碱基是具有  的结构

的,其中R'如本文所述。在一些实施例中,R'是-C(O)R。在一些实施例中,R'是-C(O)Ph。

[0279] 在一些实施例中,据观察,与参核碱基相比(例如,在可比较的条件下,包括,例如,在其他方面相同的寡核苷酸中、在相同或可比较的测定中评估等),各种经修饰的核碱

基(例如,b001A、b008U等)可以提供改进的腺苷编辑效率。在一些实施例中,参考核碱基是U。在一些实施例中,参考核碱基是T。在一些实施例中,参考核碱基是C。

#### 某些经修饰的核碱基

[0280] 在一些实施例中,BA是或包含环BA或其互变异构体,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,环BA是或包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,环BA是饱和的。在一些实施例中,环BA包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,环BA是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA是芳香族的。

[0281] 在一些实施例中,BA是或包含环BA,其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。在一些实施例中,环BA是或包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,环BA是饱和的。在一些实施例中,环BA包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,环BA是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA是芳香族的。

[0282] 在一些实施例中,BA是或包含环BA。在一些实施例中,BA是环BA。在一些实施例中,BA是或包含环BA的互变异构体。在一些实施例中,BA是环BA的互变异构体。

[0283] 在一些实施例中,本披露的结构含有一个或多个任选地经取代的环(例如,环BA、-Cy-、环BA<sup>A</sup>、R、由合在一起的R基团形成等)。在一些实施例中,环是具有0-10个(例如,1-10、1-5,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个等)杂原子的任选地经取代的C<sub>3-30</sub>、C<sub>3-20</sub>、C<sub>3-15</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>3-9</sub>、C<sub>3-8</sub>、C<sub>3-7</sub>、C<sub>3-6</sub>、C<sub>5-50</sub>、C<sub>5-20</sub>、C<sub>5-15</sub>、C<sub>5-10</sub>、C<sub>5-9</sub>、C<sub>5-8</sub>、C<sub>5-7</sub>、C<sub>5-6</sub>或3-30(例如,3-30、3-20、3-15、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、5-50、5-20、5-15、5-10、5-9、5-8、5-7、5-6或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30等)元单环、双环或多环。在一些实施例中,环是具有0-3个杂原子的任选地经取代的3-10元单环或双环、饱和、部分饱和的或芳香族环。在一些实施例中,环是取代的。在一些实施例中,环未被取代。在一些实施例中,环是3、4、5、6、7、8、9或10元的。在一些实施例中,环是5、6或7元的。在一些实施例中,环是5元的。在一些实施例中,环是6元的。在一些实施例中,环是7元的。在一些实施例中,环是单环的。在一些实施例中,环是双环的。在一些实施例中,环是多环的。在一些实施例中,环是饱和的。在一些实施例中,环含有至少一个不饱和度。在一些实施例中,环是部分不饱和的。在一些实施例中,环是芳香族的。在一些实施例中,环具有0-5个杂原子。在一些实施例中,环具有1-5个杂原子。在一些实施例中,环具有一个或多个杂原子。在一些实施例中,环具有1个杂原子。在一些实施例中,环具有2个杂原子。在一些实施例中,环具有3个杂原子。在一些实施例中,环具有4个杂原子。在一些实施例中,环具有5个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。在一些实施例中,环被取代,例如被一个或多个烷基和任选地被一个或多个如本文所述的其他取代基取代。在一些实施例中,取代基是甲基。

[0284] 在一些实施例中,本披露的单环、双环或多环(例如,环BA、-Cy-、环BA<sup>A</sup>、R、由合在一起的R基团形成等)的每个单环单元独立地是具有0-5个杂原子的任选地经取代的5-7元饱和、部分饱和或芳香族环。在一些实施例中,一个或多个单环单元独立地包含一个或多个不饱和度。在一些实施例中,一个或多个单环单元是饱和的。在一些实施例中,一个或多个单环单元是部分饱和的。在一些实施例中,一个或多个单环单元是芳香族的。在一些实施例中,一个或多个单环单元独立地具有1-5个杂原子。在一些实施例中,一个或多个单环单

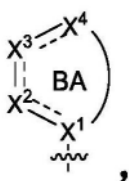
元独立地具有至少一个氮原子。在一些实施例中，每个单环单元独立地是5或6元的。在一些实施例中，单环单元是5元的。在一些实施例中，单环单元是5元的并且具有1-2个氮原子。在一些实施例中，单环单元是6元的。在一些实施例中，单环单元是6元的并且具有1-2个氮原子。除非另有说明，否则环及其单环单元是任选地经取代的。

[0285] 不希望受任何特定理论的限制，本披露认识到在一些实施例中，核碱基(例如，BA)的结构可影响与蛋白(例如，ADAR蛋白，诸如ADAR1、ADAR2等)的相互作用。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸包含可促进寡核苷酸与酶(例如，ADAR1)相互作用的核碱基。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸包含可降低碱基配对强度(例如，与A-T/U或C-G相比)的核碱基。在一些实施例中，本披露认识到，通过维持和/或增强第一核碱基与蛋白(例如，像ADAR1的酶)的相互作用(例如，氢键合)和/或减少第一核碱基与其在双链体中的另一条链上的对应核碱基(例如，A)的相互作用(例如，氢键合)，可以显著改善蛋白(例如，像ADAR1的酶)对对应核碱基的修饰。在一些实施例中，本披露提供了包含这样的第一核碱基的寡核苷酸(例如，本文所述的BA的各种实施例)。诸如第一核碱基的示例性实施例如本文所述。在一些实施例中，当包含这样的第一核碱基的寡核苷酸与另一核酸进行最大互补性比对时，第一核碱基与A相对。在一些实施例中，可以使用本披露的技术有效地修饰如在本披露的许多实施例中例示的与第一核碱基相对的这样的A。

[0286] 在一些实施例中，环BA包含部分 $\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---}$ ，其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中，环BA包含部分 $\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---X}^4\text{---}$ ，其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中，环BA包含部分 $\text{-X}^1(\text{---})\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---}$ ，其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中，环BA包含部分 $\text{-X}^1(\text{---})\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---X}^4\text{---}$ ，其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $\text{X}^1$ 与糖键合。在一些实施例中， $\text{X}^1$ 是 $\text{-N(-)-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^1$ 是 $\text{-C(=)-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^2$ 是 $\text{-C(O)-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^3$ 是 $\text{-NH-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^4$ 不是 $\text{-C(O)-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^4$ 是 $\text{-C(O)-}$ ，并且形成分子内氢键，例如，与具有相同核苷酸单元的部分(例如，在 $\text{X}^5$ 的相同BA单元内(例如，与氢键供体(例如， $\text{-OH}$ 、 $\text{SH}$ 等)))。在一些实施例中， $\text{X}^4$ 是 $\text{-C(=NH)-}$ 。在一些实施例中，环BA包含部分 $\text{---X}^{4'}\text{---X}^{5'}\text{---}$ ，其中各变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $\text{X}^{4'}$ 是 $\text{-C(O)-}$ 。在一些实施例中， $\text{X}^{5'}$ 是 $\text{-NH-}$ 。

[0287] 在一些实施例中，BA是任选地经取代的或被保护的C或其互变异构体。在一些实施例中，BA是任选地经取代的或任选地被保护的C。在一些实施例中，BA是C的任选地经取代的或任选地被保护的互变异构体。在一些实施例中，BA是C。在一些实施例中，BA是经取代的C。在一些实施例中，BA是被保护的C。在一些实施例中，BA是C的经取代的互变异构体。在一些实施例中，BA是C的被保护的互变异构体。

[0288] 在一些实施例中，环BA具有式BA-I的结构：



**BA-I**

其中:

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

每个 $\equiv$ 独立地是单键或双键;

$X^1$ 是 $-N(-)$ 或 $-C(-)=$ ;

$X^2$ 是 $-C(O)-$ 、 $-C(R^{B2})=$ 或 $-C(OR^{B2})=$ ,其中 $R^{B2}$ 是 $-L^{B2}-R'$ ;

$X^3$ 是 $-N(R^{B3})-$ 或 $-N=$ ,其中 $R^{B3}$ 是 $-L^{B3}-R'$ ;

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

$L^{B2}$ 、 $L^{B3}$ 和 $L^{B4}$ 中的每一个独立地是 $L^B$ ;

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

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

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

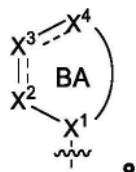
每个 $R$ 独立地是 $-H$ ,或选自以下的任选地经取代的基团: $C_{1-20}$ 脂肪族基、具有1-10个杂原子的 $C_{1-20}$ 杂脂肪族基、 $C_{6-20}$ 芳基、 $C_{6-20}$ 芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的 $C_{6-20}$ 芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-20元杂环基,或:

两个 $R$ 基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或:

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

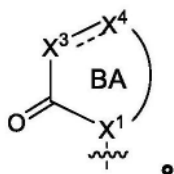
两个或更多个原子上的两个或更多个 $R$ 基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0289] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I之一)具有式BA-I-a的结构:



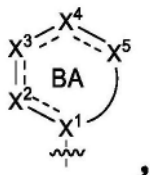
### BA-I-a

[0290] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a等之一)具有式BA-I-b的结构:



### BA-I-b

[0291] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I之一)具有式BA-II的结构:



### BA-II

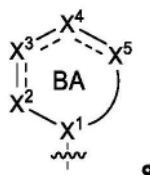
其中:

$X^5$ 是 $-C(R^{B5})_2$ 、 $-N(R^{B5})$ 、 $-C(R^{B5})=$ 、 $-C(O)$ 或 $-N=$ ,其中每个 $R^{B5}$ 独立地是卤素或 $L^{B5}-R^{B51}$ ,其中 $R^{B51}$ 是 $-R'$ 、 $-N(R')$ 、 $-OR'$ 或 $-SR'$ ;

$L^{B5}$ 是 $L^B$ ;以及

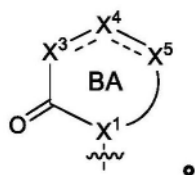
其他变量各自独立地如本文所述。

[0292] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II等之一)具有式BA-II-a的结构:



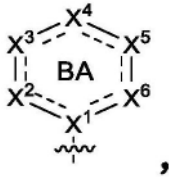
### BA-II-a

[0293] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-II-b的结构:



### BA-II-b

[0294] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-II等之一)具有式BA-III的结构:



### BA-III

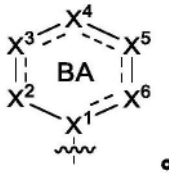
其中:

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

$L^{B6}$  是  $L^B$ ；以及

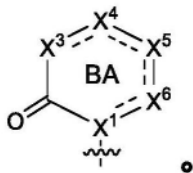
其他变量各自独立地如本文所述。

[0295] 在一些实施例中，环BA（例如，式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a、BA-III等之一）具有式BA-III-a的结构：



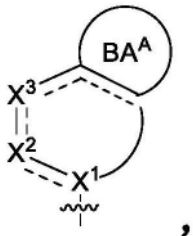
### BA-III-a

[0296] 在一些实施例中，环BA（例如，式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a等之一）具有式BA-III-b的结构：



### BA-III-b

[0297] 在一些实施例中，环BA（例如，式BA-I、BA-II等之一）具有式BA-IV的结构：

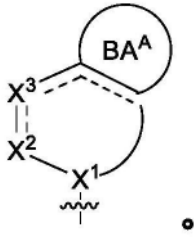


### BA-IV

其中:

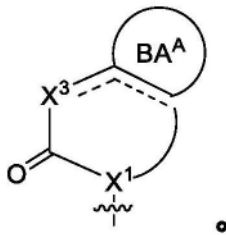
环 $BA^A$ 是具有0-5个杂原子的任选地经取代的5-14元单环、双环或多环，并且其他变量各自独立地如本文所述。

[0298] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-IV-a的结构:



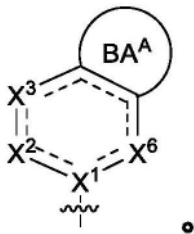
### BA-IV-a

[0299] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a等之一)具有式BA-IV-b的结构:



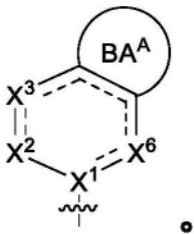
### BA-IV-b

[0300] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-II、BA-III、BA-IV等之一)具有式BA-V的结构:



### BA-V

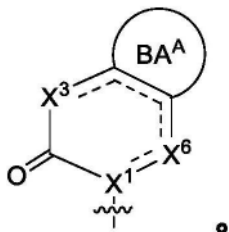
[0301] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-II、BA-II-a、BA-III、BA-III-a、BA-IV、BA-IV-a、BA-V等之一)具有式BA-V-a的结构:



### BA-V-a

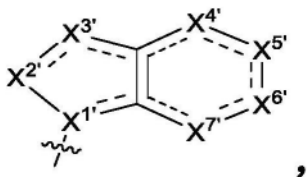
[0302] 在一些实施例中,环BA(例如,式BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a等之一)具有式BA-V-a

的结构:



**BA-V-b**

[0303] 在一些实施例中,环BA具有式BA-VI的结构:



**BA-VI**

其中:

$X^1$  是  $-N(-)$  或  $-C(-)=$ ;

$X^2$  是  $-C(O)-$  或  $-C(R^{B2'})=$ , 其中  $R^{B2'}$  是  $L^{B2'}-R'$ ;

每个  $=$  独立地是单键或双键;

$X^3$  是  $-N(R^{B3'})-$  或  $-N=$ , 其中  $R^{B3'}$  是  $-L^{B3'}-R'$ ;

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

$X^5$  是  $-N(R^{B5'})-$  或  $-N=$ , 其中  $R^{B5'}$  是  $-L^{B5'}-R'$ ;

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

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

$L^{B2'}$ 、 $L^{B3'}$ 、 $L^{B4'}$ 、 $L^{B5'}$  和  $L^{B6'}$  独立地是  $L^B$ ; 以及

其他变量各自独立地如本文所述。

[0304] 在一些实施例中,  $=$  是单键。在一些实施例中,  $=$  是双键。

[0305] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ 。在一些实施例中,  $X^1$  是  $-C(-)=$ 。

[0306] 在一些实施例中,  $X^2$  是  $-C(O)-$ 。在一些实施例中,  $X^2$  是  $-C(R^{B2'})=$ 。在一些实施例中,  $X^2$  是  $-C(OR^{B2'})=$ 。在一些实施例中,  $X^2$  是  $-CH=$ 。

[0307] 在一些实施例中,  $L^{B2}$  是共价键。

[0308] 在一些实施例中,  $R^{B2}$  是适合于寡核苷酸合成的保护基, 例如羟基保护基。在一些实施例中,  $R^{B2}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B2}$  是  $-H$ 。

[0309] 在一些实施例中,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ 。在一些实施例中,  $X^3$  是  $-NH-$ 。在一些实施例中,  $X^3$  是  $-N=$ 。

[0310] 在一些实施例中,  $L^{B3}$  是共价键。

[0311] 在一些实施例中,  $R^{B3}$  是适合于寡核苷酸合成的保护基, 例如氨基保护基 (例如, Bz)。在一些实施例中,  $R^{B3}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$  是  $-C(O)R$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$  是  $-H$ 。

[0312] 在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-CH=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(OR^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-N(R^{B4})_2)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NHR^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NHR')$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NHR')$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NH_2)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NHC(O)R)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(O)-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(O)-$ , 其中  $O$  形成分子内氢键。在一些实施例中,  $O$  与相同  $BA$  的  $X^5$  的氢键供体形成氢键。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(=NR^{B4})-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C((=NR^{B4})-$ , 其中  $N$  形成分子内氢键。在一些实施例中,  $N$  与相同  $BA$  的  $X^5$  的氢键供体形成氢键。

[0313] 在一些实施例中,  $R^{B4}-L^{B4}-R^{B41}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=O$ 、 $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$ 、 $=N-L^{B4}-R^{B41}$  或任选地经取代的  $=CH_2$  或  $=NH$ 。

[0314] 在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=O$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$ 。在一些实施例中,  $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$  是  $=CH-L^{B4}-R^{B41}$ 。在一些实施例中,  $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$  是  $=CHR'$ 。在一些实施例中,  $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$  是  $=CHR$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=N-L^{B4}-R^{B41}$ 。在一些实施例中,  $=N-L^{B4}-R^{B41}$  是  $=N-R$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=CH_2$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=NH$ 。在一些实施例中, 所形成的基团是用于寡核苷酸合成的合适的保护基, 例如氨基保护基。

[0315] 在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-N=C(-L^{B4}-R^{B41})_2)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-N=CH-L^{B4}-R^{B41})=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-N=CH-N(CH_3)_2)=$ 。

[0316] 在一些实施例中,  $X^4$  (例如,  $-C(=N-R)-$ 、 $=C(R)-$  等) 的  $R$  任选地与例如  $X^5$  的另一个  $R$  合在一起形成如本文所述的环。

[0317] 在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $-H$ 。

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

[0318] 在一些实施例中,  $L^{B4}$  是共价键。在一些实施例中,  $L^{B4}$  不是共价键。在一些实施例中, 至少一个亚甲基单元被  $-C(O)-$  代替。在一些实施例中, 至少一个亚甲基单元被  $-C(O)N(R')$  代替。在一些实施例中, 至少一个亚甲基单元被  $-N(R')$  代替。在一些实施例中, 至少一个亚甲基单元被  $-NH-$  代替。在一些实施例中,  $L^{B4}$  是或包含任选地经取代的  $-N=CH-$ 。

[0319] 在一些实施例中,  $R^{B41}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B41}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $R^{B41}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R$  是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,  $R$  是苯基。

[0320] 在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-ChR^{B5}-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-N(R^{B5})-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-NH-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R)=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-CH=$ 。在一些实施

中,  $X^5$  是  $-N=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(O)-$ 。

[0321] 在一些实施例中,  $R^{B5}$  是卤素。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-L^{B5}-R^{B51}$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-L^{B5}-R^{B51}$ , 其中  $R^{B51}$  是  $R'$ 、 $-NHR'$ 、 $-OH$  或  $-SH$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-L^{B5}-R^{B51}$ , 其中  $R^{B51}$  是  $-NHR$ 、 $-OH$  或  $-SH$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-L^{B5}-R^{B51}$ , 其中  $R^{B51}$  是  $-NH_2$ 、 $-OH$  或  $-SH$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-C(O)-R^{B51}$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $H$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-OH$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-CH_2OH$ 。

[0322] 在一些实施例中, 当  $X^4$  是  $-C(O)-$  时,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})_2-$ 、 $-C(R^{B5})=$  或  $-N(R^{B5})-$ , 其中  $R^{B5}$  是  $L^{B5}-R^{B51}$ , 其中  $R^{B51}$  是  $NHR'$ 、 $OH$  或  $-SH$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(O)-$ , 并且  $R^{B51}$  是或包含氢键供体, 其与  $X^4$  的  $O$  形成氢键。

[0323] 在一些实施例中,  $L^{B5}$  是共价键。在一些实施例中,  $L^{B5}$  是或包含  $C(O)-$ 。在一些实施例中,  $L^{B5}$  是或包含  $-O-$ 。在一些实施例中,  $L^{B5}$  是或包含  $-OC(O)-$ 。在一些实施例中,  $L^{B5}$  是或包含  $-CH_2OC(O)-$ 。

[0324] 在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-R'$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-R$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-N(R')$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-NHR'$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-NHR$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-NH_2$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-OR'$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-OR$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-OH$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-SR'$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-SR$ 。在一些实施例中,  $R^{51}$  是  $-SH$ 。在一些实施例中,  $R$  是苄基。在一些实施例中,  $R$  是任选地经取代的苄基。在一些实施例中,  $R$  是苯基。在一些实施例中,  $R$  是甲基。

[0325] 在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-C(O)-R^{B51}$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-C(O)NHCH_2Ph$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-C(O)NHPh$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-C(O)NHCH_3$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-OC(O)-R^{B51}$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-OC(O)-R$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-OC(O)CH_3$ 。

[0326] 在一些实施例中,  $X^5$  直接键合至  $X^1$ , 并且环  $BA$  是 5 元的。

[0327] 在一些实施例中,  $X^6$  是  $-C(R^{B6})=$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-CH=$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-C(OR^{B6})=$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-C(R^{B6})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-C(O)-$ 。在一些实施例中,  $X^6$  是  $-N=$ 。

[0328] 在一些实施例中,  $R^{B6}$  是  $-L^{B6}-R^{B61}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B6}$  合在一起形成  $=O$ 、 $=C(-L^{B6}-R^{B61})_2$ 、 $=N-L^{B6}-R^{B61}$  或任选地经取代的  $=CH_2$  或  $=NH$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B6}$  合在一起形成  $=O$ 。在一些实施例中,  $L^{B6}$  是共价键。在一些实施例中,  $R^{B6}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B6}$  是  $-H$ 。

[0329] 在一些实施例中,  $R^{B6}$  是适合于寡核苷酸合成的保护基, 例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,  $R^{B6}$  是  $R$ 。在一些实施例中,

[0330] 在一些实施例中,  $L^{B6}$  是共价键。在一些实施例中,  $L^{B6}$  是任选地经取代的  $C_{1-10}$  亚烷基。在一些实施例中,  $L^{B6}$  是  $-CH_2CH_2-$ 。在一些实施例中,  $R^{B6}$  是  $-CH_2CH_2-$  (4-硝基苯基)。

[0331] 在一些实施例中,  $R^{B61}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B61}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B61}$  是  $-H$ 。

[0332] 在一些实施例中, 环  $BA^A$  是 5 元的。在一些实施例中, 环  $BA^A$  是 5 元的。在一些实施例中, 环  $BA^A$  具有一个杂原子。在一些实施例中, 环  $BA^A$  具有 2 个杂原子。在一些实施例中, 杂原子是氮。在一些实施例中, 杂原子是氧。

[0333] 在一些实施例中,  $X^{1'}$  是  $-(N-)-$ 。在一些实施例中,  $X^{1'}$  是  $-C(-)=$ 。

[0334] 在一些实施例中,  $X^{2'}$  是  $-C(O)-$ 。在一些实施例中,  $X^{2'}$  是  $-C(R^{B2'})=$ 。在一些实施例中,

中,  $X^{2'}$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。

[0335] 在一些实施例中,  $L^{B2'}$  是共价键。

[0336] 在一些实施例中,  $R^{B2'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B2'}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B2'}$  是  $-\text{H}$ 。在一些实施例中,  $X^{2'}$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。

[0337] 在一些实施例中,  $X^{3'}$  是  $-\text{N}(R^{B3'})-$ 。在一些实施例中,  $X^{3'}$  是  $-\text{N}(R')$ 。在一些实施例中,  $X^{3'}$  是  $-\text{NH}-$ 。在一些实施例中,  $X^{3'}$  是  $-\text{N}=\text{}$ 。

[0338] 在一些实施例中,  $L^{B3'}$  是共价键。

[0339] 在一些实施例中,  $R^{B3'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B3'}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B3'}$  是  $-\text{H}$ 。

[0340] 在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(R^{B4'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(\text{OR}^{B4'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{N}(R^{B4'})_2)=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{NHR}^{B4'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{NHR}')=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{NHC}(\text{O})\text{R})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(R^{B4'})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(\text{O})-$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(=\text{NR}^{B4'})-$ 。

[0341] 在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{O}$ 、 $=\text{C}(-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'})_2$ 、 $=\text{N}-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'}$  或任选地经取代的  $=\text{CH}_2$  或  $=\text{NH}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{O}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{C}(-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'})_2$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{N}-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{CH}_2$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B4'}$  合在一起形成  $=\text{NH}$ 。在一些实施例中, 所形成的基团是用于寡核苷酸合成的合适的保护基, 例如氨基保护基。

[0342] 在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{N}=\text{C}(-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'})_2)=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{N}=\text{CH}-\text{L}^{B4'}-\text{R}^{B41'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{4'}$  是  $-\text{C}(-\text{N}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)_2)=\text{}$ 。

[0343] 在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $-\text{H}$ 。

[0344] 在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是适合于寡核苷酸合成的保护基, 例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B4'}$  是  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (4-硝基苯基)。

[0345] 在一些实施例中,  $L^{B4'}$  是共价键。在一些实施例中,  $L^{B4'}$  是任选地经取代的  $\text{C}_{1-10}$  亚烷基。在一些实施例中,  $L^{B4'}$  是  $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。在一些实施例中, 至少一个亚甲基单元被  $-\text{N}(R')$  代替。在一些实施例中,  $R'$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R$  是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,  $R$  是苯基。在一些实施例中,  $R$  是甲基。在一些实施例中,  $R$  是  $-\text{H}$ 。

[0346] 在一些实施例中,  $R^{B41'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B41'}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B41'}$  是  $-\text{H}$ 。

[0347] 在一些实施例中,  $X^{5'}$  是  $-\text{N}(R^{B5'})-$ 。在一些实施例中,  $X^{5'}$  是  $-\text{NH}-$ 。在一些实施例中,  $X^{5'}$  是  $-\text{N}=\text{}$ 。

[0348] 在一些实施例中,  $L^{B5'}$  是共价键。

[0349] 在一些实施例中,  $R^{B5'}$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R^{B5'}$  是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B5'}$  是  $-\text{H}$ 。

[0350] 在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{C}(R^{B6'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{C}(\text{OR}^{B6'})=\text{}$ 。在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{C}(R^{B6'})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{C}(\text{O})-$ 。在一些实施例中,  $X^{6'}$  是  $-\text{N}=\text{}$ 。

[0351] 在一些实施例中,  $R^{B6'}$  是  $-\text{L}^{B6'}-\text{R}^{B61'}$ 。在一些实施例中, 同一原子上的两个  $R^{B6'}$  合在

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

[0352] 在一些实施例中, $L^{B6'}$ 是共价键。在一些实施例中, $L^{B6'}$ 是任选地经取代的 $C_{1-10}$ 亚烷基。在一些实施例中, $L^{B6'}$ 是 $-CH_2CH_2-$ 。

[0353] 在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是 $R'$ 。在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是 $R$ 。在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是 $-H$ 。在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是适合于寡核苷酸合成的保护基,例如氨基或羟基保护基。在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是 $R'$ 。在一些实施例中, $R^{B6'}$ 是 $-CH_2CH_2-$ (4-硝基苯基)。

[0354] 在一些实施例中, $R^{B61'}$ 是 $R'$ 。在一些实施例中, $R^{B61'}$ 是 $R$ 。在一些实施例中, $R^{B61'}$ 是 $-H$ 。

[0355] 在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-C(R^{B7'})=$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-CH=$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-C(OR^{B7'})=$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-C(R^{B7'})_2-$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-C(O)-$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-N(R^{B7'})-$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-NH-$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是 $-N=$ 。

[0356] 在一些实施例中, $R^{B7'}$ 是 $-L^{7'}-R^{B71'}$ 。在一些实施例中,同一原子上的两个 $R^{B7'}$ 合在一起形成 $=O$ 、 $=C(-L^{7'}-R^{B71'})_2$ 、 $=N-L^{7'}-R^{B71'}$ 或任选地经取代的 $=CH_2$ 或 $=NH$ 。在一些实施例中,同一原子上的两个 $R^{B7'}$ 合在一起形成 $=O$ 。在一些实施例中, $L^{7'}$ 是共价键。在一些实施例中, $R^{B7'}$ 是 $R$ 。在一些实施例中, $R^{B7'}$ 是 $-H$ 。

[0357] 在一些实施例中, $R^{B71'}$ 是 $R'$ 。在一些实施例中, $R^{B71'}$ 是 $R$ 。在一些实施例中, $R^{B71'}$ 是 $-H$ 。

[0358] 在一些实施例中, $L^B$ 是共价键。在一些实施例中, $L^B$ 是任选地经取代的二价 $C_{1-10}$ 饱和或部分不饱和脂肪族链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 或 $-C(O)O-$ 代替。在一些实施例中, $L^B$ 是具有1-6个杂原子的任选地经取代的二价 $C_{1-10}$ 饱和或部分不饱和的杂脂肪族链,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 或 $-C(O)O-$ 代替。在一些实施例中,至少亚甲基单元被代替。在一些实施例中, $L^B$ 是任选地经取代的 $C_{1-10}$ 亚烷基。在一些实施例中, $L^B$ 是 $-CH_2CH_2-$ 。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被 $-C(O)-$ 代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被 $-C(O)N(R')$ 代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被 $-N(R')$ 代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被 $-NH-$ 代替。在一些实施例中,至少一个亚甲基单元被 $-Cy-$ 代替。在一些实施例中, $L^B$ 是或包含任选地经取代的 $-N=CH-$ 。在一些实施例中, $L^B$ 是或包含 $-C(O)-$ 。在一些实施例中, $L^B$ 是或包含 $-O-$ 。在一些实施例中, $L^B$ 是或包含 $-OC(O)-$ 。在一些实施例中, $L^B$ 是或包含 $-CH_2OC(O)-$ 。

[0359] 在一些实施例中,每个 $-Cy-$ 独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环、饱和、部分饱和的或芳香族环。本文描述了 $-Cy-$ 的合适的单环单元。在一些实施例中, $-Cy-$ 是单环的。在一些实施例中, $-Cy-$ 是双环的。在一些实施例中, $-Cy-$ 是多环的。在一些实施例中, $-Cy-$ 是具有0-5个杂原子的任选地经取代的二价3-10元单环、饱和或部分不饱和的环。在一些实施例中, $-Cy-$ 是具有0-5个杂原子的任选地经取代的二价5-10元芳环。在一些实施例中, $-Cy-$ 是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中, $-Cy-$ 是亚苯基。

[0360] 在一些实施例中, $R'$ 是 $R$ 。在一些实施例中, $R'$ 是 $-C(O)R$ 。在一些实施例中, $R'$ 是 $-C$

(O)OR。在一些实施例中，R'是-C(O)N(R)<sub>2</sub>。在一些实施例中，R'是-SO<sub>2</sub>R。

[0361] 在一些实施例中，多种结构中的R'是保护基(例如，对于氨基、羟基等)，例如，适合于寡核苷酸合成的保护基。在一些实施例中，R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中，R是苯基。在一些实施例中，R是4-硝基苯基。在一些实施例中，R是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- (4-硝基苯基)。在一些实施例中，R'是-C(O)NPh<sub>2</sub>。

[0362] 在一些实施例中，每个R独立地是-H或选自以下的任选地经取代的基团：C<sub>1-20</sub>脂肪族基、具有1-10个杂原子的C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基、C<sub>6-30</sub>芳基、C<sub>6-30</sub>芳基脂肪族基、具有1-10个杂原子的C<sub>6-30</sub>芳基杂脂肪族基、具有1-10个杂原子的5-20元杂芳基和具有1-10个杂原子的3-30元杂环基。在一些实施例中，两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键。在一些实施例中，同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环。在一些实施例中，同一个原子上的两个基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-20元单环、双环或多环。在一些实施例中，两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中，两个或更多个原子上的两个基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中，所形成的环是单环的。在一些实施例中，所形成的环是双环的。在一些实施例中，所形成的环是多环的。在一些实施例中，每个单环单元独立地是3-10(例如，3-8、3-7、3-6、5-10、5-8、5-7、5-6、3、4、5、6、7、8、9或10等)元的，并且独立地是饱和的、部分饱和的或芳香族的，并且独立地具有0-5个杂原子。在一些实施例中，环是饱和的。在一些实施例中，环是部分饱和的。在一些实施例中，环是芳香族的。在一些实施例中，所形成的环具有1-5个杂原子。在一些实施例中，所形成的环具有1个杂原子。在一些实施例中，所形成的环具有2个杂原子。在一些实施例中，杂原子是氮。在一些实施例中，杂原子是氧。

[0363] 在一些实施例中，R是-H。

[0364] 在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>、C<sub>1-15</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>1-8</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-5</sub>、C<sub>1-4</sub>、C<sub>1-3</sub>或C<sub>1-2</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的烷基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中，R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中，R是任选地经取代的环脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的环烷基。

[0365] 在一些实施例中，R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C<sub>1-20</sub>杂脂肪族基。

[0366] 在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>6-20</sub>芳基。在一些实施例中，R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中，R是苯基。

[0367] 在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>6-20</sub>芳基脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>6-20</sub>芳基烷基。在一些实施例中，R是苄基。在一些实施例中，R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C<sub>6-20</sub>芳基杂脂肪族基。

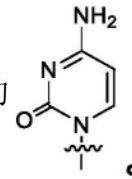
[0368] 在一些实施例中，R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中，R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中，R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中，R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基。在一些实施例中，R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的3-10元

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

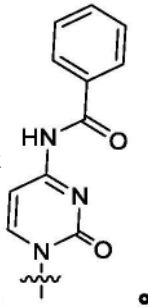
[0369] 在一些实施例中，杂原子选自硼、氮、氧、硫、硅和磷。在一些实施例中，杂原子选自氮、氧、硫和硅。在一些实施例中，杂原子选自氮、氧和硫。在一些实施例中，杂原子是氮。在一些实施例中，杂原子是氧。在一些实施例中，杂原子是硫。

[0370] 如本领域技术人员所理解的，针对变量描述的实施例可以容易地组合以提供多种结构。本领域技术人员还理解，针对变量描述的实施例可以容易地用于可以是该变量的其他变量，例如，R的实施例用于 $R^B$ 、 $R^{B2}$ 、 $R^{B3}$ 、 $R^{B4}$ 、 $R^{B5}$ 、 $R^{B6}$ 、 $R^{B2'}$ 、 $R^{B3'}$ 、 $R^{B4'}$ 、 $R^{B5'}$ 、 $R^{B6'}$ 等；L的实施例用于 $L^{B2}$ 、 $L^{B3}$ 、 $L^{B4}$ 、 $L^{B5}$ 、 $L^{B6}$ 、 $L^{B2'}$ 、 $L^{B3'}$ 、 $L^{B4'}$ 、 $L^{B5'}$ 、 $L^{B6'}$ 等。示例性实施例及其组合包括但不限于本文例示的结构。某些实例描述如下。

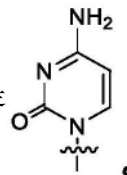
[0371] 例如，在一些实施例中，环BA是任选地经取代的或被保护的



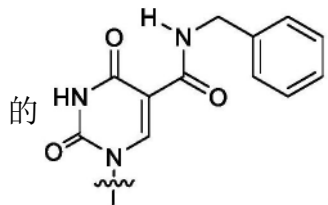
例中，环BA是



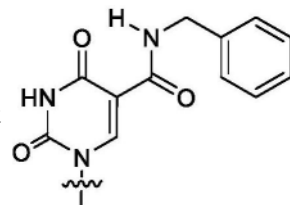
在一些实施例中，环BA是



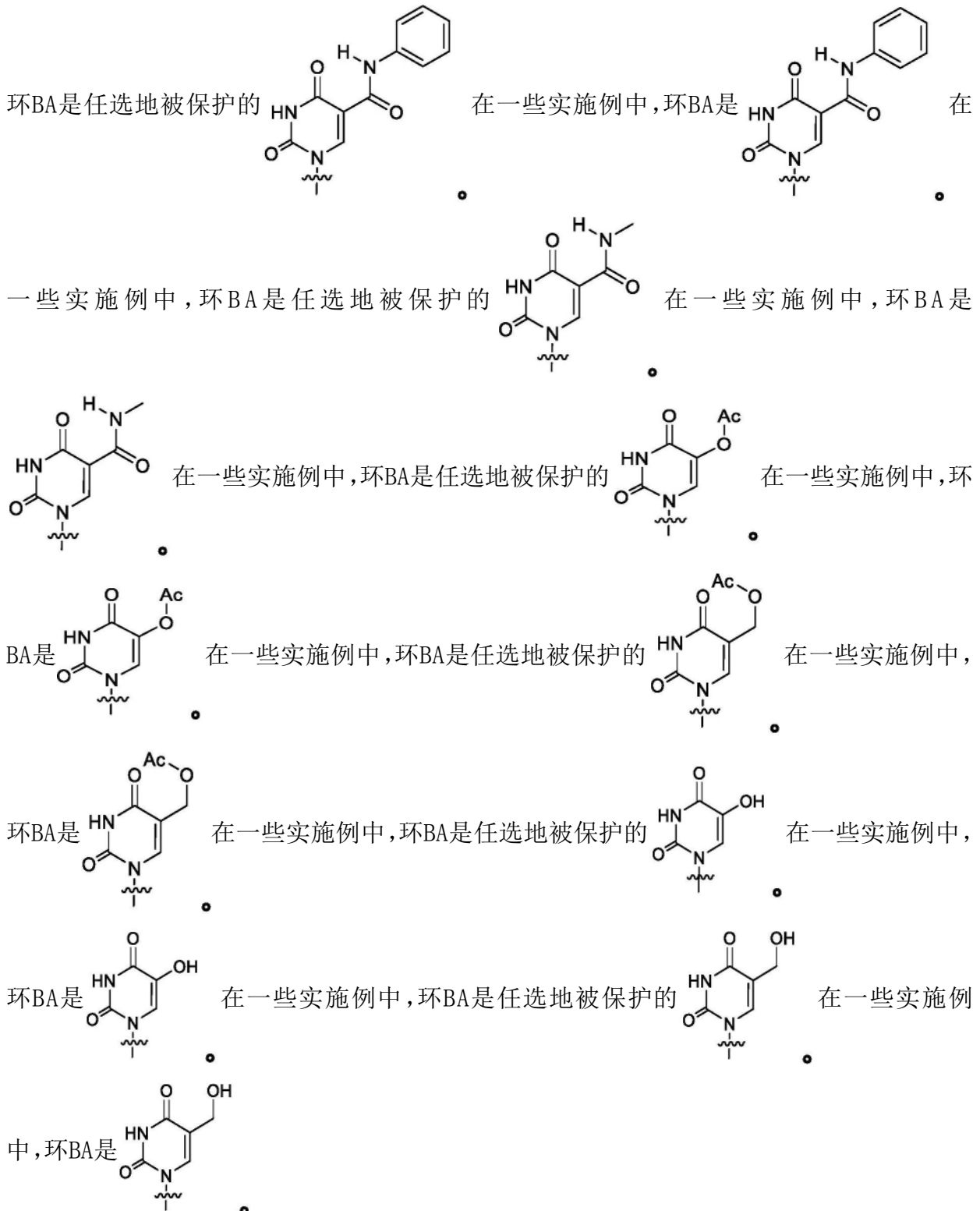
[0372] 在一些实施例中， $X^4$ 是 $-C(O)-$ ，并且 $X^4$ 的 $-C(O)-$ 中的O可与 $R^5$ 的 $-H$ （例如， $R^{5'}$ 的 $-NHR'$ 、 $-OH$ 或 $-SH$ 中的 $-H$ ）形成氢键。在一些实施例中， $X^4$ 是 $-C(O)-$ ，并且 $X^5$ 是 $-C(R^5)=$ 。在一些实施例中， $R^{5'}$ 是 $-NHR'$ 。在一些实施例中， $R^5$ 是 $-L^{B5}-NHR'$ 。在一些实施例中， $L^{B5}$ 是任选地经取代的 $-CH_2-$ 。在一些实施例中，亚甲基单元被 $-C(O)-$ 代替。在一些实施例中， $L^{B5}$ 是 $-C(O)-$ 。在一些实施例中， $R'$ 是任选地经取代的甲基。在一些实施例中， $R'$ 是 $-CH_2Ph$ 。在一些实施例中， $R'$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中， $R'$ 是苯基。在一些实施例中， $R'$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中， $R'$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中， $R'$ 是任选地经取代的甲基。在一些实施例中， $R'$ 是甲基。在一些实施例中，环BA是任选地被保护



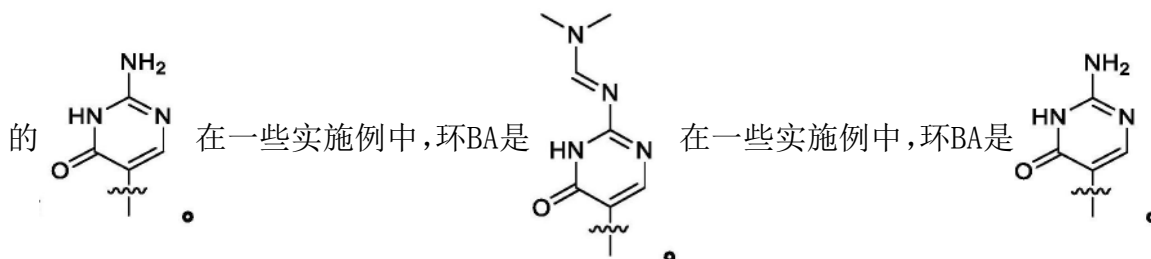
在一些实施例中，环BA是



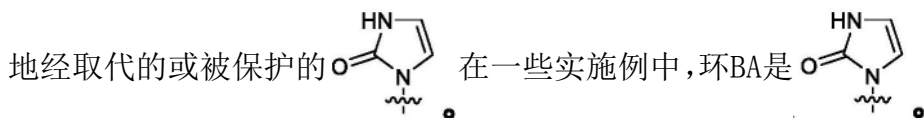
在一些实施例中，



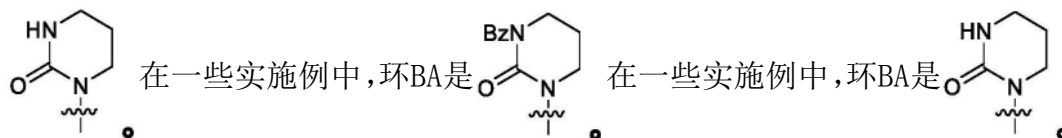
[0373] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-C(-)=$ , 并且  $X^4$  是  $=C(-N(R^{B4})_2)-$ 。在一些实施例中, 同一原子 (例如, 氮原子) 上的两个 R 基团合在一起形成任选地经取代的  $=CH_2$  或  $=NH$ 。在一些实施例中, 同一原子 (例如, 氮原子) 上的两个 R 基团合在一起形成任选地经取代的  $=C(-L^{B4}-R)_2$ 、 $=N-L^{B4}-R$ 。在一些实施例中, 所形成的基团是  $=CHN(R)_2$ 。在一些实施例中, 所形成的基团是  $=CHN(CH_3)_2$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $=C(-N=CHN(CH_3)_2)-$ 。在一些实施例中,  $-N(R^{B4})_2$  是  $-NR^{B4}$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $-NHC(O)R$ 。在一些实施例中, 环BA是任选地经取代的或被保护



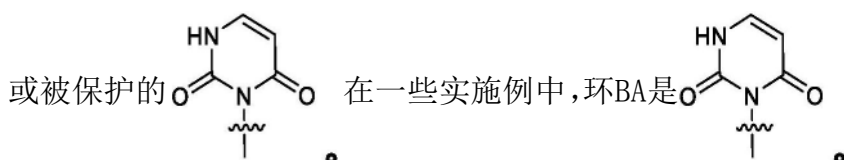
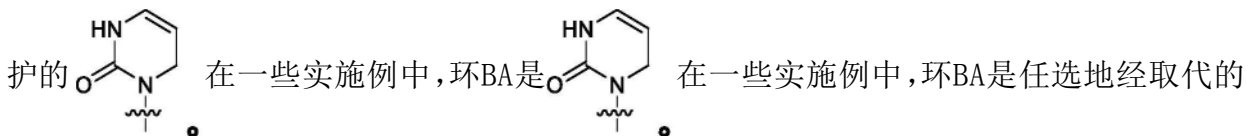
[0374] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ , 并且  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ 。在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ , 并且  $X^4$  是  $-C(R^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ ,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})=$ , 并且  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中, 环BA是任选



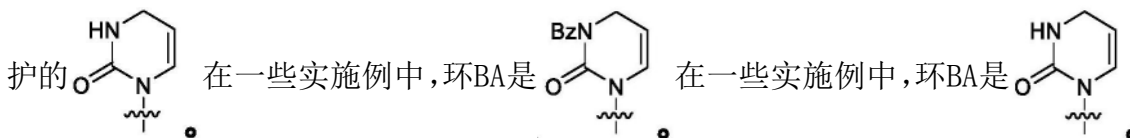
[0375] 在一些实施例中,  $X^3$  是  $-N(R')$ 。在一些实施例中,  $R'$  是  $-C(O)R$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})_2-$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $-R$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})_2-$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-R$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中, 环BA是任选地经取代的或被保护的



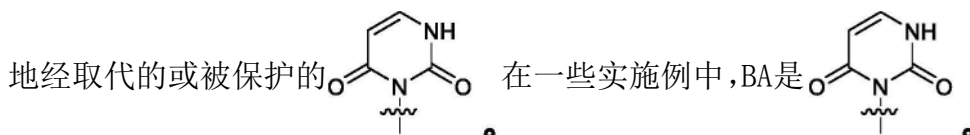
[0376] 在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-CH=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-CH=$ 。在一些实施例中, 环BA是任选地经取代的或被保



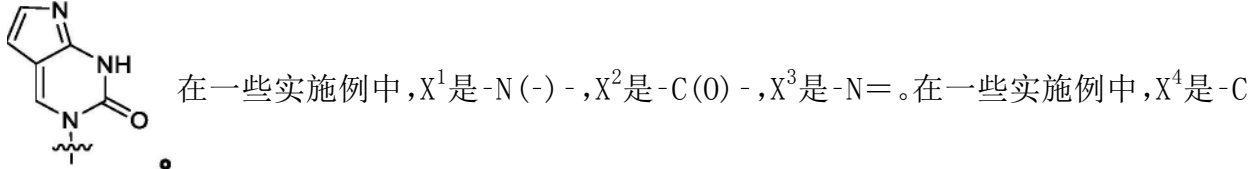
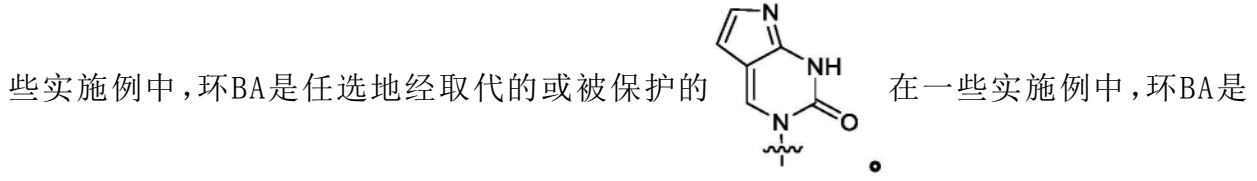
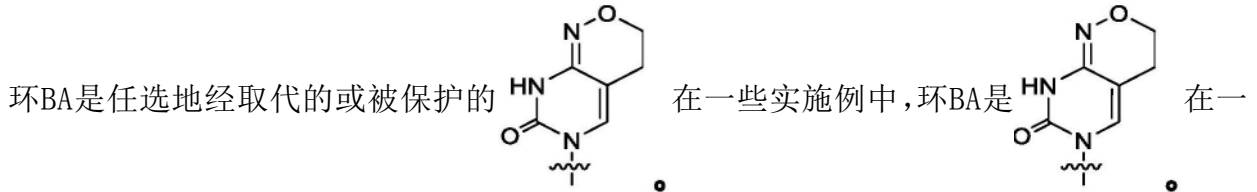
[0377] 在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})_2-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-CH_2-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-CH=$ 。在一些实施例中, 环BA是任选地经取代的或被保



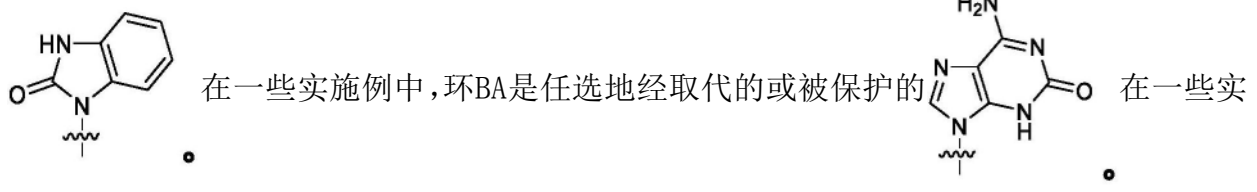
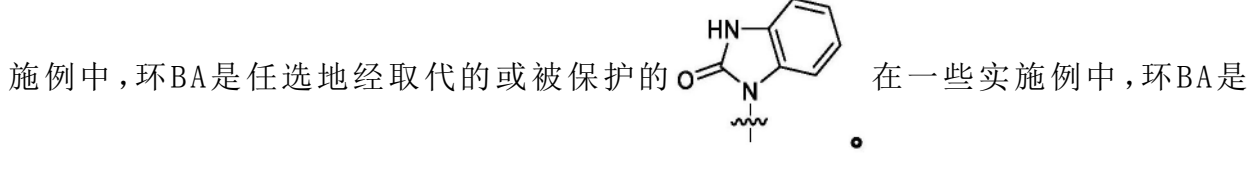
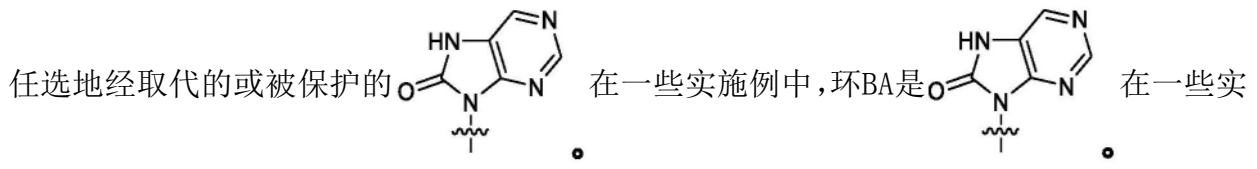
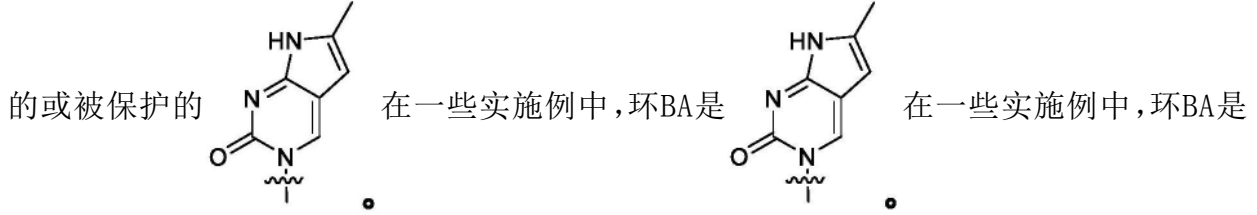
[0378] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ ,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})=$ ,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ ,  $X^6$  是  $-C(O)-$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$ 、 $R^{B4}$  和  $R^{B5}$  各自独立地是  $R$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-H$ 。在一些实施例中, BA是或包含任选

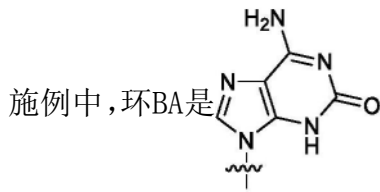


[0379] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-N(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})-$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})_2-$ , 其中两个  $R^{B4}$  合在一起形成  $=O$  或  $=C(-L^{B4}-R^{B41})_2$ 、 $=N-L^{B4}-R^{B41}$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(=NR^{B4})-$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中,  $R^{B41}$  或  $R^{B4}$  和  $R^{B5}$  是  $R$ , 并且与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环。在一些实施例中,

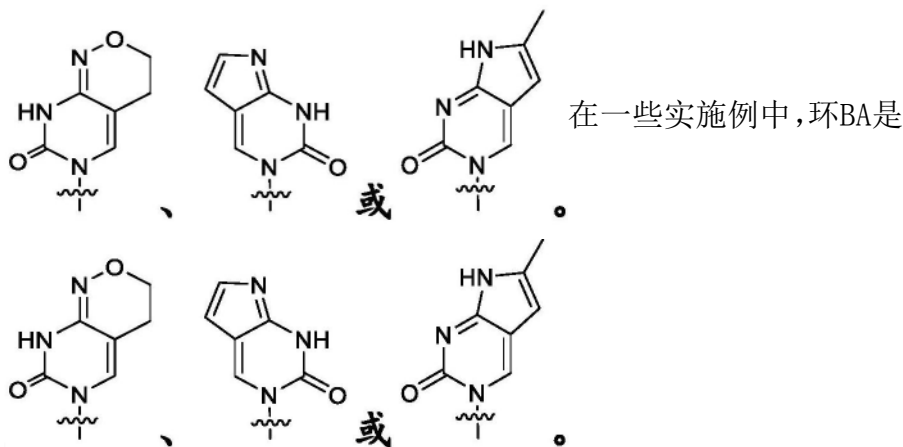


$(-N(R^{B4})_2)=$ 。在一些实施例中,  $X^4$  是  $-C(-NHR^{B4})=$ 。在一些实施例中,  $X^5$  是  $-C(R^{B5})=$ 。在一些实施例中, 一个  $R^{B4}$  和  $R^{B5}$  合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环。在一些实施例中, 所形成的环是具有氮原子的任选地经取代的5元环。在一些实施例中, 环BA是任选地经取代

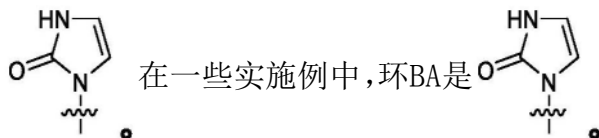




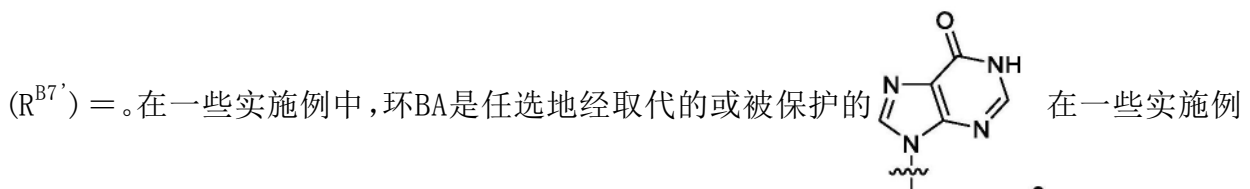
[0380] 在一些实施例中,环BA具有式BA-IV或BA-V的结构。在一些实施例中, $X^1$ 是 $-N(-)$ , $X^2$ 是 $-C(O)-$ ,并且 $X^3$ 是 $-N=$ 。在一些实施例中, $X^1$ 是 $-N(-)$ , $X^2$ 是 $-C(O)-$ , $X^3$ 是 $-N=$ ,并且 $X^6$ 是 $-C(R^{B6})=$ 。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>是5-6元的。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>是单环的。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>是部分不饱和的。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>是芳香族的。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>具有0-2个杂原子。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>具有1-2个杂原子。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>具有一个杂原子。在一些实施例中,环BA<sup>A</sup>具有2个杂原子。在一些实施例中,杂原子是氮。在一些实施例中,杂原子是氧。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的

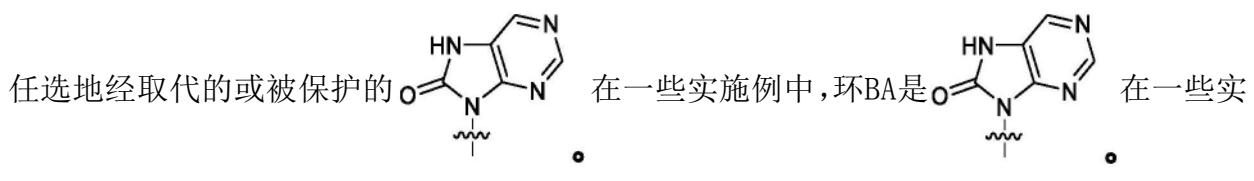
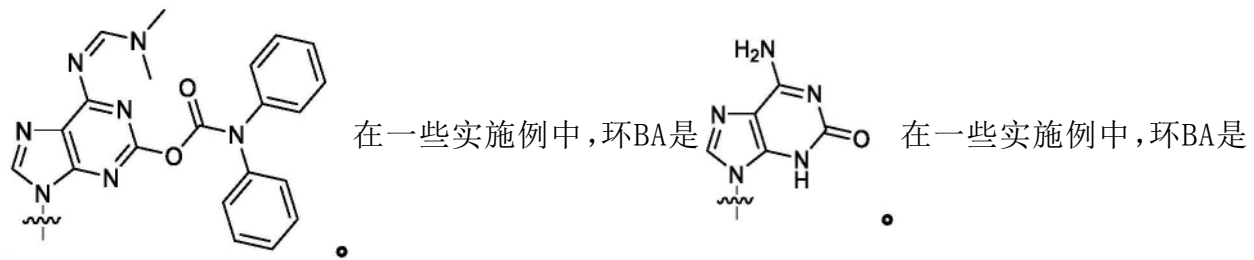
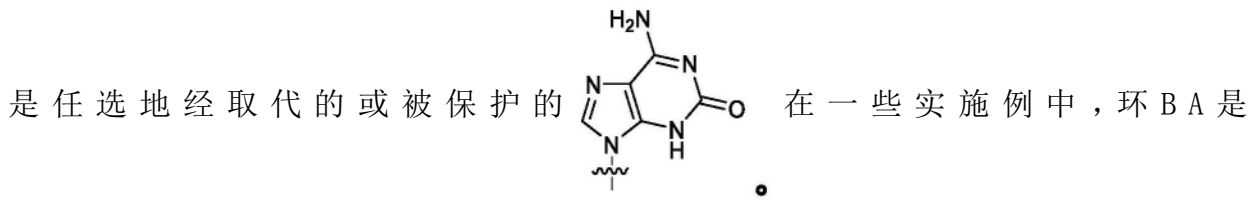
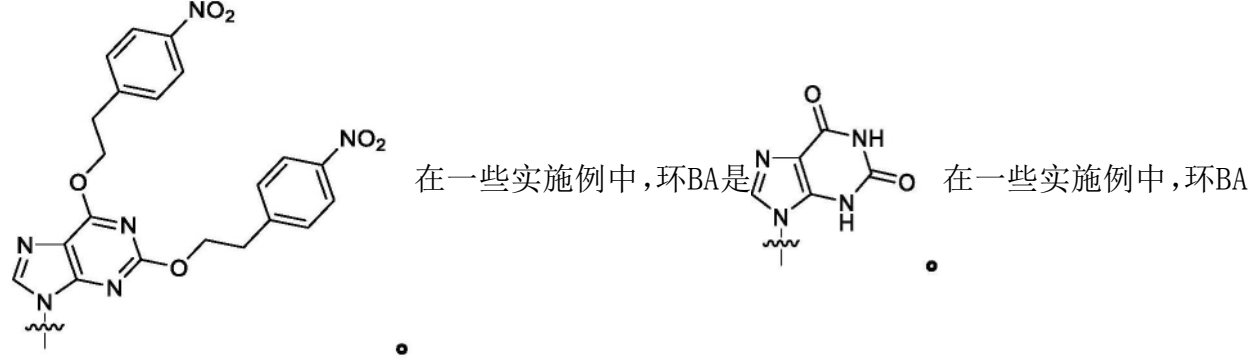
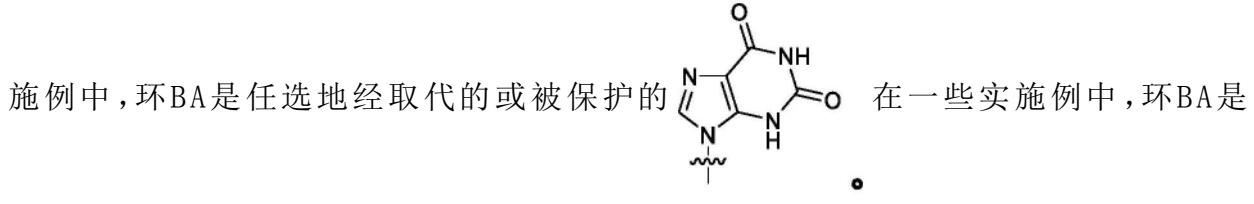
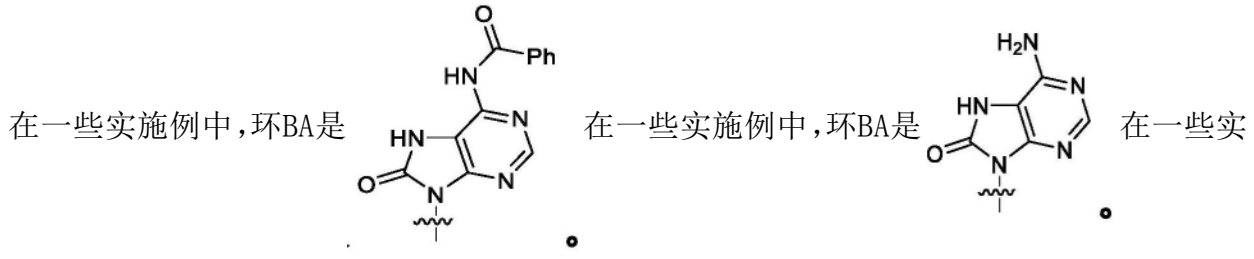
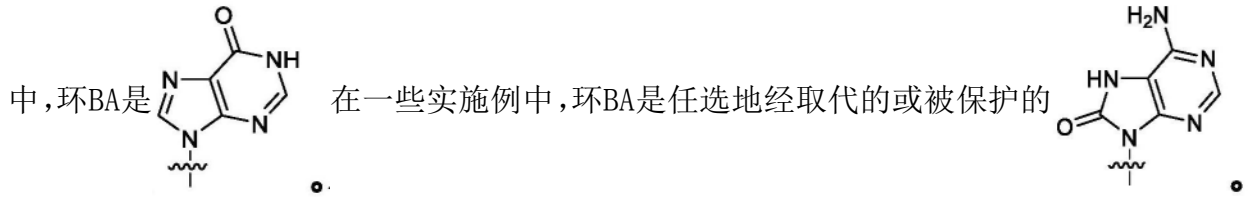


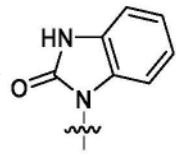
[0381] 在一些实施例中,环BA是任选地经取代的5元环。在一些实施例中, $X^1$ 键合至 $X^5$ 。在一些实施例中, $X^4$ 和 $X^5$ 各自独立地是 $-CH=$ 。在一些实施例中, $X^1$ 是 $-N(-)$ , $X^2$ 是 $-C(O)-$ , $X^3$ 是 $-NH-$ , $X^4$ 是 $-CH=$ ,并且 $X^5$ 是 $-CH=$ 。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的

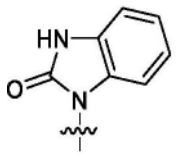


[0382] 在一些实施例中,环BA具有式BA-VI的结构。在一些实施例中, $X^{1'}$ 是 $-N(-)$ , $X^{2'}$ 是 $-C(O)-$ 并且 $X^{3'}$ 是 $-N(R^{B3})-$ 。在一些实施例中, $X^{1'}$ 是 $-N(-)$ , $X^{2'}$ 是 $-C(O)-$ , $X^{3'}$ 是 $-N(R^{B3})-$ , $X^{4'}$ 是 $-C(R^{B4'})=$ , $X^{5'}$ 是 $-N=$ , $X^{6'}$ 是 $-C(R^{B6'})=$ ,并且 $X^{7'}$ 是 $-N=$ 。在一些实施例中, $X^{1'}$ 是 $-N(-)$ , $X^{2'}$ 是 $-C(O)-$ , $X^{3'}$ 是 $-N(R^{B3})-$ , $X^{4'}$ 是 $-C(R^{B4'})=$ , $X^{5'}$ 是 $-C(R^{B5'})=$ , $X^{6'}$ 是 $-C(R^{B6'})=$ ,并且 $X^{7'}$ 是 $-C$

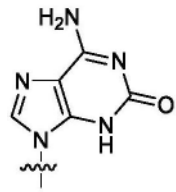
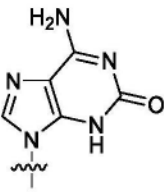




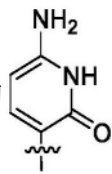
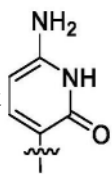
施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的  在一些实施例中,环BA是

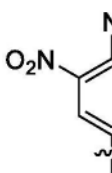
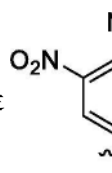
 在一些实施例中,  $X^{1'}$  是  $-N(-)$ ,  $X^{2'}$  是  $-C(R^{B2'})$ , 并且  $X^{3'}$  是  $-N=$ 。在一些实施

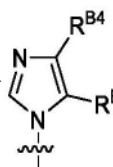
例中,  $X^{1'}$  是  $-N(-)$ ,  $X^{2'}$  是  $-C(R^{B2'})$ ,  $X^{3'}$  是  $-N=$ ,  $X^{4'}$  是  $-C(-N(R^{B4'})_2)$ ,  $X^{5'}$  是  $-N=$ ,  $X^{6'}$  是  $-C(O)-$ , 并且  $X^{7'}$  是  $-N(R^{B7'})$ 。在一些实施例中,环BA是任选地经取代的或被保护的

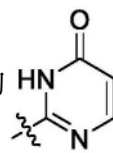
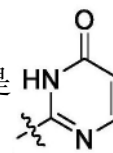
 在一些实施例中,环BA是 

[0383] 在一些实施例中,  $X^1$  是  $-C(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ , 并且  $X^3$  是  $-N(R^{B3})$ 。在一些实施例中,  $X^1$  是  $-C(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})$ ,  $-C(-N(R^{B4})_2)$ , 并且  $X^4$  是  $-C(R^{B4})$ 。在一些实施例中,  $X^1$  是  $-C(-)$ ,  $X^2$  是  $-C(O)-$ ,  $X^3$  是  $-N(R^{B3})$ ,  $-C(-N(R^{B4})_2)$ ,  $X^4$  是  $-C(R^{B4})$ , 并且  $X^6$  是  $-C(R^{B6})$ 。在一些实施例中,  $R^{B3}$ 、 $R^{B4}$  和  $R^{B6}$  各自独立地是  $-H$ 。在一些实施例中,环BA是任选地经

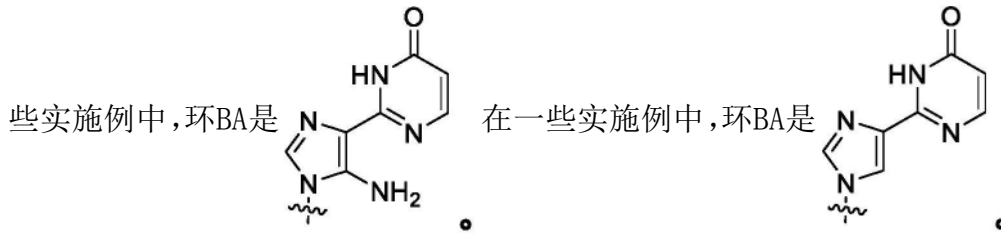
取代的或被保护的  在一些实施例中,环BA是  在一些实施例中,环BA是任

选地经取代的或被保护的  在一些实施例中,环BA是 

[0384] 在一些实施例中,环BA具有  的结构。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是任选地经取代

的芳基。在一些实施例中,  $R^{B4}$  是任选地经取代的  在一些实施例中,  $R^{B4}$  是 



在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-H$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-N(R')$ 。在一些实施例中,  $R^{B5}$  是  $-NH_2$ 。在一

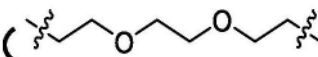
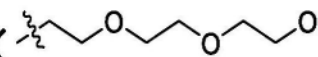


[0385] 如本文所述,环BA可以是任选地经取代的。在一些实施例中,当 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^{2'}$ 、 $X^{3'}$ 、 $X^{4'}$ 、 $X^{5'}$ 、 $X^{6'}$ 和 $X^{7'}$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中,当 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^{2'}$ 、 $X^{3'}$ 、 $X^{4'}$ 、 $X^{5'}$ 、 $X^{6'}$ 和 $X^{7'}$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中,当 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^{2'}$ 、 $X^{3'}$ 、 $X^{4'}$ 、 $X^{5'}$ 、 $X^{6'}$ 和 $X^{7'}$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中,当 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^{2'}$ 、 $X^{3'}$ 、 $X^{4'}$ 、 $X^{5'}$ 、 $X^{6'}$ 和 $X^{7'}$ 是 $-\text{CH}_2-\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中,当 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^{2'}$ 、 $X^{3'}$ 、 $X^{4'}$ 、 $X^{5'}$ 、 $X^{6'}$ 和 $X^{7'}$ 是 $-\text{NH}-\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。在一些实施例中, $X^2$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^3$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^4$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^5$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^6$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{2'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{3'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{4'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{5'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{6'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。在一些实施例中, $X^{7'}$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 。

[0386] 如本文所展示,在一些实施例中,所提供的包含与靶腺苷相对的某些核碱基(例如,b001A、b002A、b008U、C、A等)的寡核苷酸尤其可以提供改进的编辑效率(例如,与参考核碱基诸如U相比)。在一些实施例中,相对的核苷在其3'侧与I连接。

[0387] 在一些实施例中,核碱基是如本文所述的环BA。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个如本文所述的环BA。

[0388] 在一些实施例中,相对的核苷是无碱基的,例如具有L010  L012 

()或L028()的结构。如本领域技术人员所理解的和在多种寡核苷酸中所展示的,无碱基核苷也可用于寡核苷酸的其他部分,并且寡核苷酸可以包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5个或更多个)任选地连续的无碱基核苷。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个任选地连续的无碱基核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个且不多于一个无碱基核苷。在一些实施例中,每个无碱基核苷独立地在第一结构域中或在第二结构域的第一子结构域中。在一些实施例中,每个无碱基核苷独立

地在第一结构域中。在一些实施例中,每个无碱基核苷独立地在第二结构域的第一子结构域中。在一些实施例中,无碱基核苷与靶腺苷相对。如本文所展示,单个无碱基核苷可以代替各自独立地包含参考寡核苷酸中的核碱基的一个或多个核苷,例如,L010可用于代替1个包含核碱基的核苷,L012可用于代替1、2或3个各自独立地包含核碱基的核苷,并且L028可用于代替1、2或3个各自独立地包含核碱基的核苷。在一些实施例中,碱性核苷通过立体随机键联(例如,立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联)连接到其3'紧邻核苷(其任选地是无碱基的)。在一些实施例中,每个碱性核苷独立地通过立体随机键联(例如,立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联)连接到其3'紧邻核苷(其任选地是无碱基的)。

[0389] 在一些实施例中,与靶腺嘌呤相对的经修饰的核碱基可以极大地改善寡核苷酸的特性和/或活性。在一些实施例中,在相对的位置处的经修饰的核碱基可以提供高活性,甚至当存在与其相邻(例如,在3'侧)的G时,和/或其他核碱基(例如,C)提供低得多的活性或几乎检测不到的活性。

[0390] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0391] 在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。在一些实施例中,数目为6。在一些实施例中,数目为7。在一些实施例中,数目为8。在一些实施例中,数目为9。在一些实施例中,数目为10。在一些实施例中,数目为11。在一些实施例中,数目为12。在一些实施例中,数目为13。在一些实施例中,数目为14。在一些实施例中,数目为15。在一些实施例中,数目为16。在一些实施例中,数目为17。在一些实施例中,数目为18。在一些实施例中,数目为19。在一些实施例中,数目为20。在一些实施例中,R是甲基。

[0392] 在一些实施例中,第二结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、

65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第二结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,R是甲基。

[0393] 在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地具有不是2'-F的修饰。在一些实施例中,第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-

95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域的经修饰的糖各自独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0394] 在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域不含2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第二结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-F。在一些实施例中,第二结构域中不超过约50%的糖包含2'-F。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0395] 在一些实施例中,第二结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,第二结构域中不超过约50%的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,第二结构域中没有糖包含2'-MOE。

[0396] 在一些实施例中,第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中的核苷酸间键联的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中

性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第二结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,第二结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第二结构域中的至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,第二结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,第二结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、

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

[0397] 在一些实施例中,第二结构域包含一定水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第二结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、

65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第二结构域中的所有手性受控的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0398] 在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0399] 在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第二结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0400] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第二结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联

不是手性受控的。在一些实施例中，每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中，手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中，每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中，第二结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10，或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中，它是约1。在一些实施例中，它是约2。在一些实施例中，它是约3。在一些实施例中，它是约4。在一些实施例中，它是约5。在一些实施例中，两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中，没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中，第二结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的（例如，3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联）。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联，或两个或更多个（例如，约2个、约3个、约4个等）连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第二结构域的3'末端。在一些实施例中，第二结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中，第二结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。

[0401] 在一些实施例中，连接第二结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，第二结构域的最后两个核苷是寡核苷酸的最后两个核苷。在一些实施例中，连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，连接第二结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联，诸如n001。

[0402] 在一些实施例中，第二结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中，第二结构域不含天然磷酸酯键联。

[0403] 在一些实施例中，第二结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白，促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中，第二结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白，或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中，第二结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中，第二结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中，多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白（例如，ADAR蛋白）的一个或多个残基相互作用。

[0404] 在一些实施例中，第二结构域包含如本文所述的第一子结构域或由其组成。在一些实施例中，第二结构域包含如本文所述的第二子结构域或由其组成。在一些实施例中，第二结构域如本文所述的第三子结构域或由其组成。在一些实施例中，第二结构域从5'至3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域，或由这些结构域组成。下面描述这样的

子结构域的某些实施例。

#### 第一子结构域

[0405] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5'至3'包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5'至3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第一子结构域的某些实施例。在一些实施例中,第一子结构域包含与待修饰(例如,转化成I)的靶腺苷相对的核苷。

[0406] 在一些实施例中,第一子结构域具有约1-50、1-40、1-30、1-20个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约6-12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约6-9个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-5个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有4个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有5个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有6个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有7个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有8个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有9个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第一子结构域具有15个核碱基的长度。

[0407] 在一些实施例中,第一子结构域是第二结构域的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。

在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。

在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。

在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。

[0408] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一子结构域中存

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

[0409] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第一子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,存在1个摇摆。在一些实施例中,存在2个摇摆。在一些实施例中,存在3个摇摆。在一些实施例中,存在4个摇摆。在一些实施例中,存在5个摇摆。在一些实施例中,存在6个摇摆。在一些实施例中,存在7个摇摆。在一些实施例中,存在8个摇摆。在一些实施例中,存在9个摇摆。在一些实施例中,存在10个摇摆。

[0410] 在一些实施例中,第一子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0411] 在一些实施例中,第一子结构域与靶核酸完全互补。

[0412] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0413] 在一些实施例中,第一子结构域包含与靶腺苷相对的核苷,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时。本文描述了合适的核碱基,包括相对的核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体。

[0414] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。

[0415] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修

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

[0416] 在一些实施例中,第一子结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是双环糖(例如,LNA糖)或2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中所有糖的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一

些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,R是甲基。

[0417] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地具有不是2'-F的修饰。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域的经修饰的糖各自独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中的每个糖是2'-F修饰的糖。

[0418] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-

85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0419] 在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OMe。

[0420] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域不含2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个双环糖和/或2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)连续的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与2'-F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-F。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约50%的糖包含2'-F。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0421] 在一些实施例中,第一子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,第一子结构域中不超过约50%的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,第一子结构域中没有糖包含2'-MOE。

[0422] 在一些实施例中,第一子结构域含有比2'-F修饰的糖更多的2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第一子结构域仅含有3个核苷,其中两个独立地是2'-OR修饰的糖,并且一个是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,2'-F修饰的核苷位于第一子结构域的3'末端并连接至第二子结构域。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基),或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的

糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,糖经2'-OMe修饰的并且糖是2'-MOE。在一些实施例中,第一子结构域仅含有3个核苷,它们是N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>。

[0423] 在一些实施例中,第一子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中的核苷酸间键联的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第一子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,第一子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、

75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,第一子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,第一子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,第一子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第一子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,

每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域的核苷酸间键联与第一子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第一子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第一子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第一子结构域中的核苷和第二子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性受控的;在一些实施例中,它是 $R_p$ ;在一些实施例中,它是 $S_p$ 。

[0424] 在一些实施例中,第一子结构域包含一定水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第一子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第一子结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第一子结构域中的所有手性受控的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。

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

[0425] 在一些实施例中,第一子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是S<sub>p</sub>或R<sub>p</sub>。在一些实施例中,高水平是如本文所述的S<sub>p</sub>。在一些实施例中,第一子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是R<sub>p</sub>。

[0426] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第一子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第一子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,它是约1。在一些实施例中,它是约2。在一些实施例中,它是约3。在一些实施例中,它是约4。在一些实施例中,它是约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第一子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第一子结构域的3'末端。在一些实施例中,第一子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的最后两个核苷酸的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的最后两个核苷酸的核苷酸间键联是S<sub>p</sub>不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的最后两个核苷酸的核苷酸间键联是R<sub>p</sub>不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的最后两个核苷酸的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的最后两个核苷酸的核苷酸间键联是S<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷酸的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷酸的核苷酸间键

联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第一子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,诸如n001。

[0427] 在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一子结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的键合至两个2'-OR修饰的糖的核苷酸间键联是独立的天然磷酸酯键联。在一些实施例中,50%或更多(例如,50%-100%、50%-90%、50-80%,或约50%、60%、66%、70%、75%、80%、90%或更多)的键合至两个2'-OMe或2'-MOE修饰的糖的核苷酸间键联是独立的天然磷酸酯键联。

[0428] 在一些实施例中,第一子结构域包含5'末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,5'末端部分具有约3-6个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,5'末端部分包含第一子结构域的5'末端核碱基。

[0429] 在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分中的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-

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

[0430] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F或2'-OMe。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0431] 在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,5'末端部分的每个核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。

[0432] 在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摇摆。在一些实施例中,5'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0433] 在一些实施例中,第一子结构域包含3'末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-5、1-3、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,3'末端部分具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,3'末端部分包含第一子结构域的3'末端核碱基。在一些实施例中,第一子结构域包含5'末端部分和3'末端部分或由其组成。

[0434] 在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分中的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分中约5%-100%(例如,

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

[0435] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F或2'-OMe。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0436] 在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平(数量和/或百分比)的2'-F修饰的糖和/或含有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖),和/或更低水平(数量和/或百分比)的其他类型的经修饰的糖,例如,双环糖和/或具有2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平的2'-F修饰的糖和/或更低水平的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平的2'-F修饰的糖和/或更低水平的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更低水平的2'-F修饰的糖和/或更高水平的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更低水平的2'-F修饰的糖和/或更高水平的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)作为双环糖或含有2'-OR的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,甲基)。在一些实施例中,3'末端部分不含作为双环糖或含有2'-OR的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,甲基)。

[0437] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。在一些实施例中,没有经修饰的糖包含2'-OMe或其他2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,3'末端部分的每个糖独立地包含两个2'-H或2'-F修饰。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1-3个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1-3个天然DNA糖。

[0438] 在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3'末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与5'末端部分相比,3'末端部分包含更高水平(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联。

[0439] 在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摇摆。在一些实施例中,3'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0440] 在一些实施例中,第一子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第一子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第一子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

#### 第二子结构域

[0441] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5'至3'包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5'至3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第二子结构域的某些实施例。在一些实施例中,第二子结构域包含与待修饰(例如,转化成I)的靶腺苷相对的核苷。在一些实施例中,第二子结构域包含一个且不多于一个与靶腺苷相对的核苷。在一些实施例中,与寡核苷酸的靶腺苷相对的每个核苷均在第二子结构域中。

[0442] 在一些实施例中,第二子结构域具有约1-10、1-5、1-3或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-5个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第二子结构域中的所有核苷均为5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'。

[0443] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二子结构域中存

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

[0444] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个且不多于一个错配。在一些实施例中,第二子结构域包含两个且不多于两个错配。在一些实施例中,第二子结构域包含两个且不超过两个错配,其中一个错配位于靶腺苷和其相对的核苷之间,和/或一个错配位于与靶腺苷相邻的核苷和其在寡核苷酸中的相应核苷之间。在一些实施例中,位于与靶腺苷相邻的核苷和其在寡核苷酸中的相应核苷之间的错配是摇摆。在一些实施例中,摇摆是I-C。在一些实施例中,C与靶腺苷相邻,例如紧邻其3'侧。

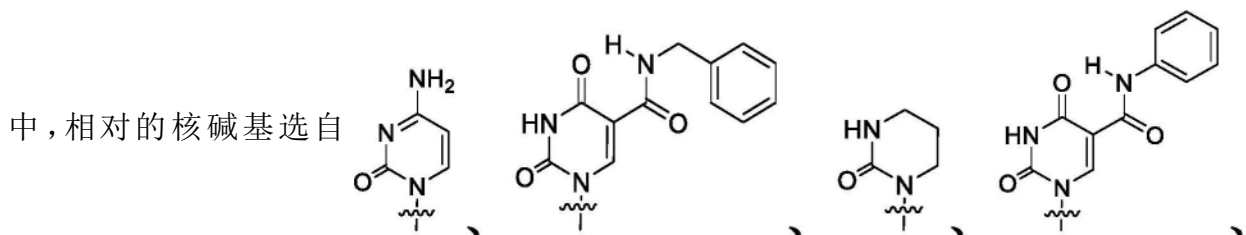
[0445] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第二子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,存在1个摇摆。在一些实施例中,存在2个摇摆。在一些实施例中,存在3个摇摆。在一些实施例中,存在4个摇摆。在一些实施例中,存在5个摇摆。在一些实施例中,存在6个摇摆。在一些实施例中,存在7个摇摆。在一些实施例中,存在8个摇摆。在一些实施例中,存在9个摇摆。在一些实施例中,存在10个摇摆。

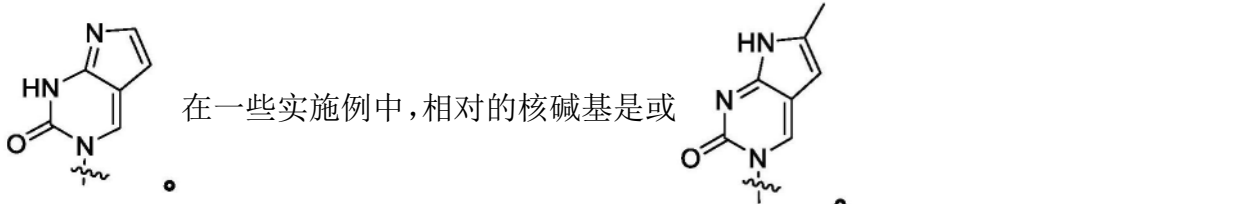
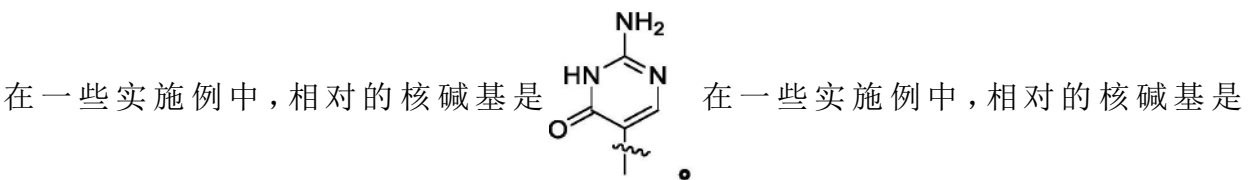
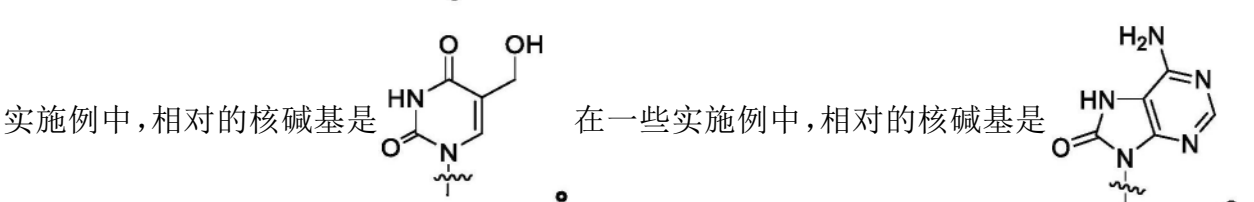
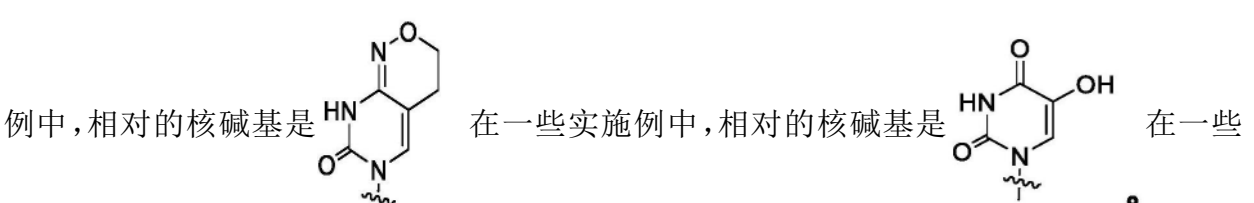
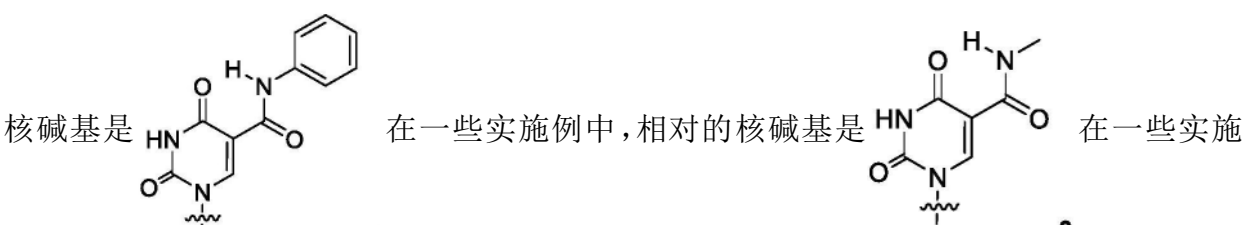
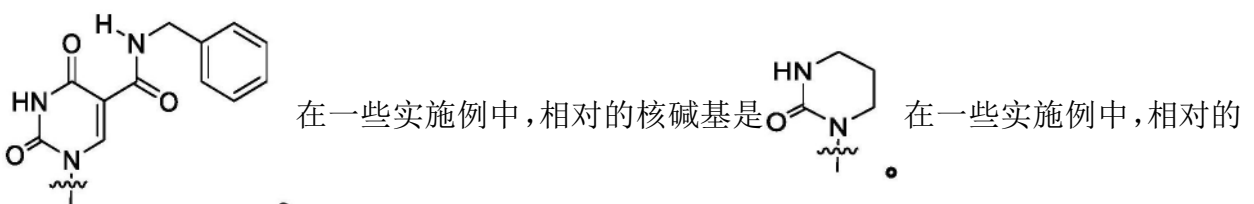
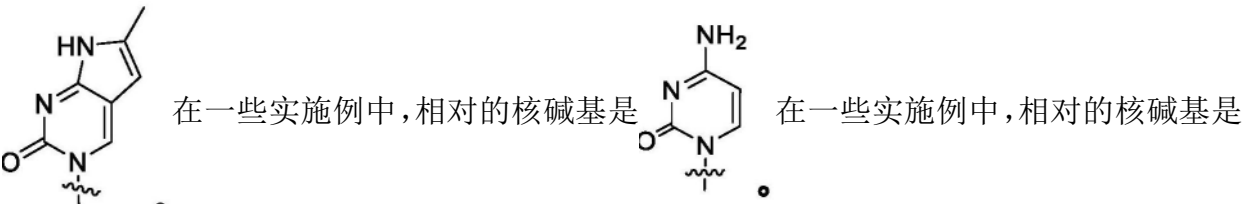
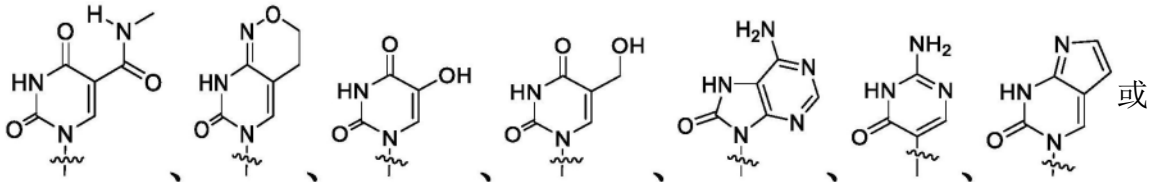
[0446] 在一些实施例中,第二子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0447] 在一些实施例中,第二子结构域与靶核酸完全互补。

[0448] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

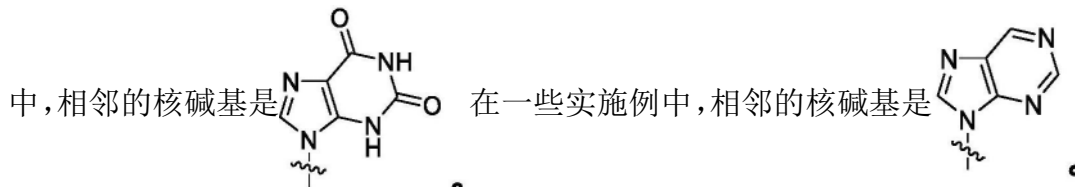
[0449] 在一些实施例中,第二子结构域包含与靶腺苷相对的核苷,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时。本文描述了合适的核碱基,包括相对的核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基: BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体。例如,在一些实施例中,





[0450] 在一些实施例中, 第二子结构域包含与相对的核碱基相邻的经修饰的核碱基。在

一些实施例中,其在5'侧。在一些实施例中,其在3'侧。在一些实施例中,在每一侧上独立地存在经修饰的核碱基。尤其是,本披露认识到邻近(例如,与其相邻)相对的核碱基的核碱基可引起对靶核酸、寡核苷酸和/或其双链体的识别、结合、相互作用和/或修饰的破坏(例如,空间位阻)。在一些实施例中,破坏与相邻的G相关。在一些实施例中,本披露提供了可以代替G并且提供与G相比改进的稳定性和/或活性的核碱基。例如,在一些实施例中,相邻的核碱基(例如,相对的核苷的3'-紧邻核苷)是次黄嘌呤(代替G以减少破坏(例如,空间位阻)和/或与C形成摇摆碱基配对)。在一些实施例中,相邻的核碱基是次黄嘌呤的衍生物。在一些实施例中,3'-紧邻核苷包含是或包含具有式BA-VI结构的环BA的核碱基。在一些实施例



[0451] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖是无环糖(例如,通过断裂相应环糖的C2-C3键)。在一些实施例中,相对的核苷包含无环糖诸如UNA糖。在一些实施例中,这种无环糖为蛋白对靶腺苷进行修饰提供了灵活性。

[0452] 在一些实施例中,第二子结构域包含约1-10(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个经修饰的糖,这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第二子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0453] 在一些实施例中,第二子结构域中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含2'-OMe。

[0454] 在一些实施例中,第二子结构域中的高水平的(例如,超过50%、60%、70%、80%、90%或95%、99%,或超过10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个)糖独立地包含2'-OR修

饰,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基,或 $2'-O-L^B-4'$ 修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地包含 $2'-OR$ 修饰,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基,或 $2'-O-L^B-4'$ 修饰,其中 $L^B$ 是任选地经取代的 $-CH_2-$ 。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地包含 $2'-OMe$ 。

[0455] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个 $2'-F$ 修饰的糖。

[0456] 在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是 $2'-F$ 修饰的糖、包含两个 $2'-H$ 的糖(例如,天然DNA糖)、或包含 $2'-OH$ 的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是 $2'-F$ 修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,第二子结构域中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是 $2'-F$ 修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100%。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个 $2'-F$ 修饰的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个包含两个 $2'-H$ 的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个包含 $2'-OH$ 的糖。在一些实施例中,第二子结构域包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0457] 在一些实施例中,第二子结构域中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含 $2'-F$ 修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含 $2'-F$ 修饰。在一些实施例中,第二子结构域中的每个糖独立地不含 $2'-F$ 。

[0458] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的糖(“相对糖”)、与相对的核苷 $5'$ -相邻的核苷的糖(“ $5'$ -相邻糖”)和/或与相对的核苷 $3'$ -相邻的核苷的糖(“ $3'$ -相邻糖”)独立地且任选地是 $2'-F$ 修饰的糖、包含两个 $2'-H$ 的糖(例如,天然DNA糖)或包含 $2'-OH$ 的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,相对糖是 $2'-F$ 修饰的糖。在一些实施例中,相对糖是包含两个 $2'-H$ 的糖。在一些实施例中,相对糖是天然DNA糖。在一些实施例中,相对糖是包含 $2'-OH$ 的糖。在一些实施例中,相对糖是天然RNA糖。例如,在一些实施例中,寡核苷酸中的 $5'$ -相邻糖、相对糖和 $3'$ -相邻糖各自独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是 $2'-F$ 修饰的糖,并且相对糖和 $3'$ -相邻糖各自独立地是天然DNA糖。

[0459] 在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是 $2'-F$ 修饰的糖。在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是包含两个 $2'-H$ 的糖。在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是包含 $2'-OH$ 的糖。在一些实施例中, $5'$ -相邻糖是天然RNA糖。

[0460] 在一些实施例中, $3'$ -相邻糖是 $2'-F$ 修饰的糖。在一些实施例中, $3'$ -相邻糖是包含两个 $2'-H$ 的糖。在一些实施例中, $3'$ -相邻糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $3'$ -相邻糖是包含 $2'-OH$ 的糖。在一些实施例中, $3'$ -相邻糖是天然RNA糖。

[0461] 在一些实施例中,第二子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含 $2'-MOE$ 。在一些实施例中,第二子结构域中不超过约50%的糖

包含2'-MOE。在一些实施例中,第二子结构域中没有糖包含2'-MOE。

[0462] 在一些实施例中,第二子结构域包含约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中的核苷酸间键联的约5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第二子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,第二子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,第二子结构域中的至少约1-10(例如,约1-5、1-4、1-3,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,第二子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。

85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,第二子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第二子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域的核苷酸间键联与第二子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第二子结构域中的核苷和第一子结构域或第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第二子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第二子结构域中的核苷和第一子结构域或第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性受控的;在一些实施例中,它是 $R_p$ ;在一些实施例中,它是 $S_p$ 。

[0463] 在一些实施例中,第二子结构域包含一定水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第二子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例

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

[0464] 在一些实施例中,第二子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是S<sub>p</sub>或R<sub>p</sub>。在一些实施例中,高水平是如本文所述的S<sub>p</sub>。在一些实施例中,第二子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是R<sub>p</sub>。

[0465] 在一些实施例中,与第二子结构域中的天然DNA或RNA或2'-F修饰的糖键合的每个

核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个这样的经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,每个这样的经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或n001核苷酸间键联。在一些实施例中,与两个第二子结构域核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与两个第二子结构域核苷键合的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,与第二子结构域核苷键合的一个或多个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 键合的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,它是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中, $N_{-1}$ 包括次黄嘌呤并且在一些实施例中是脱氧肌苷。在一些实施例中,键合至包含次黄嘌呤的核苷的3'位置的磷酰基胍核苷酸间键联如n001是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,包含这样的 $S_p$ 磷酰基胍核苷酸间键联(诸如键合至包含次黄嘌呤的核苷(例如,脱氧肌苷)的位置3'的 $S_p$  n001)的寡核苷酸提供各种益处,例如,更高的活性、更好的特性、更低的制造成本和/或更多易于获得的制造材料等。

[0466] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第二子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第二子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-5,或约1、2、3、4或5。在一些实施例中,它是约1。在一些实施例中,它是约2。在一些实施例中,它是约3。在一些实施例中,它是约4。在一些实施例中,它是约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第二子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第二子结构域的3'末端。在一些实施例中,第二子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核

苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第二子结构域的最后一个核苷和第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,诸如n001。

[0467] 在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少1个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少2个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少3个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少4个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二子结构域包含至少5个天然磷酸酯键联。

[0468] 在一些实施例中,相对的核苷通过天然磷酸酯键联与其5'紧邻核苷连接。在一些实施例中,相对的核苷通过天然磷酸酯键联与其5'紧邻核苷连接。在一些实施例中,相对的核苷通过经修饰的核苷酸间键联与其5'紧邻核苷连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

[0469] 在一些实施例中,相对的核苷通过天然磷酸酯键联与其3'紧邻核苷(相对于相对的核苷在-1位)连接。在一些实施例中,相对的核苷通过经修饰的核苷酸间键联与其3'紧邻核苷连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一

些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性受控的。

[0470] 在一些实施例中,相对于相对的核苷在-1位的核苷以及相对于相对的核苷在-2位的核苷(例如,在5'-...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>...3'中,如果N<sub>0</sub>是相对的核苷,则N<sub>-1</sub>在-1位并且N<sub>-2</sub>在-2位)通过天然磷酸酯键联连接。在一些实施例中,它们通过经修饰的核苷酸间键联连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性受控的。

[0471] 在一些实施例中,第二子结构域的核苷和第三子结构域的核苷通过天然磷酸酯键联连接。在一些实施例中,它们通过经修饰的核苷酸间键联连接。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联并且是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且是手性受控的并且是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)并且不是手性受控的。

[0472] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3',其中N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个独立地是核苷,N<sub>1</sub>和N<sub>0</sub>与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N<sub>-1</sub>和N<sub>0</sub>与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N<sub>0</sub>与靶腺苷相对。在一些实施例中,N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个的糖独立地是天然DNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是2'-修饰的糖,并且N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的两个核苷酸间键联中的每一个独立地是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的两个核苷酸间键联中的每一个独立地是R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的两个核苷酸间键

联中的每一个独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且寡核苷酸中的每个其他硫代磷酸酯核苷酸间键联(如果有的话)独立地是Sp。在一些实施例中,与 $N_1$ 键合的5'核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与 $N_1$ 和 $N_0$ 键合的核苷酸间键联(即,与 $N_1$ 键合的3'核苷酸间键联)是Rp。在一些实施例中,与 $N_1$ 和 $N_0$ 键合的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与 $N_1$ 键合的3'核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,与 $N_0$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与 $N_0$ 或 $N_1$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与 $N_0$ 或 $N_1$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,与 $N_1$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是Rp。在一些实施例中,每个Rp核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个其他手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是Sp。

[0473] 在一些实施例中,5'紧邻核苷(例如, $N_1$ )的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2'-F修饰的糖(例如, $R^{2s}$ 是-F)。在一些实施例中,相对的核苷(例如, $N_0$ )的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'紧邻核苷(例如, $N_1$ )的糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖和2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'紧邻核苷、相对的核苷和3'紧邻核苷的糖各自独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,5'紧邻核苷、相对的核苷和3'紧邻核苷的糖分别是天然DNA糖、天然RNA糖和天然DNA糖。在一些实施例中,5'紧邻核苷、相对的核苷和3'紧邻核苷的糖分别是2'-F修饰的糖、天然RNA糖和天然DNA糖。

[0474] 在一些实施例中,相对的核苷的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,这种相对的核苷与3'紧邻I核苷(其任选地在比对时与靶核酸中的C互补)一起使用。在一些实施例中,3'紧邻核苷(例如, $N_1$ )与其3'紧邻核苷(例如, $N_2$ )之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,例如,n001。在一些实施例中,它是立体随机的。在一些实施例中,它是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,它是手性受控的并且是Sp。

[0475] 在一些实施例中,与3'紧邻核苷(例如, $N_1$ )及其3'相邻核苷(例如,5'- $N_1N_0N_1N_2$ -3'中的 $N_2$ )键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是立体随机的。在一些实施例中,它是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是立体随机不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是立体随机n001。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是手性受控的。在一些实施例中,它是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

[0476] 在一些实施例中, $N_1$ 是I。在一些实施例中,例如当靶核酸包含5'-CA-3'(其中A是靶腺苷)时,用I代替G。在一些实施例中,5'- $N_1N_0N_1$ -3'是5'- $N_1N_0I$ -3'。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A、b002A、b003A、b008U、b001C、C、A或U。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A、b002A、b008U、b001C、C或A。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A、b002A、b008U或b001C。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是b002A。在一些实施例中, $N_0$ 是b003A。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中, $N_0$ 是b001C。在一些实施例中, $N_0$ 是A。在一些实施例中, $N_0$ 是U。

[0477] 如本文所展示,在一些实施例中,所提供的包含与靶腺苷相对的某些核碱基(例如,b001A、b002A、b008U、C、A等)的寡核苷酸尤其可以提供改进的编辑效率(例如,与参考核碱基诸如U相比)。在一些实施例中,相对的核苷在其3'侧与I连接。

[0478] 在一些实施例中,第二子结构域包含如本文所述的编辑区。

[0479] 在一些实施例中,第二子结构域包含5'末端部分,例如长度为约1-5、1-3或1、2、3、4或5个核碱基的部分。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。

[0480] 在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分中的一个或多个(例如,约1-5、1-3或1、2、3、4或5个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0481] 在一些实施例中,5'末端部分中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,5'末端部分中的每个糖独立地不含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,5'末端部分中的每个糖独立地不含2'-OMe。

[0482] 在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个2'-F修饰的糖。

[0483] 在一些实施例中,5'末端中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖、包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)、或包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,5'末端部分中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100%。在一些实施例中,5'末端部分的糖选自具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)和2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个包含2'-OH的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0484] 在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键

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

[0485] 在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,5'末端部分的每个核苷酸间键联是Rp。

[0486] 在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)错配。在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)摇摆。在一些实施例中,5'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0487] 在一些实施例中,5'末端部分包含与相对的核苷5'相邻的核苷。在一些实施例中,与相对的核苷5'相邻的核苷包含如本文所述的核碱基。

[0488] 在一些实施例中,第二子结构域包含3'末端部分,例如长度为约1-5、1-3或1、2、3、4或5个核碱基的部分。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,第二子结构域由5'末端部分和3'末端部分组成。

[0489] 在一些实施例中,3'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分中的一个或多个(例如,约1-5、1-3或1、2、3、4或5个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0490] 在一些实施例中,3'末端部分中的低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、

20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,3'末端部分中的每个糖独立地不含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,3'末端部分中的每个糖独立地不含2'-OMe。

[0491] 在一些实施例中,3'末端部分包含一个或多个2'-F修饰的糖。

[0492] 在一些实施例中,3'末端中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖、包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)、或包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖、天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,3'末端部分中的高水平(例如,约60-100%,或约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或100%)的或所有的糖独立地是2'-F修饰的糖和天然DNA糖。在一些实施例中,水平为100%。在一些实施例中,3'末端部分的糖选自具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)和2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个包含两个2'-H的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个包含2'-OH的糖。在一些实施例中,3'末端部分包含1、2、3、4或5个天然RNA糖。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0493] 在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3'末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0494] 在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3'末端部分的每个核苷酸间键联是Rp。

[0495] 在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)错配。在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1、2、3、4或5个)摇摆。在一些实施例中,3'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0496] 在一些实施例中,3'末端部分包含与相对的核苷3'相邻的核苷。在一些实施例中,与相对的核苷3'相邻的核苷包含如本文所述的核碱基。在一些实施例中,与相对的核苷3'相邻的核苷与靶核酸中的相应核苷形成摇摆对。在一些实施例中,与相对的核苷3'相邻的核苷的核碱基是次黄嘌呤;在一些实施例中,它是次黄嘌呤的衍生物。

[0497] 在一些实施例中,第二子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第二子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第二子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互作用。

### 第三子结构域

[0498] 如本文所述,在一些实施例中,寡核苷酸从5'至3'包含第一结构域和第二结构域。在一些实施例中,第二结构域从5'至3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域或由这些结构域组成。下文以实例描述第三子结构域的某些实施例。

[0499] 在一些实施例中,第三子结构域具有约1-50、1-40、1-30、1-20个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约5-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约10-30个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约10-20个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约5-15个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约13-16个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约6-12个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约6-9个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约1-10个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有约1-7个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有1个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有2个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有3个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有4个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有5个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有6个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有7个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有8个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有9个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有10个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有11个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有12个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有13个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有14个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域具有15个核碱基的长度。在一些实施例中,第三子结构域比第一子结构域短。在一些实施例中,第三子结构域比第一结构域短。在一些实施例中,第三子结构域包含第二结构域的3'末端核碱基。

[0500] 在一些实施例中,第三子结构域是第二结构域的约或至少约5%-95%、10%-90%、20%-80%、30%-70%、40%-70%、40%-60%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、

35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%。在一些实施例中,百分比为约30%-80%。在一些实施例中,百分比为约30%-70%。在一些实施例中,百分比为约40%-60%。在一些实施例中,百分比为约20%。在一些实施例中,百分比为约25%。在一些实施例中,百分比为约30%。在一些实施例中,百分比为约35%。在一些实施例中,百分比为约40%。在一些实施例中,百分比为约45%。在一些实施例中,百分比为约50%。在一些实施例中,百分比为约55%。在一些实施例中,百分比为约60%。在一些实施例中,百分比为约65%。在一些实施例中,百分比为约70%。在一些实施例中,百分比为约75%。在一些实施例中,百分比为约80%。在一些实施例中,百分比为约85%。在一些实施例中,百分比为约90%。在一些实施例中,第三子结构域的5'末端核苷是N<sub>2</sub>。在一些实施例中,从N<sub>2</sub>到3'末端的所有核苷都在第三子结构域中。

[0501] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第三子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。在一些实施例中,存在1个错配。在一些实施例中,存在2个错配。在一些实施例中,存在3个错配。在一些实施例中,存在4个错配。在一些实施例中,存在5个错配。在一些实施例中,存在6个错配。在一些实施例中,存在7个错配。在一些实施例中,存在8个错配。在一些实施例中,存在9个错配。在一些实施例中,存在10个错配。

[0502] 在一些实施例中,当寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,在第三子结构域中存在一个或多个(例如,1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆。在一些实施例中,存在1个摇摆。在一些实施例中,存在2个摇摆。在一些实施例中,存在3个摇摆。在一些实施例中,存在4个摇摆。在一些实施例中,存在5个摇摆。在一些实施例中,存在6个摇摆。在一些实施例中,存在7个摇摆。在一些实施例中,存在8个摇摆。在一些实施例中,存在9个摇摆。在一些实施例中,存在10个摇摆。

[0503] 在一些实施例中,第三子结构域区域中的寡核苷酸和靶核酸的双链体包含一个或多个凸起,每个凸起独立地包含一个或多个不是摇摆的错配。在一些实施例中,存在0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。在一些实施例中,数目为0。在一些实施例中,数目为1。在一些实施例中,数目为2。在一些实施例中,数目为3。在一些实施例中,数目为4。在一些实施例中,数目为5。

[0504] 在一些实施例中,第三子结构域与靶核酸完全互补。

[0505] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个经修饰的核碱基。

[0506] 在一些实施例中,第三子结构域包含与靶腺苷相对的核苷(相对的核苷)。在一些实施例中,第三子结构域包含与相对的核苷3'相邻的核苷。在一些实施例中,第三子结构域包含与相对的核苷5'相邻的核苷。本文已经描述了多种合适的相对的核苷,包括糖及其核碱基。

[0507] 在一些实施例中,例如当寡核苷酸与靶核酸形成双链体时,第三子结构域包含与靶腺苷相对的核苷。本文描述了合适的核碱基,包括相对的核苷中的经修饰的核碱基。例如,在一些实施例中,相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的核碱基,其选自C、C的互变异构体、U、U的互变异构体、A、A的互变异构体和是或包含具有以下结构的环BA的核碱基:

BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI，或环BA的互变异构体。

[0508] 在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖（例如，天然DNA糖）。在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖（例如，天然RNA糖）。在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中，经修饰的糖是双环糖，例如LNA糖。在一些实施例中，经修饰的糖是无环糖（例如，通过断裂相应环糖的C2-C3键）。

[0509] 在一些实施例中，第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个（例如，约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个，或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等，约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等）经修饰的糖。在一些实施例中，第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个（例如，约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个，或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等，约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等）经修饰的糖，其独立地是双环糖（例如，LNA糖）或2'-OR修饰的糖，其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中，第三子结构域包含约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个（例如，约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个，或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等，约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等）经修饰的糖，其独立地是2'-OR修饰的糖，其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中，数目为1。在一些实施例中，数目为2。在一些实施例中，数目为3。在一些实施例中，数目为4。在一些实施例中，数目为5。在一些实施例中，数目为6。在一些实施例中，数目为7。在一些实施例中，数目为8。在一些实施例中，数目为9。在一些实施例中，数目为10。在一些实施例中，数目为11。在一些实施例中，数目为12。在一些实施例中，数目为13。在一些实施例中，数目为14。在一些实施例中，数目为15。在一些实施例中，数目为16。在一些实施例中，数目为17。在一些实施例中，数目为18。在一些实施例中，数目为19。在一些实施例中，数目为20。在一些实施例中，R是甲基。

[0510] 在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个（例如，约1-20，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等）包含2'-OH的糖。在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个（例如，约1-20，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等）包含两个2'-H的糖。在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个（例如，约1-20，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等）RNA糖。在一些实施例中，第三子结构域包含一个或多个（例如，约1-20，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等）DNA糖。

[0511] 在一些实施例中，第三子结构域中所有糖的约5%-100%（例如，约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-

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

[0512] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地具有不是2'-F的修饰。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-

90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域的经修饰的糖各自独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0513] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第三子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第三子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0514] 在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是

任选地经取代的 $-\text{CH}_2-$ 。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地包含 $2'$ -OMe。

[0515] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等) $2'$ -F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域不含 $2'$ -F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个双环糖和/或 $2'$ -OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,与 $2'$ -F修饰的糖的水平相比,单独或组合的双环糖和/或 $2'$ -OR修饰的糖(其中R不是-H)的水平相对较高。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含 $2'$ -F。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约50%的糖包含 $2'$ -F。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含 $2'$ -N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含 $2'$ -NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)双环糖,例如LNA糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

[0516] 在一些实施例中,第三子结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含 $2'$ -MOE。在一些实施例中,第三子结构域中不超过约50%的糖包含 $2'$ -MOE。在一些实施例中,第三子结构域中没有糖包含 $2'$ -MOE。

[0517] 在一些实施例中,第三子结构域包含约1-50,1-40,1-30,1-25,1-20,1-15,1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中的核苷酸间键联的约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的或手性的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,例如n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯

核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第三子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,第三子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是 $Sp$ 。在一些实施例中,每个独立地是手性受控的。在一些实施例中,第三子结构域中的至少约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $Sp$ 。在一些实施例中,第三子结构域中的手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $Sp$ 。在一些实施例中,第三子结构域中的硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-

100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是 $S_p$ 。在一些实施例中,数目为一个或多个。在一些实施例中,数目为2个或更多个。在一些实施例中,数目为3个或更多个。在一些实施例中,数目为4个或更多个。在一些实施例中,数目为5个或更多个。在一些实施例中,数目为6个或更多个。在一些实施例中,数目为7个或更多个。在一些实施例中,数目为8个或更多个。在一些实施例中,数目为9个或更多个。在一些实施例中,数目为10个或更多个。在一些实施例中,数目为11个或更多个。在一些实施例中,数目为12个或更多个。在一些实施例中,数目为13个或更多个。在一些实施例中,数目为14个或更多个。在一些实施例中,数目为15个或更多个。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,连接两个第三子结构域核苷的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 手性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的核苷酸间键联与第三子结构域的两个核苷键合。在一些实施例中,与第三子结构域中的核苷和第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联可以被适当地认为是第三子结构域的核苷酸间键联。在一些实施例中,与第三子结构域中的核苷和第三子结构域中的核苷键合的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性核苷酸间键联;在一些实施例中,它是手性受控的;在一些实施例中,它是 $R_p$ ;在一些实施例中,它是 $S_p$ 。

[0518] 在一些实施例中,第三子结构域包含一定水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有手性核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、

75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,水平为第三子结构域中的所有手性受控的核苷酸间键联的约例如约5%-100%、约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,百分比为至少约55%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约65%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为约100%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约5%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约10%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约15%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约20%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约25%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约30%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约35%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约40%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约45%。在一些实施例中,百分比为约或不超过约50%。在一些实施例中,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、1-5,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸间键联独立地是Rp手性核苷酸间键联。在一些实施例中,数目为约或不大于约1。在一些实施例中,数目为约或不大于约2。在一些实施例中,数目为约或不大于约3。在一些实施例中,数目为约或不大于约4。在一些实施例中,数目为约或不大于约5。在一些实施例中,数目为约或不大于约6。在一些实施例中,数目为约或不大于约7。在一些实施例中,数目为约或不大于约8。在一些实施例中,数目为约或不大于约9。在一些实施例中,数目为约或不大于约10。

[0519] 在一些实施例中,第三子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,第三子结构域中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0520] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,第三子结构域包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,第三子结构域中不带负电荷的核苷酸间键联的

数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,它是约1。在一些实施例中,它是约2。在一些实施例中,它是约3。在一些实施例中,它是约4。在一些实施例中,它是约5。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第三子结构域中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联位于第三子结构域的3'末端。在一些实施例中,第三子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的最后两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域的最后两个核苷是第二结构域的最后两个核苷。在一些实施例中,第三子结构域的最后两个核苷是寡核苷酸的最后一个核苷。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Rp不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,连接第三子结构域的前两个核苷的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联,诸如n001。在一些实施例中,它是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,寡核苷酸的最后一个和/或倒数第二个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联,如n001。在一些实施例中,它是手性受控的并且是Rp。

[0521] 在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第三子结构域不含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与N<sub>2</sub>和N<sub>3</sub>键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖并且N<sub>2</sub>的糖是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe修饰的糖)。在一些实施例中,在键合至第三子结构域的两个核苷的所有核苷酸间键联中,一个是天然磷酸键联(例如,如本文所述在N<sub>2</sub>和N<sub>3</sub>之间),一个是Rp不带负电荷的核苷酸间键联,诸如磷酰基胍核苷酸间键联n001(例如,寡核苷酸的最后一个或倒数第二个核苷酸间键联),并且所有其他的键联都是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0522] 在一些实施例中,第三子结构域包含5'末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-8、1-5、1-3、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,5'末端部分具有约1-3个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施

例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,5'末端部分包含第三子结构域的5'末端核碱基。在一些实施例中,第三子结构域包含3'末端部分和5'末端部分或由其组成。在一些实施例中,5'末端部分包含第三子结构域的5'末端核碱基。在一些实施例中,第三子结构域的5'末端部分与第二子结构域键合。

[0523] 在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,5'末端部分中的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

[0524] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F或2'-OMe。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0525] 在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平(数量和/或百分比)的2'-F修饰的糖和/或含有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖),和/或更低水平(数量和/或百分比)的其他类型的经修饰的糖,例如,双环糖和/或具有2'-OR修饰的糖,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平的2'-F修饰的糖和/或更低水平的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平的2'-F修饰的糖和/或更低水平的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平的天然DNA糖和/或更低水平的2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含低水平的(例如,不超过50%、40%、30%、25%、20%或10%的,或不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)作为双环糖或含有2'-OR的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,甲基)。在一些实施例中,5'末端部分不含作为双环糖或含有2'-OR的糖的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,甲基)。

[0526] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。在一些实施例中,没有经修饰的糖包含2'-OMe或其他2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,5'末端部分的每个糖独立地包含两个2'-H或2'-F修饰。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1-3个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1、2、3、4或5个天然DNA糖。在一些实施例中,5'末端部分包含1-3个天然DNA糖。

[0527] 在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是R<sub>p</sub>。在一些实施例中,5'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,5'末端部分的每个核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,与3'末端部分相比,5'末端部分包含更高水平(数量和/或百分比)的R<sub>p</sub>核苷酸间键联和/或天然磷酸酯键联。

[0528] 在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,5'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摇摆。在一些实施例中,5'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0529] 在一些实施例中,第三子结构域包含3'末端部分,例如具有约1-20、1-15、1-10、1-8、1-4、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核碱基的长度的部分。在一些实施例中,3'末端部分具有约3-6个核碱基的长度。在一些实施例中,长度为一个核碱基。在一些实施例中,长度为2个核碱基。在一些实施例中,长度为3个核碱基。在一些实施例中,长度为4个核碱基。在一些实施例中,长度为5个核碱基。在一些实施例中,长度为6个核碱基。在一些实施例中,长度为7个核碱基。在一些实施例中,长度为8个核碱基。在一些实施例中,长度为9个核碱基。在一些实施例中,长度为10个核碱基。在一些实施例中,3'末端部分包含第三子结构域的3'末端核碱基。

[0530] 在一些实施例中,3'末端部分包含一个或多个具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分包含一个或多个具有2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。在一些实施例中,3'末端部分中的一个或多个(例如,约1-20、1-15、1-10、3-8或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,3'末端部分中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-

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

[0531] 在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F或2'-OMe。在一些实施例中,3'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,3'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是双环糖(例如,LNA糖)或具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,3'末端部分中的每个经修饰的糖独立地是具有2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是甲基。

[0532] 在一些实施例中,3'末端部分中的一个或多个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,3'末端部分中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。在一些实施例中,L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,L<sup>B</sup>是-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中,3'末端部分中的每个糖独立地包含2'-OMe。

[0533] 在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,3'末端部分的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,3'末端部分的每个核苷酸间键联是Sp。

[0534] 在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)错配。在一些实施例中,3'末端部分包含如本文所述的一个或多个(例如,约1-10个,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)摇摆。在一些实施例中,3'末端部分与靶核酸约60-100%(例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。在一些实施例中,互补性为60%或更高。在一些实施例中,互补性为70%或更高。在一些实施例中,互补性为75%或更高。在一些实施例中,互补性为80%或更高。在一些实施例中,互补性为90%或更高。

[0535] 在一些实施例中,第三子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白(例如,ADAR1、ADAR2等)、促进或有助于该蛋白的募集。在一些实施例中,第三子结构域募集蛋白诸如ADAR蛋白,或促进或有助于与该蛋白的相互作用。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR的RNA结合结构域(RBD)接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR1的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域与ADAR2的具有脱氨酶活性的结构域接触。在一些实施例中,第三子结构域的多种核碱基、糖和/或核苷酸间键联可与蛋白(例如,ADAR蛋白)的一个或多个残基相互

作用。

[0536] 如本文所展示,可以在寡核苷酸中利用手性核苷酸间键联的键联磷的手性控制以提供多种特性和/或活性。在一些实施例中,R<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)、S<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)或非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)位于与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处(“+”是从核苷向寡核苷酸的5'末端计数,其中+1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相对的核苷与其5'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,是键合至与靶腺苷相对的核苷的5'-碳的核苷酸间键联,或是位于5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'的N<sub>1</sub>和N<sub>0</sub>之间的核苷酸间键联,其中如本文所述,N<sub>0</sub>是与靶腺苷相对的核苷),并且“-”是从核苷向寡核苷酸的3'末端计数,其中-1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相对的核苷与其3'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,是键合至与靶腺苷相对的核苷的3'-碳的核苷酸间键联,或是位于5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'的N<sub>-1</sub>和N<sub>0</sub>之间的核苷酸间键联,其中如本文所述,N<sub>0</sub>是与靶腺苷相对的核苷))。在一些实施例中,R<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,S<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>核苷酸间键联(例如,S<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)在与靶腺苷相对的核苷的位置-2、-1、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。

[0537] 在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+8处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+7处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+6处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+5处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+4处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+3处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+2处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置+1处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-1处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-2处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-3处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-4处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-5处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-6处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-7处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>在位置-8处。在一些实施例中,R<sub>p</sub>是手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的构型。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+8处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+7处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+6处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+5处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+4处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+3处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+2处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置+1处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-1处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-2处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-3处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-4处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-5处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-6处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-7处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>在位置-8处。在一些实施例中,S<sub>p</sub>是手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的构型。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+8处。

在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+7处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-6处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+5处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+4处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+3处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+2处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置+1处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-1处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-2处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-3处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-4处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-5处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-6处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-7处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联在位置-8处。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联是非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0538] 在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第一结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,第一结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,第二结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,第二结构域中至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Rp核苷酸间键联(例如,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)Sp核苷酸间键联(例如,Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)非手性受控的核苷酸间键联(例如,非手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联在第一子结构域的3'末端部分处。

[0539] 在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸及其组合物中使用一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含一个或多个(例如,约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、

45或50个或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含两个或更多个(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个或更多个)连续天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联不是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的或所有的核苷酸间键联不是连续天然磷酸酯键联。

[0540] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分包含一个或多个天然磷酸酯键联和一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分包含一个或多个天然磷酸酯键联和一个或多个手性受控的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联,其各自独立地与不含2'-OR修饰的两个糖键合,其中R如本文所述但不是-H。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续天然磷酸酯键联,其各自独立地与不含2'-OR修饰的两个糖键合,其中R如本文所述但不是-H。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个天然磷酸酯键联,其各自独立地与两个2'-F修饰的糖键合。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个连续的天然磷酸酯键联,其各自独立地与两个2'-F修饰的糖键合。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,

第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与不含2'-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的两个糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与两个2'-F修饰的糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%,例如,不超过10%、不超过15%、不超过20%、不超过25%、不超过约30%、不超过约40%、不超过50%等与不含2'-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的两个糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%,例如,不超过10%、不超过15%、不超过20%、不超过25%、不超过约30%、不超过约40%、不超过50%等与两个2'-F修饰的糖键合的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与不含2'-OR修饰(其中R如本文所述但不是-H)的两个糖键合的连续核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)中,不超过约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、35、40、45或50个,例如,不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个等与两个2'-F修饰的糖键合的连续核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

[0541] 在一些实施例中,天然磷酸酯键联在与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1和+1中的一个或多个位置处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1和+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+8处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+7处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-6处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+5处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+4处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+3处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+2处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-2处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-3处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-4处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-5处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-6处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-7处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-8处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置-1

处,并且经修饰的核苷酸间键联在位置+1处。在一些实施例中,天然磷酸酯键联在位置+1处,并且经修饰的核苷酸间键联在位置-1处。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性受控的 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性受控的 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域包含不超过2个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第二结构域包含不超过1个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,可以在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等)的多种位置利用单个天然磷酸酯键联。

[0542] 在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分的特定位置利用特定类型的糖。例如,在一些实施例中,第一结构域包含多个2'-F修饰的糖(和任选地多个2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,在一些实施例中处于比2'-F修饰的糖更低的水平);第一子结构域包含多个2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe修饰的糖;和任选地多个2'-F糖,在一些实施例中处于比2'-OR修饰的糖更低的水平,其中R不是-H);第二结构域包含一个或多个天然DNA糖(在位置2'处没有取代)和/或一个或多个2'-F修饰的糖;和/或第三子结构域包含多个2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe修饰的糖;和任选地多个2'-F糖,在一些实施例中处于比2'-OR修饰的糖更低的水平,其中R不是-H)。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在与靶腺苷相对的核苷的位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和+8中的一个或多个位置处(“+”是从该核苷向寡核苷酸的5'末端计数的,“-”是从该核苷向寡核苷酸的3'末端计数的,其中位置0是与靶腺苷相对的该核苷的位置,例如:5'... $N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}$ ...3')。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4和+5中的一个或多个位置处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-3、-2、-1、0、+1、+2和+3中的一个或多个位置处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-2、-1、0、+1和+2中的一个或多个位置处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地在位置-1、0和+1中的一个或多个位置处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+8处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+7处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+6处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+5处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+4处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+3处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+2处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置+1处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置0处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-8处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-7处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-6处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-5处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-4处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-3处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-2处。在一些实施例中,特定类型的糖在位置-1处。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2'-碳处有两个2'-H)、2'-OMe修饰的糖和2'-F修饰的糖的糖。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2'-碳处有两个2'-H)和2'-OMe修饰的糖的糖。在一些实施例中,特定类型的糖独立地是选自天然DNA糖(在2'-碳处有两个2'-H)和2'-F修饰的糖的糖,例如对于位置0、-1和/或+1处的糖。在一些实施例中,特定类型的糖是天然DNA糖(在2'-碳处有两个2'-H),例如在位置-1、0或+1处。在一些实施例中,特定类型的糖是2'-F修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、

+7和/或+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2'-F修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置-2处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置-3处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置-4处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+2处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+3处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+4处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+5处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+6处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+7处。在一些实施例中,2'-F修饰的糖在位置+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2'-OMe修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,特定类型的糖是2'-OMe修饰的糖,例如在位置-8、-7、-6、-5、-4、-3、-2、+2、+3、+4、+5、+6、+7和/或+8处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置-2处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置-3处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置-4处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+2处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+3处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+4处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+5处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+6处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+7处。在一些实施例中,2'-OMe修饰的糖在位置+8处。在一些实施例中,位置0处的糖不是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置0处的糖是天然DNA糖(在2'-碳处有两个2'-H)。在一些实施例中,位置0处的糖不是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-1处的糖不是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-2处的糖不是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,位置-3处的糖不是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个2'-F修饰的糖和任选地2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于比2'-F修饰的糖更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于比2'-F修饰的糖更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H。在一些实施例中,第一结构域包含1、2、3或4个,或1个且不多于1个、2个且不多于2个、3个且不多于3个、或4个且不多于4个2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域的第一糖、第二糖、第三糖和/或第四糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,包含2'-OR的糖是连续的。在一些实施例中,第一结构域在其5'末端包含2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的糖,其中每个糖独立地包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。在一些实施例中,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,第二结构域包含一个或多个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2'-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,第一子结构域包含一个或多个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2'-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2'-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平;在一些实施例中,以更高的水平)。在一些实施例中,第三子结构域包含约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%的糖独立地包含2'-F修饰。在一些实施例中,第三子结构域中的第一2'-F修饰的糖(从

5'至3')不是第三子结构域中的第一糖。在一些实施例中,第三子结构域中的第一2'-F修饰的糖在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置-3处。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个糖独立地是经修饰的糖,其中修饰选自2'-F和2'-OR,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,修饰选自2'-F和2'-OMe。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的一个或多个经修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖,并且第三子结构域中的一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域中的每个经修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖,但第三子结构域的第一糖除外,其在一些实施例中是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,第三子结构域包含一个或多个2'-OR修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平),其中R如本文所述并且不是-H,和任选地2'-F修饰的糖(在一些实施例中处于更低的水平)。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。在一些实施例中,2'-OR是2'-MOE。

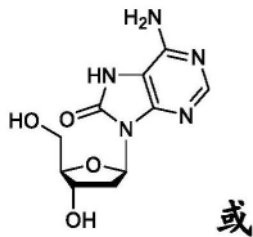
### 编辑区

[0543] 在一些实施例中,本披露提供包含编辑区的寡核苷酸,例如,包含或由以下组成的区:如本文所述的5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'。在一些实施例中,编辑区是或包含与靶腺苷相对的核苷(通常,当寡核苷酸的碱基序列与靶序列进行最大互补性比对时,和/或寡核苷酸与靶核酸杂交时)及其相邻核苷。在一些实施例中,编辑区是或包含三个核碱基,其中中间的核碱基是与靶腺苷相对的核苷。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷是如本文所述的N<sub>0</sub>。

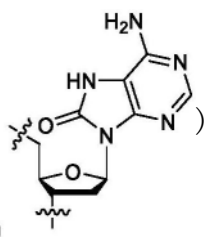
[0544] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的核碱基(可称为BA<sub>0</sub>)是C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是经修饰的核碱基,如本文所述。在一些实施例中,核碱基,例如,BA<sub>0</sub>,是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代或被保护的以下项,或以下项的任选地经取代或被保护的互变异构体:C、T、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I和zdnP。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代或被保护的以下项,或以下项的任选地经取代或被保护的互变异构体:zdnP、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b001A、b002A、b003A、b001C、b002C、b003C的互变异构体、b002I、b003I或b001G。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的核碱基是任选地经取代或被保护的以下项,或以下项的任选地经取代或被保护的互变异构体:C、zdnP、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b001A、b002A、b003A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I或b001G,并且N<sub>0</sub>的糖为天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的核碱基是任选地经取代或被保护的以下项,或以下项的任选地经取代或被保护的互变异构体:C、zdnP、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b001A、b002A、b003A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I或b001G,并且N<sub>0</sub>的糖为天然RNA糖。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是T。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是次黄嘌呤。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b001U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b002U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b003U。

在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b004U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b005U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b006U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b007U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b008U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b009U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b011U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b012U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b013U。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b001A。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b002A。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b003A。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b001C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b002C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b003C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b004C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b005C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b006C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b007C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b008C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b009C。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b002I。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b003I。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b004I。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b014I。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b001G。在一些实施例中,BA<sub>0</sub>是b002G。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是天然DNA糖,或其2'-H中的一个经-OH或-F取代而另一个2'-H未取代的天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是天然RNA糖。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是无环糖。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm01。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm04。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm11。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm12。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是rsm13。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是rsm14。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm15。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm16。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm17。在一些实施例中,N<sub>0</sub>的糖是sm18。尤其是,本披露证实可在寡核苷酸的N<sub>0</sub>处利用各种经修饰的核碱基和/或各种糖以提供腺苷编辑活性。在一些实施例中,据观察,与参考核碱基相比(例如,在可比较的条件下,包括在其他方面相同的寡核苷酸中、在相同或可比较的测定中评估等),b001A作为BA<sub>0</sub>可以提供改进的腺苷编辑效率。在一些实施例中,观察到作为BA<sub>0</sub>的b008U可以提供改进的腺苷编辑效率。在一些实施例中,参考核碱基是U。在一些实施例中,参考核碱基是T。在一些实施例中,参考核碱基是C。

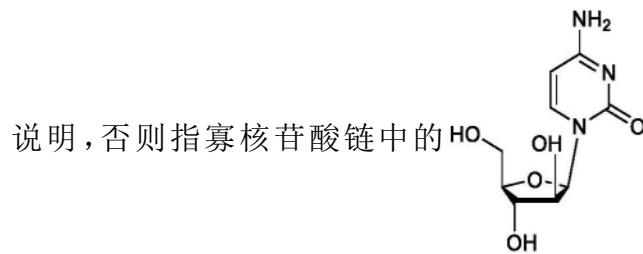
[0545] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷,例如,N<sub>0</sub>,是dC。在一些实施例中,它是rC。在一些实施例中,它是fC。在一些实施例中,它是dT。在一些实施例中,它是rT。在一些实施例中,它是fT。在一些实施例中,它是dU。在一些实施例中,它是rU。在一些实施例中,它是fU。在一些实施例中,它是b001A(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



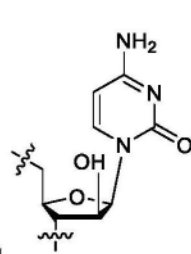
或



。在一些实施例中,它是Csm15(当用于核苷时,除非另有

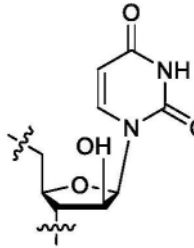
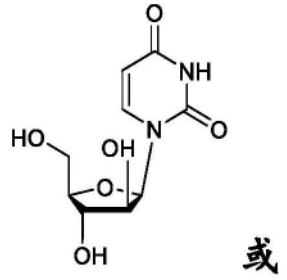


或

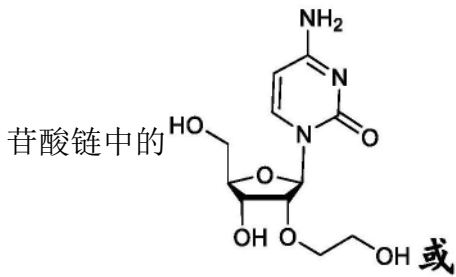


说明,否则指寡核苷酸链中的

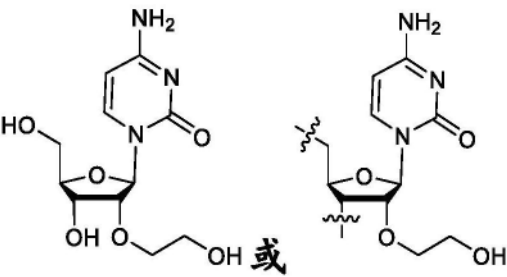
Usm15 (当用于核苷时, 除非另有说明, 否则指寡核苷酸链中的



。在一些实施例中, 它是rCsm13 (当用于核苷时, 除非另有说明, 否则指寡核

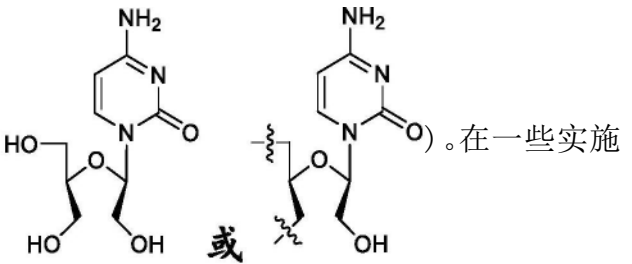


苷酸链中的

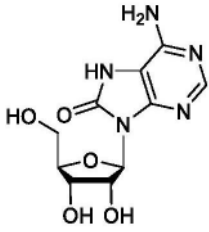


。在一些实施例中, 它是Csm04 (当用于核

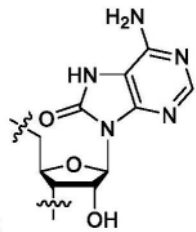
苷时, 除非另有说明, 否则指寡核苷酸链中的



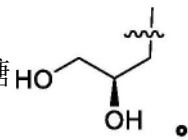
例中, 它是b001rA (当用于核苷时, 除非另有说明, 否则指寡核苷酸链中的



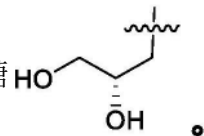
或



。在一些实施例中, 糖是(R)-GNA糖

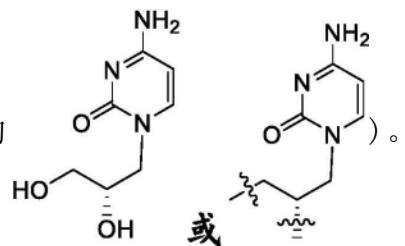


施例中, 糖是(S)-GNA糖



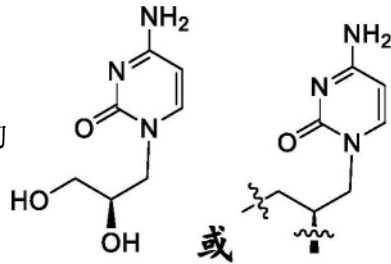
。在一些实施例中, 它是S-GNA C, 在本文中也称为

Csm11 (当用于核苷时, 除非另有说明, 否则指寡核苷酸链中的



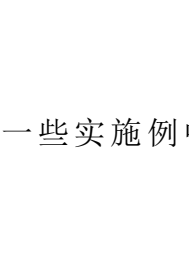
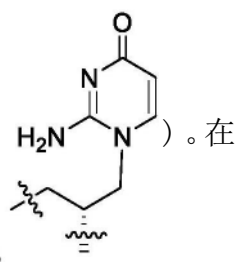
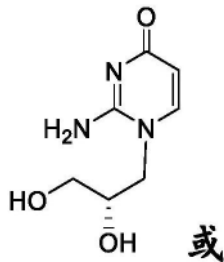
在一些实施例中,它是R-GNA C,在本文中也称为Csm12(当用于核苷时,除非另有说明,否则

指寡核苷酸链中的



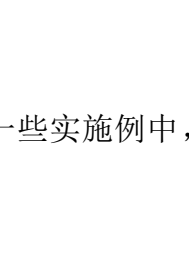
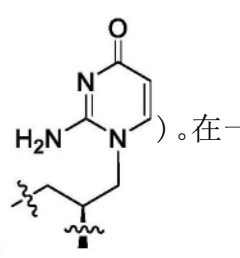
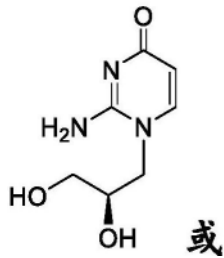
。在一些实施例中,它是S-GNA isoC,在本

文中也称为b009Csm11(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



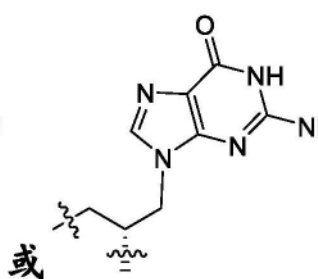
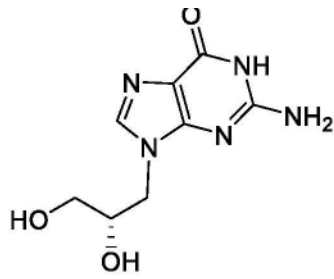
。在一些实施例中,它是R-GNA isoC,在本文中也称为

b009Csm12(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



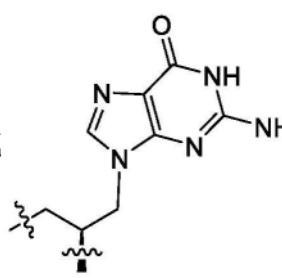
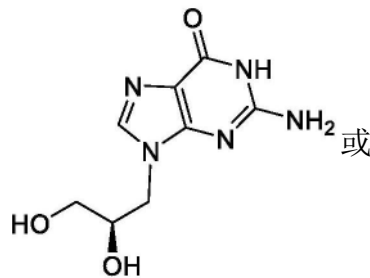
。在一些实施例中,它是S-GNA G,在本文中也称为Gsm11(当用

于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



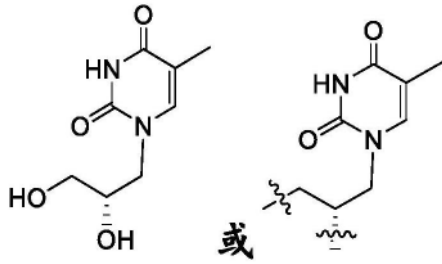
。在一些实施例中,它是R-GNAG,在本文

中也称为Gsm12(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



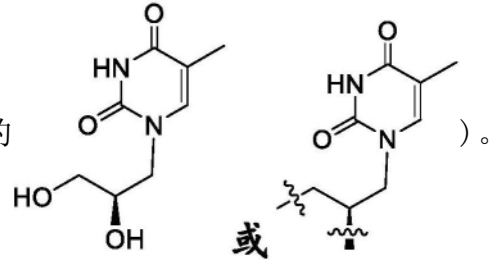
。在一些实施例中,它是S-GNA T,在本文

中也称为Tsm11(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

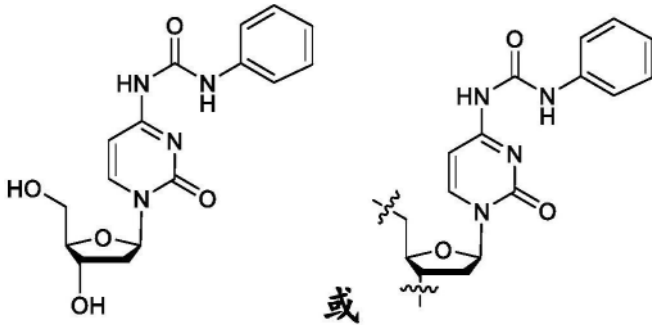


)。在一些实施例中,它是R-GNA T,在本文中也称为Tsm12

(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

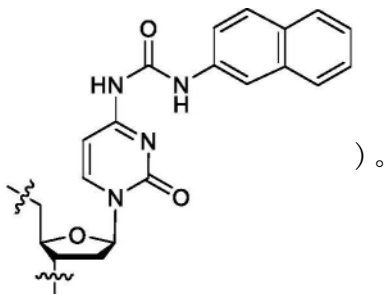
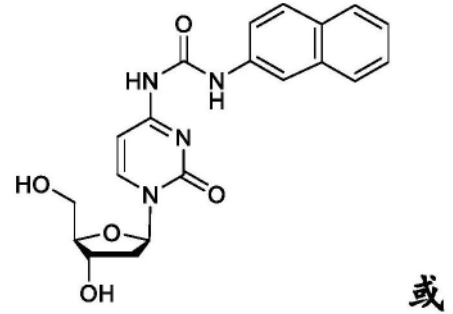


在一些实施例中,它是b004C(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

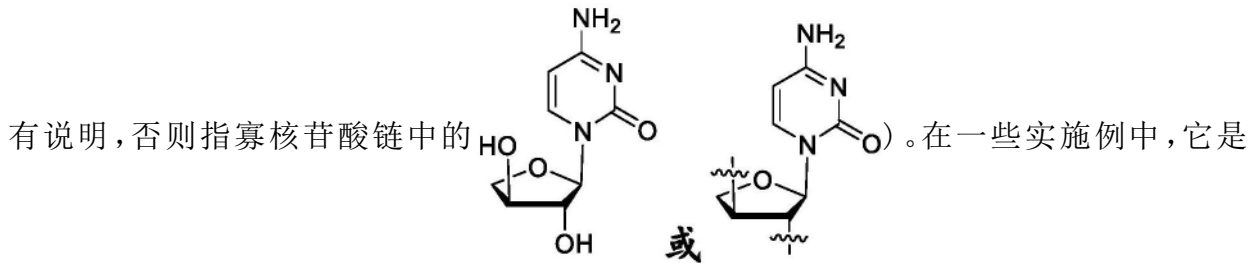
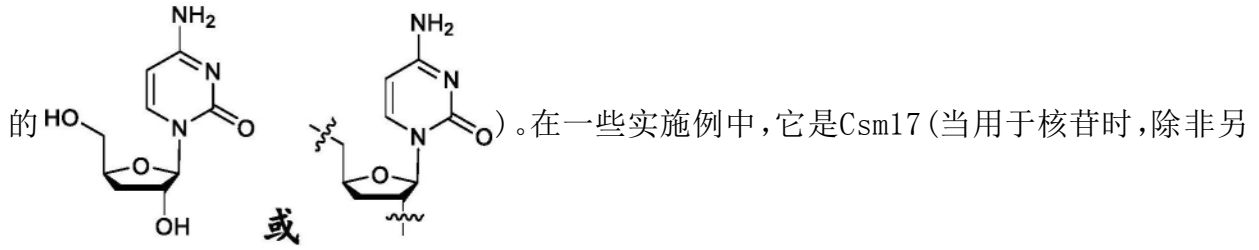


)。在一些实施例中,它是b007C(当用于核

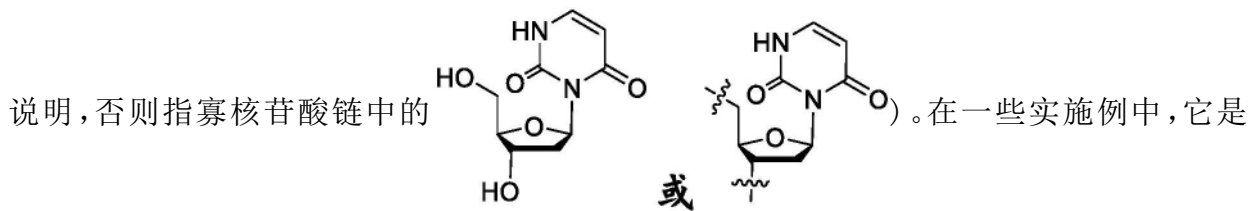
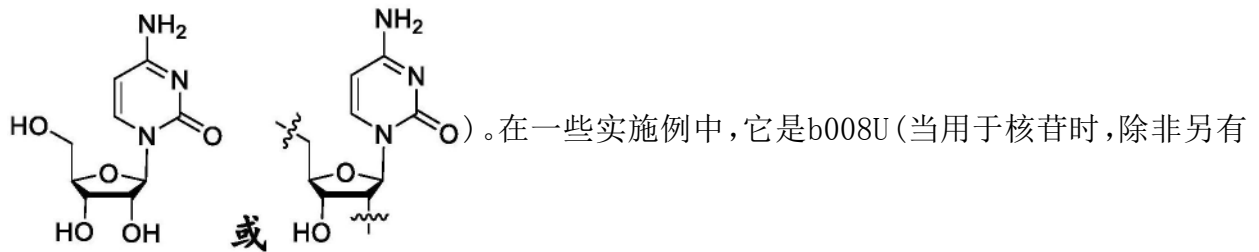
苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



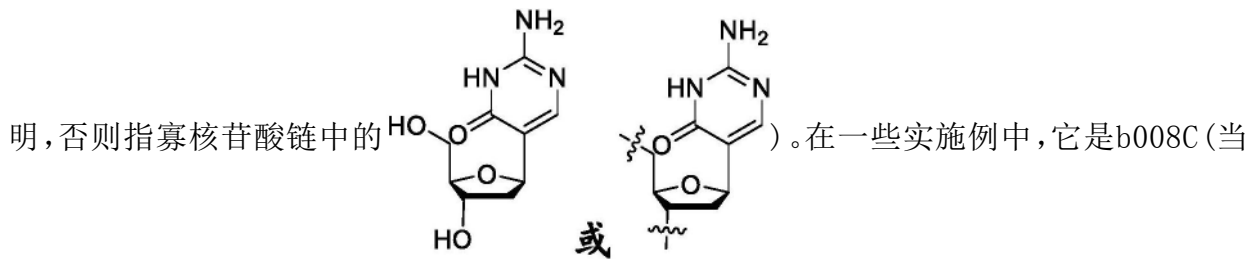
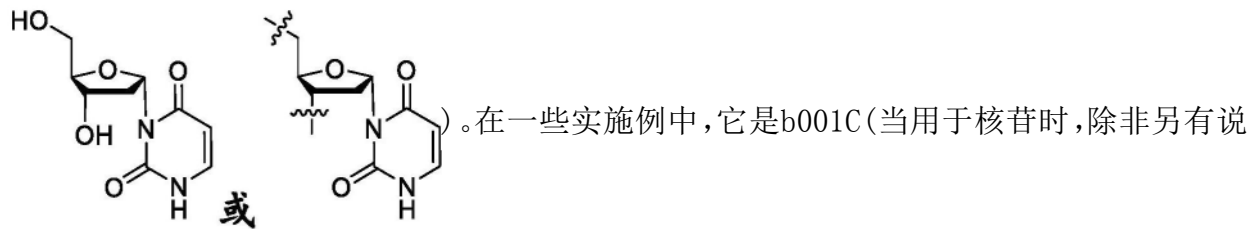
在一些实施例中,它是Csm16(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中



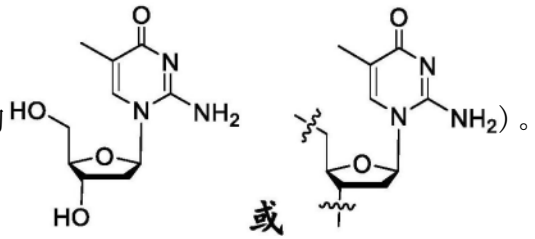
r C s m 1 4 (当用于核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



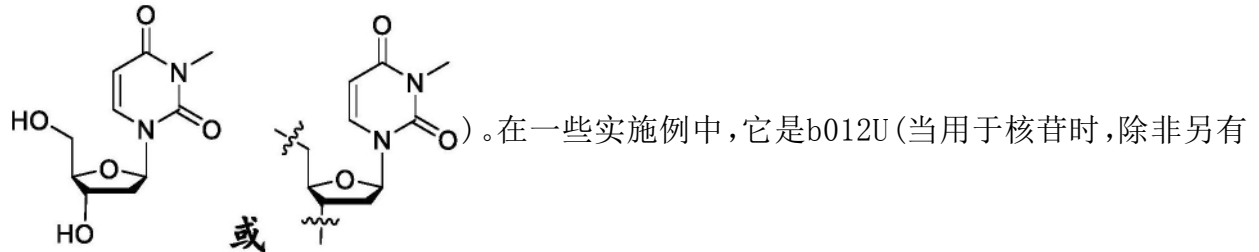
b010U(当用于核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



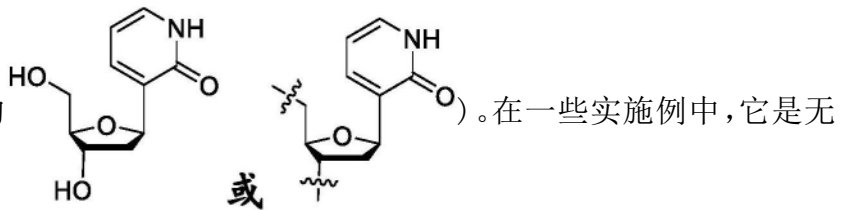
用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



在一些实施例中,它是b011U(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

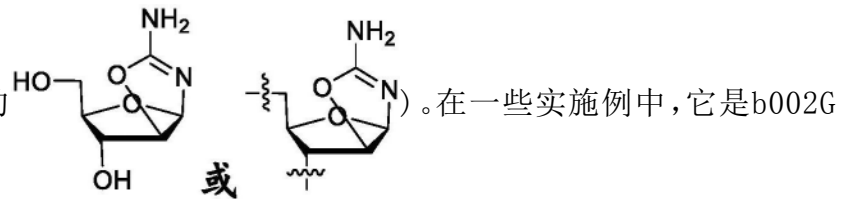


说明,否则指寡核苷酸链中的

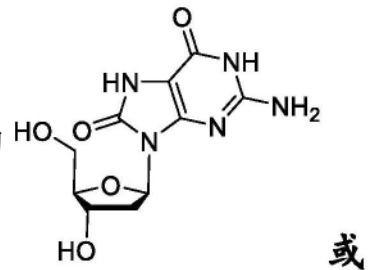


碱基的。在一些实施例中,它是L010。在一些实施例中,它是L034(当用于核苷时,除非另有

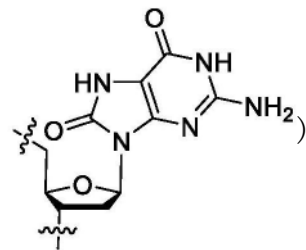
说明,否则指寡核苷酸链中的



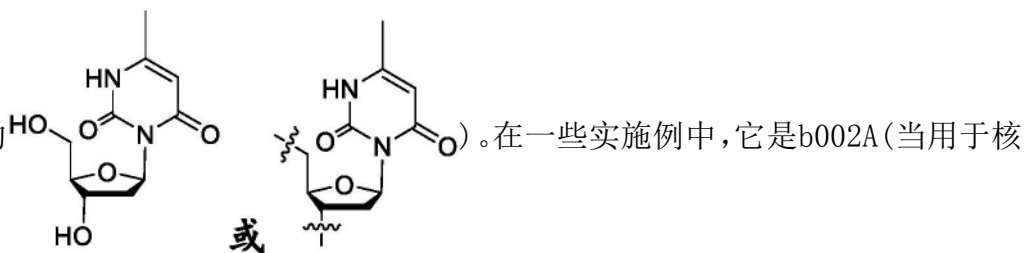
(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



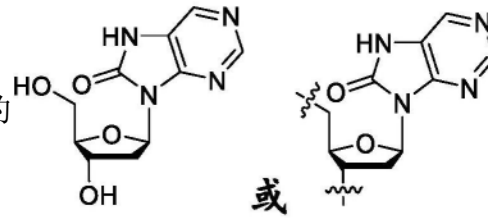
在一些实施例中,它是b013U(当用于核苷时,除非另有说明,否则指



寡核苷酸链中的

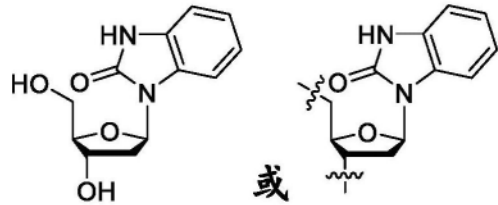


苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



)。在一些

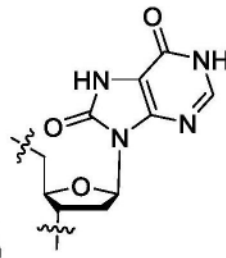
实施例中,它是b003A(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



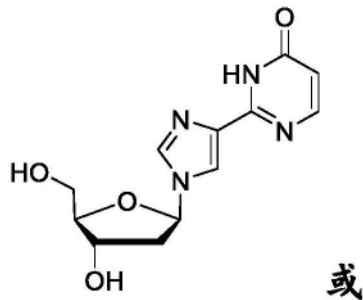
)。在一些实施例中,它是b004I(当用于核苷时,除非另



有说明,否则指寡核苷酸链中的

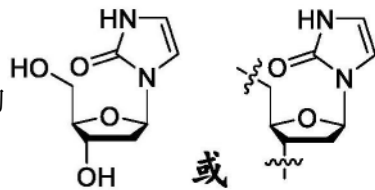


它是b014I(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



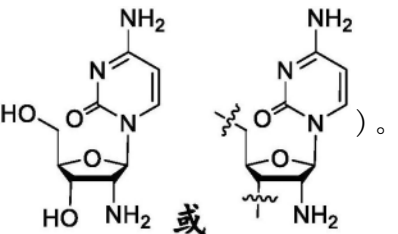
)。在一些实施例中,它是b009U(当用于核苷

时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

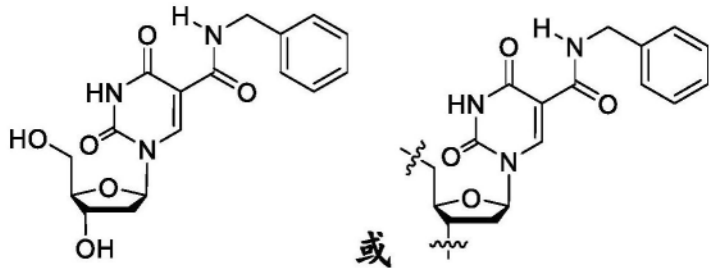


)。在一些实施例中,

它是aC(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

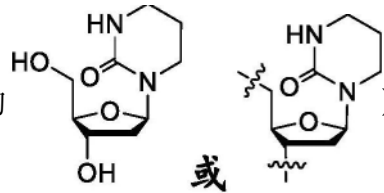


在一些实施例中,它是b001U(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

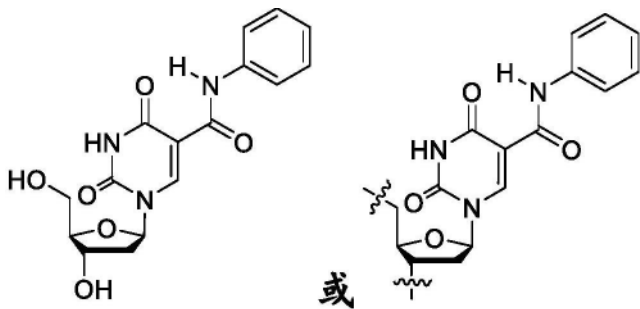


。在一些实施例中，它是b002U(当用于

核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的

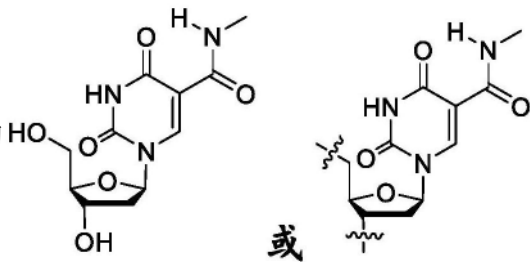


中，它是b003U(当用于核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



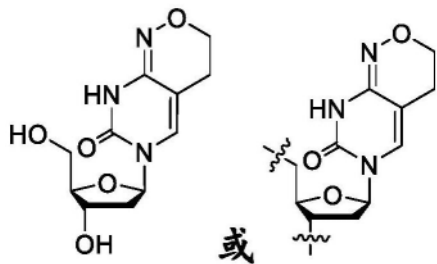
。在一些实施例中，它是b004U(当用于核苷

时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



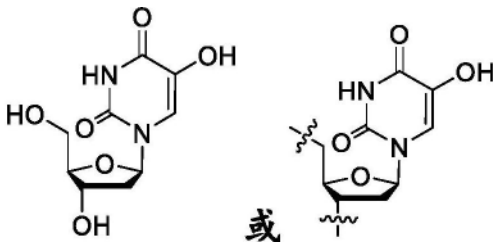
。在一些

实施例中，它是b005U(当用于核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



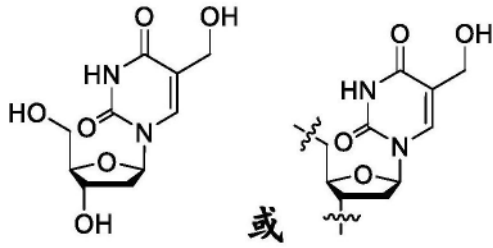
。在一些实施例中，它是b006U(当用于核苷时，除非另有说

明，否则指寡核苷酸链中的



。在一些实施例中，它是

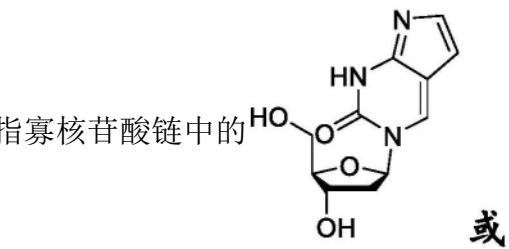
b007U(当用于核苷时，除非另有说明，否则指寡核苷酸链中的



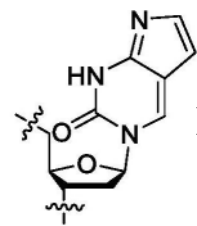
或 )。在一些实施例中,它是b001G(当用于核苷时,除非另



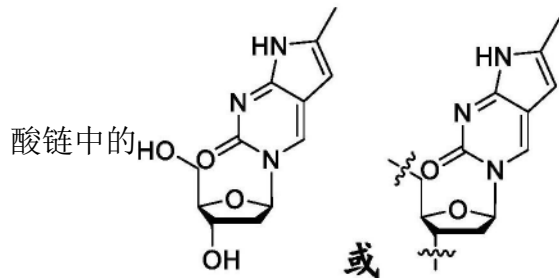
有说明,否则指寡核苷酸链中的HO(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



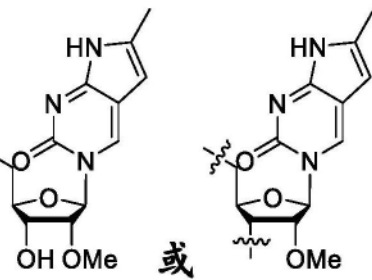
例中,它是b002C(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



或 )。在一些实施例中,它是b003C(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷

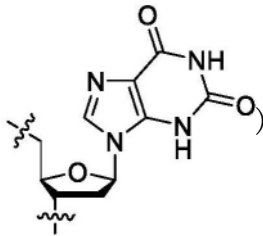
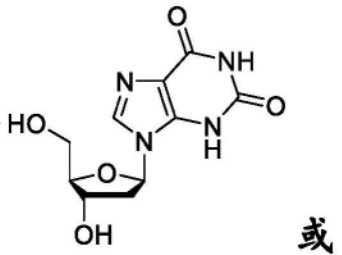


酸链中的HO(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

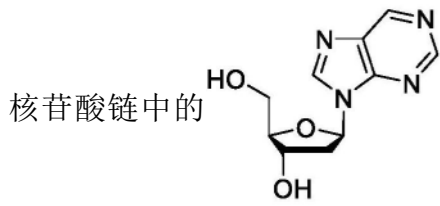


非另有说明,否则指寡核苷酸链中的HO(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的

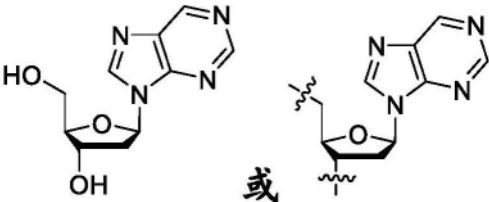
是b002I(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



。在一些实施例中,它是b003I(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡

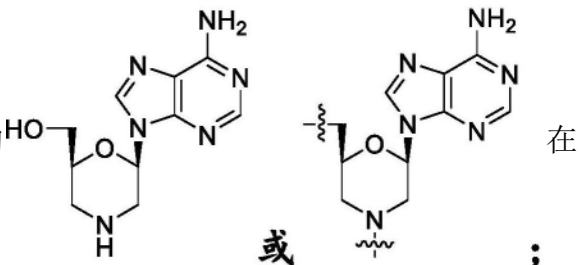


核苷酸链中的



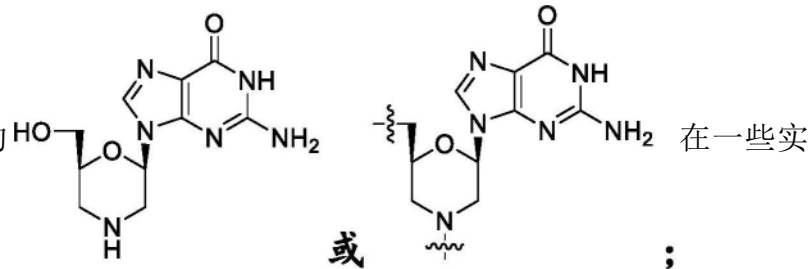
。在一些实施例中,它是Asm01(当用于

核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链中的



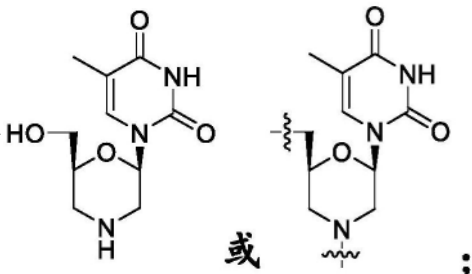
一些实施例中,氮原子键合至键联磷)。在一些实施例中,它是Gsm01(当用于核苷时,除非另

有说明,否则指寡核苷酸链中的



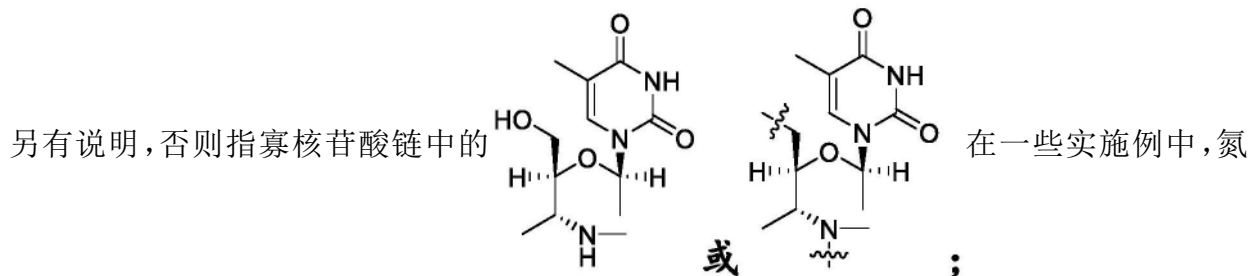
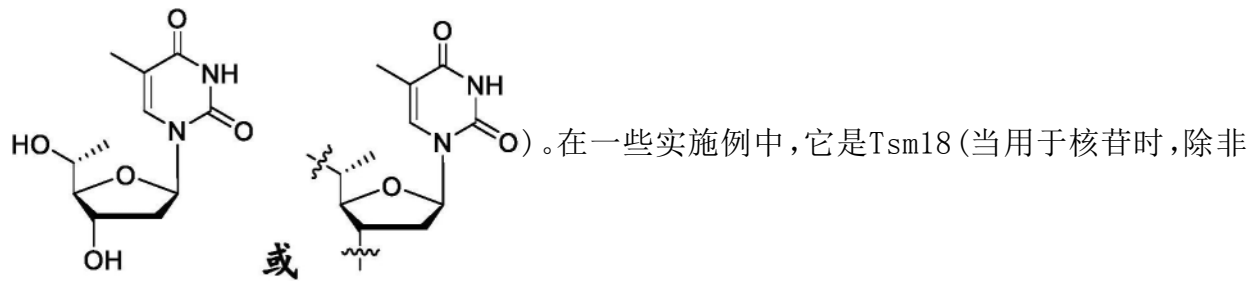
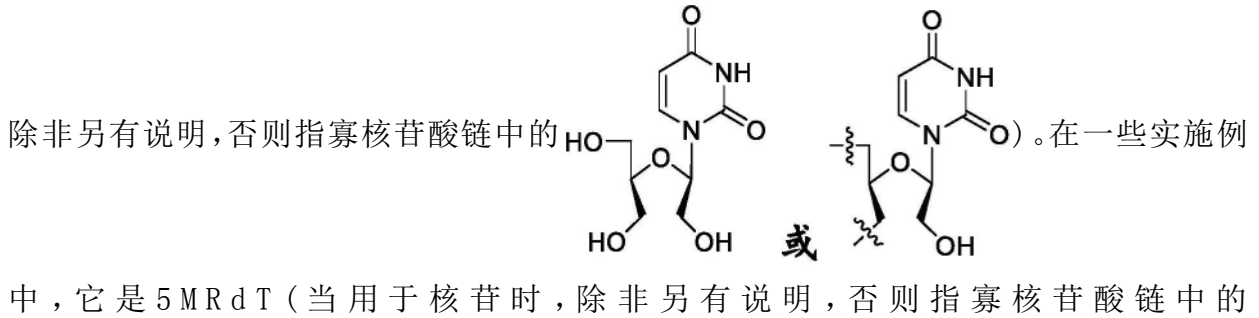
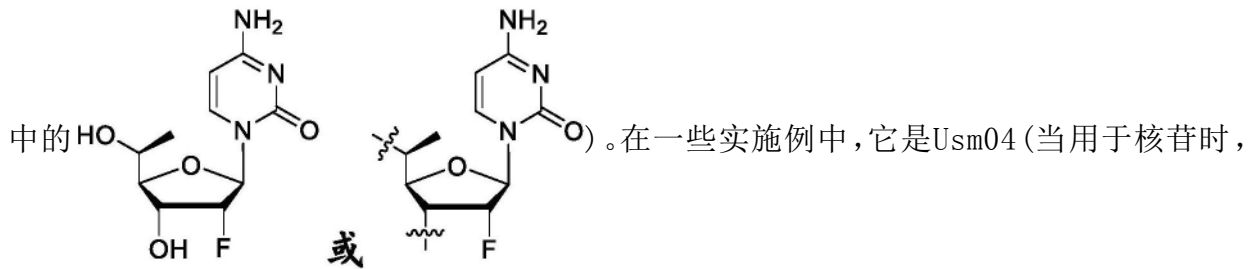
一些实施例中,氮原子键合至键联磷)。在一些实施例中,它是Tsm01(当用于核苷时,除非另有说

明,否则指寡核苷酸链中的



在一些实施例中,氮原子键合

至键联磷)。在一些实施例中,它是5MsfC(当用于核苷时,除非另有说明,否则指寡核苷酸链



原子键合至键联磷)。在一些实施例中， $N_0$ 是无碱基的。在一些实施例中， $N_0$ 是L010。

[0546] 在一些实施例中，如各个实例中所证明的，某些经修饰的核苷或核碱基，例如b001A、b008U等，可以提供改进的编辑，例如，当与靶腺苷相对位置处的dC相比时。在一些实施例中，据观察，与参考核苷相比(例如，在可比较的条件下，包括在其他方面相同的寡核苷酸中、在相同或可比较的测定中评估等)，某些核苷(例如，dC、b001A、b001rA、Csm15、b001C等)在 $N_0$ 处利用时可以提供改进的腺苷编辑效率。在一些实施例中， $N_0$ 是b001A。在一些实施例中， $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中， $N_0$ 是b002A。在一些实施例中， $N_0$ 是b003A。在一些实施例中， $N_0$ 是b004I。在一些实施例中， $N_0$ 是b014I。在一些实施例中， $N_0$ 是b002G。在一些实施例中， $N_0$ 是dC。在一些实施例中， $N_0$ 是b001C。在一些实施例中， $N_0$ 是b009U。在一些实施例中， $N_0$ 是b010U。在一些实施例中， $N_0$ 是b011U。在一些实施例中， $N_0$ 是b012U。在一些实施例中， $N_0$ 是b013U。在一些实施例中， $N_0$ 是Csm04。在一些实施例中， $N_0$ 是Csm11。在一些实施例中， $N_0$ 是Csm12。在一些实施例中， $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中， $N_0$ 是b009Csm11。在一些实施例中， $N_0$ 是b009Csm12。在一些实施例中， $N_0$ 是Gsm11。在一些实施例中， $N_0$ 是Gsm12。在一些实施例中， $N_0$ 是Tsm11。在一些实施例中， $N_0$ 是Tsm12。在一些实施例中，参考核苷是rU。在一些实施例中，

参考核苷是dU。在一些实施例中,参考核苷是dT。在一些实施例中,在 $N_0$ 位置没有核碱基。在一些实施例中,在 $N_0$ 位置处是L010。在一些实施例中, $N_0$ 的糖是sm15。

[0547] 在一些实施例中,在位置-1处用次黄嘌呤替换鸟嘌呤(例如,用dI替换dG)可以提供改进的编辑。图17中提供了某些数据,其他数据作为示例提供。

[0548] 在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_1 N_0 N_{-1} - 3'$ ,其中 $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} - 3'$ ,其中 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_3 N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} N_{-3} - 3'$ ,其中 $N_3$ 、 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_{-2}$ 和 $N_{-3}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_4 N_3 N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} N_{-3} N_{-4} - 3'$ ,其中 $N_4$ 、 $N_3$ 、 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 和 $N_{-4}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_5 N_4 N_3 N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} N_{-3} N_{-4} N_{-5} - 3'$ ,其中 $N_5$ 、 $N_4$ 、 $N_3$ 、 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 、 $N_{-4}$ 和 $N_{-5}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_6 N_5 N_4 N_3 N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} N_{-3} N_{-4} N_{-5} N_{-6} - 3'$ ,其中各 $N_6$ 、 $N_5$ 、 $N_4$ 、 $N_3$ 、 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 、 $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 中的每个独立地是如本文所述的核苷。在一些实施例中, $N_n$ ,其中n是正数,例如, $N_1$ ,也可以称为 $N_{+1}$ 。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可以与核酸(例如, RNA核酸)形成双链体并且可以编辑与 $N_0$ 相对的靶腺苷。在一些实施例中, $N_{-6}$ 是寡核苷酸的最后一个核苷(从5'末端开始计算)。

[0549] 在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} - 3'$ ,其中 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 中的每个独立地是核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} - 3'$ ,其中 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 中的每个独立地是核苷。在一些实施例中,寡核苷酸包含 $5' - N_2 N_1 N_0 N_{-1} N_{-2} - 3'$ ,其中 $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 中的每个独立地是核苷, $N_0$ 与靶腺苷相对, $N_2$ 、 $N_1$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 中彼此相邻的每两个,如本领域技术人员将理解的,独立地键合至核苷酸间键联,如此处描述。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的一个或多个或全部独立地具有天然RNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的一个或多个或全部独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个的糖独立地是天然DNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是2'-修饰的糖,并且 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是2'-F糖,并且 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是经修饰的糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是天然RNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖不是经修饰的糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖不是2'-修饰糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖不是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $N_0$ 的糖不是2'-F修饰的糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖不是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖是天然DNA或RNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖是天然RNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖不是经修饰的糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖不是2'-修饰糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖不是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖不是2'-F修饰的糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖不是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖是天然DNA或RNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖是天然RNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个独立地具有天然RNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 具有2'-F修饰的糖,并且 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个独立地具有天然DNA或RNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 具有2'-F

修饰的糖,并且 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的每一个独立地具有天然DNA糖(例如,WV-22434)。在一些实施例中, $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的两个独立地具有天然DNA或RNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 中的两个独立地具有天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_0$ 中的每一个独立地具有2'-F修饰的糖,并且 $N_{-1}$ 是天然DNA糖。

[0550] 在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的两个核苷酸间键联中的每一个独立地是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的两个核苷酸间键联中的每一个独立地是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的两个核苷酸间键联中的每一个独立地是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联,并且寡核苷酸中的每个其他硫代磷酸酯核苷酸间键联(如果有的话)独立地是 $S_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的5'核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 和 $N_0$ 键合的核苷酸间键联(即,与 $N_{-1}$ 键合的3'核苷酸间键联)是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 和 $N_0$ 键合的核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的3'核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_0$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_0$ 或 $N_{-1}$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_0$ 或 $N_{-1}$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的每个核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 。在一些实施例中,每个 $R_p$ 核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个其他手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 。在一些实施例中, $N_0N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中, $N_0N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_{-1}N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中, $N_{-1}N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 键合的所有核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 键合的所有核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与 $N_2$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 键合的所有核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 。在一些实施例中,与 $N_2$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 、 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 键合的所有核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与 $N_{-1}$ 键合的两个核苷酸间键联独立地是 $S_p$ (例如, $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_0$ 之间的核苷酸间键联是 $S_p$ (例如, $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_0$ 之间的核苷酸间键联是 $S_p$ (例如, $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中, $N_2$ 包含经修饰的糖。在一些实施例中, $N_{-2}$ 包含经修饰的糖。在一些实施例中, $N_2$ 和 $N_{-2}$ 中的每一个独立地包含经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,2'-修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,2'-修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖,例如LNA糖、cEt糖等。

[0551] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的3'侧(例如, $N_0$ )存在至少2、3、4、5、6、7、8、9个或更多个核苷(例如,2-30、3-30、4-30、5-30、2-20、3-20、4-20、5-20、2-15、3-15、4-15、5-15、2-10、3-10、4-10、5-10、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20

个等“3'侧核苷”)。在一些实施例中,存在至少2个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少3个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'-侧核苷(例如,包含5'-N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>N<sub>2</sub>N<sub>3</sub>N<sub>4</sub>N<sub>5</sub>-3'的寡核苷酸,其中各N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>和N<sub>5</sub>独立地是核苷)。在一些实施例中,存在至少6个3'侧核苷(例如,包含5'-N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>N<sub>2</sub>N<sub>3</sub>N<sub>4</sub>N<sub>5</sub>N<sub>6</sub>-3'的寡核苷酸,其中各N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>独立地是核苷)。在一些实施例中,存在至少7个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'侧核苷。在一些实施例中,存在2个3'侧核苷。在一些实施例中,存在3个3'侧核苷。在一些实施例中,存在4个3'侧核苷。在一些实施例中,存在5个3'侧核苷。在一些实施例中,存在6个3'侧核苷。在一些实施例中,存在7个3'侧核苷。在一些实施例中,存在8个3'侧核苷。在一些实施例中,存在9个3'侧核苷。在一些实施例中,存在10个3'侧核苷。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的5'侧(例如,N<sub>0</sub>)存在至少15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个核苷(例如,15-50、20-50、21-50、22-50、23-50、24-50、25-50、26-50、27-50、28-50、29-50、30-50、15-40、20-40、21-40、22-40、23-40、24-40、25-40、26-40、27-40、28-40、29-40、30-40、15-30、20-30、21-30、22-30、23-30、24-30、25-30、26-30、27-30、28-30、29-30、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个等)。在一些实施例中,存在至少15个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少16个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少17个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少24个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少25个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少26个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少27个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少28个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少29个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少30个5'侧核苷。在一些实施例中,存在15个5'侧核苷。在一些实施例中,存在16个5'侧核苷。在一些实施例中,存在17个5'侧核苷。在一些实施例中,存在18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在24个5'侧核苷。在一些实施例中,存在25个5'侧核苷。在一些实施例中,存在26个5'侧核苷。在一些实施例中,存在27个5'侧核苷。在一些实施例中,存在28个5'侧核苷。在一些实施例中,存在29个5'侧核苷。在一些实施例中,存在30个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'侧核苷和至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'侧核苷和至少23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'侧核苷和至少24个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少4个3'侧核苷和至少25个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'侧核苷和至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'侧核苷和至少23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'侧核苷和至少24个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少5个3'侧核苷和至少25个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3'侧核苷和至少21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3'侧核苷和至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3'侧核苷和至少23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少6个3'侧核苷和至少24个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3'侧核苷和至少20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3'侧核苷和

至少21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3'侧核苷和至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少7个3'侧核苷和至少23个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'侧核苷和至少19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'侧核苷和至少20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'侧核苷和至少21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少8个3'侧核苷和至少22个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'侧核苷和至少18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'侧核苷和至少19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'侧核苷和至少20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少9个3'侧核苷和至少21个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'侧核苷和至少17个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'侧核苷和至少18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'侧核苷和至少19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少10个3'侧核苷和至少20个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3'侧核苷和至少16个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3'侧核苷和至少17个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3'侧核苷和至少18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少11个3'侧核苷和至少19个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3'侧核苷和至少15个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3'侧核苷和至少16个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3'侧核苷和至少17个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少12个3'侧核苷和至少18个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'侧核苷和至少14个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'侧核苷和至少15个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'侧核苷和至少16个5'侧核苷。在一些实施例中,存在至少13个3'侧核苷和至少17个5'侧核苷。在一些实施例中,某些有用的5'侧和/或3'侧长度和/或与靶腺苷相对的核苷定位(例如,图2(a)中描述的寡核苷酸中UCI的C)描述于图2和图3中。

[0552] 如本文所述,其中修饰可用于 $N_1$ ,包括糖修饰、核碱基修饰等。在一些实施例中, $N_1$ 包含天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 包含天然RNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 包含如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,糖是UNA糖。在一些实施例中,糖是GNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是sm01。在一些实施例中,它是sm11。在一些实施例中,它是sm12。在一些实施例中,它是sm18。在一些实施例中,经修饰的糖,例如2'-F修饰的糖,或DNA糖在施用于系统(例如,细胞、组织、生物体等)时与参考糖(例如,天然RNA糖、不同的经修饰的糖等)相比提供更高的编辑效率。在一些实施例中, $N_1$ 包含天然核碱基,例如,U。在一些实施例中, $N_1$ 包含如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或z dnp。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是T。在一些实施例中,它是U。在一些实施例中,它是b002A。在一些实施例中,它是b003A。在一些实施例中,它是b008U。在一些实施例中,它是b010U。在一些实施例中,它是b011U。在一些实施例中,它是b012U。在一些实施例中,它是b001C。在一些实施例中,它是b004C。在一些实施例中,它是b007C。在一些实施例中,它是b008C。在一些实施例中, $N_1$ 是天然核苷。在一些实施例中, $N_1$ 是

经修饰的核苷。在一些实施例中,  $N_1$  是 fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、fI、aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnP和Tsm18。在一些实施例中,  $N_1$  是 fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI或fI。在一些实施例中,  $N_1$  是 fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG或dG。在一些实施例中,  $N_1$  是dT。在一些实施例中,  $N_1$  是b001A。在一些实施例中,  $N_1$  是b002A。在一些实施例中,  $N_1$  是b003A。在一些实施例中,  $N_1$  是fU。在一些实施例中,  $N_1$  是b008U。在一些实施例中,  $N_1$  是b001C。在一些实施例中,  $N_1$  是b004C。在一些实施例中,  $N_1$  是b007C。在一些实施例中,  $N_1$  是b008C。在一些实施例中,  $N_1$  是b001U。在一些实施例中,  $N_1$  是b008U。在一些实施例中,  $N_1$  是b010U。在一些实施例中,  $N_1$  是b011U。在一些实施例中,  $N_1$  是b012U。在一些实施例中,  $N_1$  是Csm11。在一些实施例中,  $N_1$  是Gsm11。在一些实施例中,  $N_1$  是Tsm11。在一些实施例中,  $N_1$  是b009Csm11。在一些实施例中,  $N_1$  是Csm12。在一些实施例中,  $N_1$  是Gsm12。在一些实施例中,  $N_1$  是Tsm12。在一些实施例中,  $N_1$  是b009Csm12。在一些实施例中,  $N_1$  是Gsm01。在一些实施例中,  $N_1$  是Tsm01。在一些实施例中,  $N_1$  是Csm17。在一些实施例中,  $N_1$  是Tsm18。在一些实施例中,  $N_1$  是b014I。在一些实施例中,  $N_1$  是无碱基的。在一些实施例中,  $N_1$  是L010。如本文所述, 在一些实施例中, 在位置  $N_1$ , 当寡核苷酸与核酸(例如, 其用于腺苷编辑的靶转录物)形成双链体时, 它是匹配。在一些实施例中, 它是错配。在一些实施例中, 它是摇摆。在一些实施例中,  $N_1$  键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,  $N_1$  键合至如本文所述的经修饰的核苷酸间键联, 在各种实施例中, 具有确定的立体化学。在一些实施例中,  $N_1$  键合至天然磷酸酯键和经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,  $N_1$  键合至两个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,  $N_1$  键合至两个经修饰的核苷酸间键联, 其中的每个可以是独立地和任选地立体受控的并且可以是Rp或Sp。

[0553] 如本文所述, 其中修饰可用于  $N_1$ , 包括糖修饰、核碱基修饰等。在一些实施例中,  $N_1$  包含天然DNA糖。在一些实施例中,  $N_1$  包含天然RNA糖。在一些实施例中,  $N_1$  包含如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中, 经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中, 经修饰的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中, 经修饰的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中, 经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中, 经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中, 糖是UNA糖。在一些实施例中, 糖是GNA糖。在一些实施例中,  $N_1$  的糖是sm01。在一些实施例中, 它是sm11。在一些实施例中, 它是sm12。在一些实施例中, 它是sm18。在一些实施例中, 经修饰的糖, 例如2'-F修饰的糖, 或DNA糖在施用于系统(例如, 细胞、组织、生物体等)时与参考糖(例如, 天然RNA糖、不同的经修饰的糖等)相比提供更高的编辑效率。在一些实施例中,  $N_1$  包含天然核碱基, 例如, U。在一些实施例中,  $N_1$  包含如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或zdnP。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是T。在一些实施例中, 它是U。在一些实施例中, 它是b001A。在一些实施例中, 它是b002A。在一些实施

中,它是b003A。在一些实施例中,它是b008U。在一些实施例中,它是b011U。在一些实施例中,它是b012U。在一些实施例中,它是b001C。在一些实施例中,它是b004C。在一些实施例中,它是b007C。在一些实施例中,它是b008C。在一些实施例中,它是b009C。在一些实施例中,它是b002G。在一些实施例中,它是b014I。在一些实施例中, $N_1$ 是天然核苷。在一些实施例中, $N_1$ 是经修饰的核苷。在一些实施例中, $N_1$ 是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI、fI、aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnP和Tsm18。在一些实施例中, $N_1$ 是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG、dG、dI或fI。在一些实施例中, $N_1$ 是fU、dU、fA、dA、fT、dT、fC、dC、fG或dG。在一些实施例中, $N_1$ 是dI。在一些实施例中, $N_1$ 是rI。在一些实施例中, $N_1$ 是dT。在一些实施例中, $N_1$ 是b001A。在一些实施例中, $N_1$ 是b002A。在一些实施例中, $N_1$ 是b003A。在一些实施例中, $N_1$ 是fU。在一些实施例中, $N_1$ 是b001C。在一些实施例中, $N_1$ 是b004C。在一些实施例中, $N_1$ 是b007C。在一些实施例中, $N_1$ 是b008C。在一些实施例中, $N_1$ 是b009Csm12。在一些实施例中, $N_1$ 是b001U。在一些实施例中, $N_1$ 是b008U。在一些实施例中, $N_1$ 是b010U。在一些实施例中, $N_1$ 是b011U。在一些实施例中, $N_1$ 是b012U。在一些实施例中, $N_1$ 是Csm11。在一些实施例中, $N_1$ 是b009Csm11。在一些实施例中, $N_1$ 是Gsm11。在一些实施例中, $N_1$ 是Tsm11。在一些实施例中, $N_1$ 是Csm12。在一些实施例中, $N_1$ 是b009Csm12。在一些实施例中, $N_1$ 是Gsm12。在一些实施例中, $N_1$ 是Tsm12。在一些实施例中, $N_1$ 是Gsm01。在一些实施例中, $N_1$ 是Tsm01。在一些实施例中, $N_1$ 是Tsm18。在一些实施例中, $N_1$ 是无碱基的。在一些实施例中, $N_1$ 是L010。在一些实施例中, $N_1$ 是Csm17。在一些实施例中, $N_1$ 是b002G。在一些实施例中, $N_1$ 是b014I。如本文所述,在一些实施例中,在位置 $N_1$ ,当寡核苷酸与核酸(例如,其用于腺苷编辑的靶转录物)形成双链体时,它是匹配的。在一些实施例中,它是不匹配的。在一些实施例中,它是摇摆的。在一些实施例中, $N_1$ 键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中, $N_1$ 键合至如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,在各种实施例中,具有确定的立体化学。在一些实施例中, $N_1$ 键合至天然磷酸酯键和经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_1$ 键合至两个天然磷酸酯键联。在一些实施例中, $N_1$ 键合至两个经修饰的核苷酸间键联,其中的每个可以是独立地和任选地立体受控的并且可以是Rp或Sp。

[0554] 在一些实施例中, $N_2$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_2$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0555] 在一些实施例中, $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一

些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0556] 在一些实施例中, $N_3$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_3$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0557] 在一些实施例中, $N_2$ 和 $N_3$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。在一些实施例中, $N_4$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_4$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0558] 在一些实施例中, $N_3$ 和 $N_4$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0559] 在一些实施例中, $N_5$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_5$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0560] 在一些实施例中, $N_4$ 和 $N_5$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0561] 在一些实施例中, $N_6$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_6$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0562] 在一些实施例中, $N_5$ 和 $N_6$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例

中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0563] 如本文所述,寡核苷酸或其部分,例如第一结构域、第二结构域等,可包含以下或由以下组成:一个或多个,例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等嵌段,每个嵌段独立地包含一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-24、1-23、1-22、1-21、1-20、1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30个等)糖,其中嵌段中的每个糖共享相同的结构。在一些实施例中,寡核苷酸或其一部分,例如第一结构域、第二结构域等,可包含以下或由以下组成:一个或多个,例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等嵌段,每个嵌段独立地包含一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-24、1-23、1-22、1-21、1-20、1-10、1-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30个等)糖,其中嵌段中的每个糖是相同的经修饰的糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地包含1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地包含1-5个糖。在一些实施例中,每个嵌段独立地包含1、2或3个糖。在一些实施例中,一个或多个嵌段,例如,1-15、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个,独立地包含两个或三个或更多个糖。在一些实施例中,一个或多个嵌段,例如,1-15、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个,独立地包含两个或三个糖。在一些实施例中,寡核苷酸或其一部分中约或至少约30%、40%或50%的嵌段独立地包含两个或更多个(例如,两个或三个)糖。在一些实施例中,第一结构域的寡核苷酸中约50%的嵌段独立地包含两个或更多个(例如,两个或三个)糖。在一些实施例中,嵌段是2'-F嵌段,其中嵌段中的每个糖都是2'-F修饰的嵌段。在一些实施例中,嵌段是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,其中嵌段中的每个糖是相同的2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,嵌段是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,嵌段是双环糖嵌段,其中嵌段中的每个糖是相同的双环糖(例如,LNA糖、cEt等)。在一些实施例中,两个或更多个嵌段是2'-F嵌段。在一些实施例中,每隔一个嵌段是2'-F嵌段。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地包含不超过2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段包含不超过5个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段包含不超过4个糖。在一些实施例中,2'-F嵌段包含不超过3个糖。在一些实施例中,在寡核苷酸或其一部分中的每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或一个双环糖嵌段。在一些实施例中,在一部分中每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或一个双环糖嵌段。在一些实施例中,在寡核苷酸中每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,在第一结构域中每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,在第一结构域中每两个2'-F嵌段之间存在至少一个2'-OMe嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中

的两个2'-F嵌段之间存在2'-OMe嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段和2'-OMe嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中的两个2'-F嵌段之间存在2'-MOE嵌段和2'-OMe嵌段,但没有2'-F嵌段。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地键合至2'-OR嵌段(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖嵌段。在一些实施例中,每个2'-F嵌段独立地键合至2'-OR嵌段,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个与2'-F嵌段键合的嵌段独立地是2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖嵌段。在一些实施例中,每个与2'-F嵌段键合的嵌段独立地是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖嵌段。在一些实施例中,第一结构域中的2'-F嵌段键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是2'-OR嵌段,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,2'-OR嵌段键(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖嵌段键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是不同2'-OR嵌段(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖嵌段的2'-F嵌段。在一些实施例中,2'-OR嵌段(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)键合的第一结构域中的每个嵌段独立地是不同2'-OR嵌段(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)的2'-F嵌段。在一些实施例中,2'-OR嵌段是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,2'-OR嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,至少一个嵌段是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,约或约至少2、3、4或5个嵌段独立地是2'-OMe嵌段。在一些实施例中,至少一个嵌段是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,约或约至少2、3、4或5个嵌段独立地是2'-MOE嵌段。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域等)中,存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9,或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域等)中,存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9,或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-MOE嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-F嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-F嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-MOE嵌段。在一些实施例中,在第一结构域中存在一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9,或10个或更多个)2'-OMe嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个)2'-MOE嵌段和一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-F嵌段。在一些实施例中,在寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中,2'-F修饰的糖的百分比为约20%-80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%,并且2'-OR修饰的糖(其中每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)的百分比是约20%-80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%。在一些实施例中,第一结构域中2'-F修饰的糖的百分比为约20%-80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%,并且2'-OR修

饰的糖(其中每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)的百分比是约20%-80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%。在一些实施例中,2'-F修饰的糖的百分比与2'-OR修饰的糖(其中每一个独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)的百分比之间的差异小于约50%、40%、30%、20%或10%(通过从两个百分比中的较大百分比减去两个百分比中的较小百分比来计算)。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0564] 例如,在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-F修饰的糖,并且N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,至少一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>4</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>的糖都是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>形成2'-F嵌段。在一些实施例中,N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>形成2'-OMe嵌段。在一些实施例中,N<sub>3</sub>和N<sub>4</sub>形成2'-MOE嵌段。在一些实施例中,N<sub>5</sub>、N<sub>6</sub>和/或N<sub>7</sub>形成2'-F嵌段。如本文所证明的,在不同位置包含经修饰的糖例如2'-F修饰的糖、2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等的寡核苷酸可以提供高水平的腺苷编辑。例如,2'-MOE修饰的糖可以在不同位置掺入,以提供能够进行腺苷编辑的寡核苷酸;在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>2</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>4</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>5</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>6</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>7</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>8</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>2</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>4</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>5</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖;在一些实施例中,N<sub>6</sub>的糖是2'-MOE修饰的糖。

[0565] 如本文所述,可在寡核苷酸或其部分(例如,第一结构域、第二结构域等)中使用各种核苷酸间键联。例如,可在第一结构域中使用各种键联。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个,例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个,例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联以及一个或多个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸或其一部分(例如,第一结构域、第二结构域等)中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,一个或多个经修饰的核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个

经修饰的核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，一个或多个经修饰的核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，每个磷酸基胍核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中，第一结构域包含约1-5个，例如1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，每个这样的不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，它们中的每一个独立地是n001。在一些实施例中，它们中的一个或多个独立地是手性受控的。在一些实施例中，它们中的每一个都是手性受控的。在一些实施例中，它们中的每一个是Rp n001。在一些实施例中，一个或多个糖(其是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基))键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，一个或多个2'-OMe糖键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，一个或多个2'-MOE糖键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，一个或多个2'-F修饰的糖键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，第一结构域，第二结构域中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>的脂肪族)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，第一结构域中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键。在一些实施例中，第一结构域中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键。在一些实施例中，第一结构域，第二结构域中约或至少约1-10个，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>的脂肪族)独立地键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中，第一结构域中约或至少约1-10个，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-OMe修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键。在一些实施例中，第一结构域中约或至少约1-10个，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-MOE修饰的糖独立地键合至天然磷酸酯键。在一些实施例中，一个或多个，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个或更多个与2'-F修饰的糖键合的天然磷酸酯键联独立地键合至2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中，每个与2'-F修饰的糖键合的天然磷酸酯键联独立地键合至2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖。在一些实施例中，一个或多个，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个或更多个与2'-F修饰的糖键合的天然磷酸酯键联独立地键合至2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中，每个与2'-F修饰的糖键合的天然磷酸酯键联独立地键合至2'-MOE修饰的糖。

[0566] 尤其是，本披露证明，与可比较的参考寡核苷酸(例如，之前在WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301A1、WO 2019/158475、WO 2019/219581、WO 2020/157008、WO 2020/165077、WO 2020/201406或WO 2020/252376中报道的那些寡核苷酸)相比，包含本文所述的各种嵌段和模式(例如，2'-F嵌段、2'-OMe嵌段、2'-MOE嵌段等)和/或本文所述的各种核苷酸间键联及其模式的寡核苷酸可以提供改进的药效学、药代动

力学和/或腺苷编辑水平等。在一些实施例中,参考寡核苷酸是WO 2021071858中报道的寡核苷酸。

[0567] 在一些实施例中, $N_2$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_2$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0568] 在一些实施例中, $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。在一些实施例中, $N_1$ 是dI,并且 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的键联是Sp磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_1$ 是dI, $N_1$ 和 $N_2$ 之间的键联是Sp n001。

[0569] 在一些实施例中, $N_3$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_3$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0570] 在一些实施例中, $N_2$ 和 $N_3$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0571] 在一些实施例中, $N_4$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_4$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0572] 在一些实施例中, $N_3$ 和 $N_4$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0573] 在一些实施例中, $N_5$ 包含天然糖。在一些实施例中, $N_5$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基,如本文所述。在一

些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0574] 在一些实施例中,N<sub>4</sub>和N<sub>5</sub>之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0575] 在一些实施例中,N<sub>6</sub>包含天然糖。在一些实施例中,N<sub>6</sub>的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,它是天然的RNA糖。在一些实施例中,它是经修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,它是2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基,如本文所述。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,它是经2'-OMe修饰的。在一些实施例中,它是2'-MOE修饰的糖。

[0576] 在一些实施例中,N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,它是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,它是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,它是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,它是n001。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,它是Rp。在一些实施例中,它是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp n001。在一些实施例中,它是Rp n001。

[0577] 在一些实施例中,N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的至少一个糖是双环糖,例如,LNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>是2'-F修饰的糖,其他糖各自独立地是如本文所述的2'-OR修饰的糖(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等))或双环糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>是2'-F修饰的糖,其他糖各自独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基)。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>是2'-F修饰的糖,其他糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>是2'-F修饰的糖,其他糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖,N<sub>2</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是如本文所述的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)或双环糖(例如,LNA糖、ENA糖等)。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖,N<sub>2</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖,N<sub>2</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是DNA糖,N<sub>3</sub>的糖是2'-F修饰的糖,N<sub>2</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>中的每一个的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,N<sub>2</sub>形成2'-OMe嵌段。在一些实施例中,N<sub>3</sub>形成2'-F嵌段。在一些实施例中,N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub>和N<sub>6</sub>形成2'-OMe嵌段。

[0578] 在一些实施例中,  $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 和 $N_6$ 中的至少一个键合至天然磷酸酯键联。在一些实施例中,  $N_2$ 和 $N_3$ 之间的键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,  $N_2$ 键合至不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,  $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 和 $N_6$ 中的至少一个键合至不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,  $N_5$ 和 $N_6$ 之间的键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,  $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 和 $N_6$ 中的至少一个键合至硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,  $N_3$ 、 $N_4$ 和 $N_5$ 中的每一个独立地键合至硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中, 不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中, 不带负电荷的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中, 不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中, 它是 $R_p$ 。在一些实施例中, 它是 $S_p$ 。在一些实施例中, 硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $R_p$ 。在一些实施例中, 硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中, 每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,  $N_2$ 和v-3之间的键联是天然磷酸酯键联,  $N_3$ 和 $N_4$ 之间的键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联,  $N_4$ 和 $N_5$ 之间的键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联, 并且 $N_5$ 和 $N_6$ 之间的键联是 $R_p$ 不带负电荷的核苷酸间键联(例如,  $R_p$ 磷酰基胍核苷酸间键联, 诸如 $R_p$  n001)。在一些实施例中, 天然磷酸酯键联与至少一个经修饰糖键合。在一些实施例中, 天然磷酸酯键联与至少一个2'-OR修饰的糖(其中R是 $C_{1-6}$ 脂肪族基)或双环糖键合。在一些实施例中, 天然磷酸酯键联与2'-OMe修饰的糖键合。在一些实施例中, 天然磷酸酯键联与2'-MOE修饰的糖键合至。在一些实施例中, 与天然磷酸酯键联键合的两个糖独立地是如本文所述的经修饰的糖。

[0579] 在一些实施例中, 寡核苷酸包含如本文所述的第一结构域(例如, 其中多个或大多数或所有糖是2'-F修饰的糖的第一结构域)和如本文所述的第二结构域(例如, 其中多个或大多数或所有糖是非2'-F修饰的糖(例如, 2'-OMe修饰的糖)的第二结构域)。在一些实施例中, 第一结构域位于第二结构域的5'侧(例如, 图2(a)中的各种寡核苷酸)。在一些实施例中, 第一结构域位于第二结构域的3'侧(例如, 图2(b)中的各种寡核苷酸)。在一些实施例中, 当第一结构域位于第二结构域的3'侧时(例如, 图2(b)中的各种寡核苷酸), 存在与靶腺苷相对的核苷的至少1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个或10个或更多个(例如, 1-20个、2-20个、3-20个、4-20个、5-20个、6-20个、7-20个、7-11个等)5'侧核苷。在一些实施例中, 至少有3个。在一些实施例中, 至少有4个。在一些实施例中, 至少有5个。在一些实施例中, 至少有6个。在一些实施例中, 至少有7个。在一些实施例中, 至少有8个。在一些实施例中, 至少有9个。在一些实施例中, 至少有10个。在一些实施例中, 有3个。在一些实施例中, 有4个。在一些实施例中, 有5个。在一些实施例中, 有6个。在一些实施例中, 有7个。在一些实施例中, 有8个。在一些实施例中, 有9个。在一些实施例中, 有10个。在一些实施例中, 有11个。在一些实施例中, 有7-11个。在一些实施例中, 有9-11个。在一些实施例中, 有10个或11个。在一些实施例中, 另外地或可替代地, 有至少15、16、17、18、19、20或更多个(例如, 15-30、16-30、17-30、18-30、18-25、18-22个等)与靶腺苷相对的核苷的5'侧核苷。在一些实施例中, 至少有15个。在一些实施例中, 至少有16个。在一些实施例中, 至少有17个。在一些实施例中, 至少有18个。在一些实施例中, 如上所述, 有至少约5个(例如, 5-50、5-40、5-30、5-20、5-10、5-9、5、6、7、8、9, 或10个等)3'侧核苷和至少约15个(例如, 15-50、15-40、15-30、15-20、20-30、20-25、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个等)5'侧核苷。在一些实施例中, 独立地约1-10个(例如, 2-10、3-10、3-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)双环

或2'-OR修饰的糖独立地位于编辑区(例如, $N_1N_0N_{-1}$ )的5'侧、或3'侧或两侧,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,独立地约1-10个(例如,2-10、3-10、3-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OR修饰的糖独立地位于编辑区的5'侧或3'侧或两侧,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,独立地约1-10个(例如,2-10、3-10、3-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)2'-OMe修饰的糖独立地位于编辑区的5'侧、或3'侧或两侧。在一些实施例中,它们位于5'侧。在一些实施例中,它们位于3'侧。在一些实施例中,它们在两侧。在一些实施例中,有利的是围绕编辑区,例如, $N_1N_0N_{-1}$ ,两侧有双环或2'-OR修饰的糖,例如,独立地约1-10个(例如,2-10、3-10、3-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个),其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,有利的是围绕编辑区,例如, $N_1N_0N_{-1}$ ,两侧有2'-OR修饰的糖,例如,独立地约1-10个(例如,2-10、3-10、3-5、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个),其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,每一侧有至少两个。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。图2(a)和/或(b)和图3中描述了某些实例。

[0580] 所提供技术的众多优势之一是,与其他传统技术相比,寡核苷酸短得多,可以提供相当或更高水平的腺苷编辑。阅读本披露的本领域技术人员将理解,并入本披露的寡核苷酸(例如,图2中描述的寡核苷酸)的一个或多个结构元件(例如,糖修饰、核碱基修饰、核苷酸间键联修饰、立体化学和/或其模式)的较长寡核苷酸(例如,延长靶腺苷的5'侧、3'侧或两侧)也可能是有用的,例如,用于本文所述的各种用途,包括腺嘌呤编辑和预防和/或治疗可受益于编辑靶腺苷的病症、障碍或疾病。

[0581] 在一些实施例中,ADAR1 p150比ADAR1 p110更能容忍5'侧和/或3'侧的长度变化和/或与靶腺苷相对的核苷的定位。在一些实施例中,本披露提供了特别有用的5'侧和/或3'侧长度和/或与靶腺苷相对的核苷的定位以用于编辑(例如,通过ADAR1 p110和/或ADAR1p150)。在一些实施例中,某些有用的5'侧和/或3'侧长度和/或核苷定位(例如,那些提供编辑的寡核苷酸(例如WV-12027、WV-42028、WV-42029、WV-42030、WV-42032和WV-42033;在一些实施例中,WV-42027;在一些实施例中,WV-42028;在一些实施例中,WV-42029;在一些实施例中,WV-42030;在一些实施例中,WV-42031)的核苷)可用于在表达ADAR1(例如ADAR1 p110和/或p150)的细胞中进行编辑。

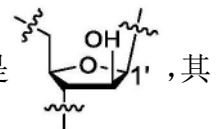
[0582] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷键合的每个硫代磷酸酯独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0583] 在一些实施例中,本披露提供包含可提供高编辑效率的编辑区的寡核苷酸。在一些实施例中,提供的编辑区是或包含如本文所述的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'。

[0584] 在一些实施例中,本披露提供包含如本文所述的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'的寡核苷酸。

[0585] 在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述。在一些实施例中, $N_0$ 包含如本文所述的糖和核碱基。在一些实施例中, $N_0$ 具有天然DNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 具有天然RNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 具有经修饰的糖,例如,2'-F修饰的糖。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核碱基或 $N_0$

的糖是阿拉伯呋喃糖。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核碱基或 $N_0$ 的糖是



中C1'键合至如本文所述的核碱基。在一些

实施例中, $N_0$ 具有天然核碱基。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是2'-F C(其中胞苷的2'-OH被-F替代)。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基不是T或U。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基不是T。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基不是U。在一些实施例中, $N_0$ 与A不匹配。

[0586] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FU,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基如本文所述,例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0587] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是T,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是胸苷,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基如本文所述,例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0588] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基如本文所述,例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0589] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是鸟嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧鸟苷。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基如本文所述,例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。在一些实施例中, $N_0$ 的3'侧有6个或至少6个核苷(例如,当有6个时, $N_{-1}$ 至 $N_{-6}$ )。

[0590] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是鸟嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧鸟苷。在一些实施例中, $N_0$ 的核碱基如本文所述,例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。在一些实施例中, $N_0$ 的3'侧有6个或至少6个核苷(例如,当有6个时, $N_{-1}$ 至 $N_{-6}$ )。

[0591] 在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是G, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F G, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_0$ 的核碱基如本文所述, 例如胞嘧啶、b001A、b008U等。在一些实施例中,  $N_0$ 如本文所述, 例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,  $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001A。在一些实施例中,  $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中,  $N_0$ 是b008U。在一些实施例中, 这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含5'-CAA-3' 的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0592] 在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是胸腺嘧啶。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-FU, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_0$ 如本文所述, 例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,  $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001A。在一些实施例中,  $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中,  $N_0$ 是b008U。在一些实施例中, 这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含5'-AAA-3' 的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0593] 在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是A, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F A, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是G, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F G, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是A, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F A, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是A, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F A, 并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是A, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-FA, 并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中,  $N_0$ 如本文所述, 例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中,  $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001A。在一些实施例中,  $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中,  $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中,  $N_0$ 是b008U。在一些实施例中, 这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含5'-AAU-3' 的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0594] 在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-FC, 并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是U, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F U, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-F C, 并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$ 的核碱基是C, 并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中,  $N_1$ 是2'-FC, 并且

$N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-AAG-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0595] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-AAC-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0596] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FA,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FG,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-UAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0597] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FA,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FU,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F A,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-UAU-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0598] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中,

$N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FA,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-UAG-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0599] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FA,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FC,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-UAC-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0600] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-FC,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-GAA-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0601] 在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F A,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_1$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_1$ 是2'-F A,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_1$ 的核

碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-FA,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_{-1}N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-GAU-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0602] 在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_{-1}N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-GAG-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0603] 在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是A。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dA。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是T。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dT。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是C。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是dC。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_{-1}N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-GAC-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0604] 在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F A,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是A,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是G。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F A,并且 $N_{-1}$ 是dG。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是G,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F G,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F C,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_0$ 如本文所述,例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U等。在一些实施例中, $N_0$ 是脱氧胞苷。在一些实施例中, $N_0$ 是b001A。在一些实施例中, $N_0$ 是Csm15。在一些实施例中, $N_0$ 是b001rA。在一些实施例中, $N_0$ 是b008U。在一些实施例中,这样的5'- $N_{-1}N_0N_{-1}$ -3'特别适用于靶向包含5'-CAU-3'的RNA用于编辑靶腺苷A。

[0605] 在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是U,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中, $N_{-1}$ 是2'-F U,并且 $N_{-1}$ 是脱氧肌苷。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的核碱基是C,并且 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄

嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F C, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 G, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-FG, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 A, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F A, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 U, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 G。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F U, 并且  $N_{-1}$  是 dG。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 C, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 G。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F C, 并且  $N_{-1}$  是 dG。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 G, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 G。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F G, 并且  $N_{-1}$  是 dG。在一些实施例中,  $N_0$  如本文所述, 例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U 等。在一些实施例中,  $N_0$  是脱氧胞苷。在一些实施例中,  $N_0$  是 b001A。在一些实施例中,  $N_0$  是 Csm15。在一些实施例中,  $N_0$  是 b001rA。在一些实施例中,  $N_0$  是 b008U。在一些实施例中, 这样的 5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含 5'-CAG-3' 的 RNA 用于编辑靶腺苷 A。

[0606] 在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 A, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F A, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 G, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F G, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 G, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 G。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F G, 并且  $N_{-1}$  是 dG。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 U, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F U, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_0$  如本文所述, 例如脱氧胞苷、b001A、Csm15、b001rA、b008U 等。在一些实施例中,  $N_0$  是脱氧胞苷。在一些实施例中,  $N_0$  是 b001A。在一些实施例中,  $N_0$  是 Csm15。在一些实施例中,  $N_0$  是 b001rA。在一些实施例中,  $N_0$  是 b008U。在一些实施例中, 这样的 5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含 5'-CAC-3' 的 RNA 用于编辑靶腺苷 A。

[0607] 在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 U, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 A。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F U, 并且  $N_{-1}$  是 dA。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 C, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 A。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F C, 并且  $N_{-1}$  是 dA。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 G, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 A。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F G, 并且  $N_{-1}$  是 dA。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 C, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F C, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 U, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是次黄嘌呤。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-F U, 并且  $N_{-1}$  是脱氧肌苷。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 A, 并且  $N_{-1}$  的核碱基是 A。在一些实施例中,  $N_1$  是 2'-FA, 并且  $N_{-1}$  是 dA。在一些实施例中,  $N_0$  是 b001rA。在一些实施例中,  $N_0$  是 b008U。在一些实施例中, 这样的 5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3' 特别适用于靶向包含 5'-UAG-3' 的 RNA 用于编辑靶腺苷 A。

[0608] 在一些实施例中, 核碱基 U 可以用 T 替代而不降低编辑水平。在一些实施例中, 核碱基 U 可以用 T 替代以提高编辑水平。在一些实施例中, 2'-F U 可以用胸苷替代。例如, 参见图 19。在一些实施例中,  $N_1$  是胸苷。在一些实施例中,  $N_1$  是胸苷,  $N_0$  如本文所述, 例如 b001A、b008U 等。在一些实施例中,  $N_1$  是胸苷,  $N_0$  如本文所述, 例如 b001A、b008U 等,  $N_{-1}$  是 I。

[0609] 在一些实施例中, 当与靶序列比对和/或与靶核酸杂交时,  $N_0$  对 A 摇摆或错配。在一些实施例中,  $N_1$  与其相对的核碱基不匹配。在一些实施例中,  $N_{-1}$  与其相对的核碱基不匹配。在一些实施例中,  $N_{-1}$ 、 $N_0$  和  $N_1$  中的两个独立地与其相对的核碱基不匹配。在一些实施例中,  $N_0$  和  $N_1$  独立地与其相对的核碱基不匹配。在一些实施例中,  $N_0$  和  $N_{-1}$  独立地与其相对的核碱基不匹配。在一些实施例中, 当它不匹配时, 它是摇摆。在一些实施例中, 当它不匹配时, 它是错配。在一些实施例中,  $N_1$  的核碱基是 C 并且其相对的核碱基是 A。在一些实施例中,  $N_0$  的 3' 侧

的更多核苷(例如,6个或更多个)可以容忍5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'的更多错配/摇摆。

[0610] 在一些实施例中,与N<sub>0</sub>键合的每个核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>1</sub>键合的每个核苷酸间键联独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>键合的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>(例如,其位置3')键合的磷酸基胍核苷酸间键联,例如,n001是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,与N<sub>-1</sub>(例如,其位置3')键合的磷酸基胍核苷酸间键联,例如,n001是手性受控的并且是Sp(例如,在一些实施例中,当N<sub>-1</sub>是dI时)。

#### 碱基序列

[0611] 如本领域技术人员所理解的,本披露的结构特征,诸如核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学等及其组合可与多种合适的碱基序列一起使用以提供具有所需特性和/或活性的寡核苷酸和组合物。例如,用于腺苷修饰(例如,在ADAR蛋白存在下转化成I)的寡核苷酸通常具有与包含靶腺苷的靶核酸序列充分互补的序列。与靶腺苷相对的核苷可存在于寡核苷酸的多种位置。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷在第一结构域中。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷在第二结构域中。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷在第一子结构域中。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷在第二子结构域中。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷在第三子结构域中。本披露的寡核苷酸可以靶向一个或多个靶腺苷。在一些实施例中,一个或多个相对的核苷各自独立地在具有第二子结构域的结构特征的部分中,并且各自独立地具有如本文所述的相对的核苷的一个或多个或所有结构特征。在许多实施例中,例如,为了靶向G至A突变,寡核苷酸可以选择性地靶向一个且仅一个靶腺苷进行修饰,例如通过ADAR以转化成I。在一些实施例中,相对的核苷更靠近寡核苷酸的3'末端而不是5'末端。

[0612] 在一些实施例中,寡核苷酸具有本文所述(例如,在表中)的碱基序列或其具有0-5个(例如,0、1、2、3、4或5个)错配的部分(例如,10-50、10-40、10-30、10-20或10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或至少10、至少15、至少20、至少25个连续核碱基的跨度),其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸包含本文所述的碱基序列或其部分,其中部分是具有0-5个错配的至少10个连续核碱基的跨度、或至少15个连续核碱基的跨度。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有本文所述的碱基序列或其部分,其中部分是至少10个连续核碱基的跨度、或具有1-5个错配的至少10个连续核碱基的跨度,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。

[0613] 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:与核酸例如基因或其转录物(例如mRNA)的碱基序列相同或互补的碱基序列的,任选地连续的10-60个(例如,约或至少10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60个;在一些实施例中,至少15个;在一些实施例中,至少16个;在一些实施例中,至少17个;在一些实施例中,至少18个;在一些实施例中,至少19个;在一些实施例中,至少20个;在一些实施例中,至少21个;在一些实施例中,至少22个;在一些实施例中,至少23个;在一些实施例中,至少24个;在一些实施例中,至少25个;在一些实施例中,至少26个;在一些实施例中,至少27个;在一些实施例中,至少28个;在一些

实施例中,至少29个;在一些实施例中,至少30个;在一些实施例中,至少31个;在一些实施例中,至少32个;在一些实施例中,至少33个;在一些实施例中,至少34个;在一些实施例中,至少35个)碱基。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含与基因或其转录物中的靶序列互补的序列。在一些实施例中,序列的长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、55、60个或更多个核碱基。

[0614] 在一些实施例中,靶序列是或包含核酸序列(例如,基因或其转录物的)的特征性序列,因为其定义该核酸序列超过相关生物体中的其他核酸序列;例如,特征性序列不存在于相关生物体中的其他基因组核酸序列(例如,基因)或其转录物中或至少与其具有多种错配。在一些实施例中,转录物的特征性序列定义该转录物超过相关生物体中的其他转录物;例如,在一些实施例中,特征性序列不存于从不同核酸序列(例如,不同基因)转录的转录物中。在一些实施例中,来自核酸序列的转录物变体(例如,基因的mRNA变体)可共享共同特征性序列,该特征性序列定义它们来自例如其他基因的转录物。在一些实施例中,特征性序列包含靶腺苷。在一些实施例中,寡核苷酸选择性地与包含靶腺苷的核酸形成双链体,其中靶腺苷在双链体区内并且可以被蛋白诸如ADAR1或ADAR2修饰。

[0615] 如本领域技术人员所理解的,所提供的寡核苷酸的碱基序列通常具有足够的长度和与其靶核酸例如RNA转录物(例如,前体mRNA、成熟mRNA等)的互补性,以用于例如靶腺苷的定点编辑。在一些实施例中,寡核苷酸与靶RNA序列的包含靶腺苷的一部分互补(如本领域技术人员所理解的,在许多情况下,靶核酸长于本披露的寡核苷酸,并且可基于两个寡核苷酸中较短的寡核苷酸来适当地评估互补性)。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有90%或更高的同一性,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与表中披露的寡核苷酸的碱基序列具有95%或更高的同一性,其中每个T可以独立地被U取代并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列包含表中披露的寡核苷酸的15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40或更多个碱基的连续跨度,其中每个T可独立地被U取代并且反之亦然,但该跨度内的一个或多个碱基是无碱基的(例如,核碱基不存在于核苷酸中)。

[0616] 在一些实施例中,本披露涉及具有碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列包含本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0617] 在一些实施例中,本披露涉及具有作为本文披露的任何寡核苷酸的碱基序列的寡核苷酸的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0618] 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的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0619] 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%相同的寡核苷酸的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0620] 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%相同的寡核苷酸的碱基序列的寡核苷酸,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0621] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列是或包含本文所述的任何寡核苷酸的碱基序列的10-40个,例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、

34、35、36、37、38、39、40个连续碱基,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。

[0622] 在一些实施例中,寡核苷酸是本文表中呈现的寡核苷酸。

[0623] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与靶核酸(例如,包含靶腺苷的部分)的碱基序列互补。

[0624] 在一些实施例中,寡核苷酸具有包含表中寡核苷酸的至少15个连续碱基(例如,15、16、17、18、19或20个)的碱基序列,其中每个T可独立地被U取代并且反之亦然。

[0625] 在一些实施例中,寡核苷酸包含任一表中所述的碱基序列或其部分(例如,包含10-40个,例如15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40个核碱基的部分),其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然,和/或任一表中所述的糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰和/或立体化学和/或其模式,和/或任一表中所述的另外的化学部分(除寡核苷酸链之外,例如还有靶部分、脂质部分、碳水化合物部分等)。

[0626] 在一些实施例中,术语“互补的”、“完全互补的”和“基本上互补的”可用于寡核苷酸与靶序列之间的碱基匹配,如本领域技术人员从其使用的上下文将理解的。应注意,用U取代T或反过来通常都不会改变互补的量。如本文所用,与靶序列“基本上互补”的寡核苷酸在很大程度上或大部分是互补的,但不必是100%互补的。在一些实施例中,基本上互补的序列(例如,寡核苷酸)在与其靶序列最大比对时具有一个或多个,例如1、2、3、4或5个错配。在一些实施例中,寡核苷酸具有与靶核酸的靶序列基本上互补的碱基序列。在一些实施例中,寡核苷酸具有与本文披露的寡核苷酸的序列的互补序列基本上互补的碱基序列。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,寡核苷酸的序列不需要与寡核苷酸的靶标100%互补即可执行其功能(例如,在核酸中将A转化成I)。在一些实施例中,错配在寡核苷酸的5'和/或3'末端或中间被良好耐受。在一些实施例中,一个或多个错配优选用于如本文所展示的腺苷修饰。在一些实施例中,寡核苷酸包含用于与靶核酸互补的部分,和任选地不主要用于与靶核酸互补的部分;例如,在一些实施例中,寡核苷酸可以包含用于蛋白结合的部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的碱基序列与其靶序列完全互补(A-T/U和C-G碱基配对)。在一些实施例中,除了在与靶核苷(例如,腺苷)相对的核苷处,所提供的寡核苷酸的碱基序列与其靶序列完全互补(A-T/U和C-G碱基配对)。

[0627] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含在表中所述的寡核苷酸中发现的序列,其中一个或多个U独立地并且任选地被T代替,或反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸可包含至少一个T和/或至少一个U。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含在本文表中所述的寡核苷酸中发现的序列,其中所述序列与表中描述的寡核苷酸的序列具有超过50%的同一性。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其碱基序列是表中所披露的寡核苷酸的序列,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,本披露提供了包含在表中的寡核苷酸中发现的序列的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有本文表中的相同寡核苷酸或另一种寡核苷酸的骨架键联模式、骨架手性中心模式和/或骨架磷修饰模式。

[0628] 在一些实施例中,本披露提供了具有以下碱基序列的寡核苷酸,该碱基序列是本文披露(例如,在表中)的寡核苷酸的碱基序列或包含本其一部分,其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然,其中该寡核苷酸任选地进一步包含化学修饰、立体化学、形式、本文描

述的另外的化学部分(例如,靶向部分、脂质部分、碳水化合物部分等)和/或另一结构特征。

[0629] 在一些实施例中,“部分”(例如,碱基序列或修饰模式或其他结构元件的部分)为至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个单体单元长。

[0630] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解,本文的技术可用于靶向包含用于编辑的靶腺苷的多种靶核酸。在一些实施例中,靶核酸是Pizz等位基因的转录物。在一些实施例中,靶腺苷是...atcgacAagaaaggactgaagc...。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸具有合适的碱基序列,使得它们具有足够的互补性以选择性地与包含用于编辑的靶腺苷的转录物的一部分形成双链体。

[0631] 如本文所述,与靶核苷(例如,A)相对的核苷可以位于多种位置。在一些实施例中,相对的核苷在相对于寡核苷酸的5'末端的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置3或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置4或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置5或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置6或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置7或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置8或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置9或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的5'末端的位置10或更远的位置处。在一些实施例中,相对的核苷在相对于寡核苷酸的3'末端的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置3或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置4或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置5或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置6或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置7或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置8或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置9或更远的位置处。在一些实施例中,它在相对于寡核苷酸的3'末端的位置10或更远的位置处。在一些实施例中,当进行最大互补性比对时,在相对于5'末端和/或3'末端的位置1处的核碱基与靶序列中的相应核碱基互补。在一些实施例中,某些位置,例如位置6、7或8,可以提供更高的编辑效率。

[0632] 作为实例,下表1中呈现了某些寡核苷酸,这些寡核苷酸包含某些示例碱基序列、核碱基修饰及其模式、糖修饰及其模式、核苷酸间键联及其模式、键联磷立体化学及其模式、接头和/或另外的化学部分。尤其是,这些寡核苷酸可用于校正基因或基因产物中的G至A突变(例如,通过将A转化成I)。在一些实施例中,表中列出的是立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物。

[0633] 在一些实施例中,碱基序列是或包含特定序列。在一些实施例中,碱基序列与作为或包含与特定序列互补的碱基序列的碱基序列互补。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过1、2、3、4或5个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过1、2、3、4或5个位置处与特定序列的约15-30(例如,15-25、15-20、20-30、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)个连续核碱基不同的序列。在一些实施

例中,碱基序列是或包含在不超过1个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过2个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过3个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过4个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,碱基序列是或包含在不超过5个位置处与特定序列不同的序列。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1(例如,表1A至表1I、1J至10等中的任一个)的碱基序列。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的5-30、10-30、15-30、20-30或25-30(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的10个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的11个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的12个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的13个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的14个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的15个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的16个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的17个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的18个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的19个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的20个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的21个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的22个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的23个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的24个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的25个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的26个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的27个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的28个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的29个连续碱基。在一些实施例中,特定序列是或包含选自表1的碱基序列中的30个连续碱基。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1A的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1B的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1C的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1D的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1E的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1F的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1G的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1H的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1I的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1J的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1K的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1L的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1M的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1N的碱基序列。在一些实施例中,选自表1的碱基序列是选自表1O的碱基序列。在一些实施例中,碱基序列选自WO 2021/071858的表1(例如,1A、1B、1C、1D、1E、1F、1G、1H和/或1I),其全部内容通过引用并入本文。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是

或包含UCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCIUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCUAIUCGAU。在一些实施例中,特定序列是或包含ACAUAUUUUACACGAAAGCAAUGCCAUCAC,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含ACAUAUUUUACACGAAAGCAAUGCCAUCAC。在一些实施例中,特定序列是或包含AUCCACUGUGGCACCCAGAUUAUCCAUGUU,其中每个U可以独立地用T替代,反之亦然。在一些实施例中,特定序列是或包含AUCCACUGUGGCACCCAGAUUAUCCAUGUU。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。在一些实施例中,特定序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUTCTUIUCGAU。

[0634] 下表1描述了某些寡核苷酸和/或组合物,该表包含多个部分,例如1A、1B、1C等,可单独称为表1A、1B、1C等。本披露中提及的某些寡核苷酸和/或组合物在WO 2021/071858中描述,例如在WO 2021/071858的表1中。WO 2021/071858的所有寡核苷酸和/或组合物通过引用并入本文。

表 1. 示例寡核苷酸和/或组合物。

表 1A. 靶向 UGP2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-40590	fAn001RfU*SfC*SfA*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfCn001RfC*SfGn001RmA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSSSnRnSnRS SSSSSSSSSnRSSnR
WV-42488	L022*RfAn001RfU*SfC*SfA*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfCn001RfC*SfGn001RmA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	RnRSSSSSSSSSSSSSnRnSnR SSSSSSSSSnRSSnR
WV-42489	L022*RFa*SfU*SfC*SfA*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfCn001RfC*SfGn001RmA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	RSSSSSSSSSSSSSSSnRnSnRS SSSSSSSSSnRSSnR
WV-42490	fA*SfU*SfC*SfA*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfA*SfCn001RfC*SfGn001RmA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	SSSSSSSSSSSSSSSnRnSnRSS SSSSSSSSSnRSSnR

表 1B. 靶向 ACTB 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-39306	Mod001L001fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfCn001RfA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUACAC	OnRSSSSSSSSSSSSSnRnSnR SSSSSSSSSnRSSnR
WV-39305	Mod001L001fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfCn001RfA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUACAC	OnRSSSSSSSSSSSSSnRnSnR SSSSSSSSSnRSSnR
WV-39294	Mod001L001fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfCn001RfA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001R5MRdT*SfC*SfMAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSSSnRnSnR SSSSSSSSSnRSSnR
WV-	Mod001L001fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfCn001RfA*SfMg*SfM*A*SfM*U*SfC*SC*SAn001RmU*SfMg*SfMUn001RmU	ACAUAUUUACACGAA	OnRSSSSSSSSSSSSSnRnSnR

39293	mU*SmtG*SfC*SC*SA n001R5MSdT*SfC*SmAn001RmC	AGCAU GCCATCAC	SSSSSSSSnRSSnR
WV- 39289	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA n001RT*SfC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnRSSnR
WV- 39267	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnRSSnR
WV- 39266	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnRSSnR
WV- 39265	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnRSSnR
WV- 39202	L023L010n001RL010n001RL010n001RfAn001RfC*SFA*StU*Sf A*SfU*StU*SFA*SfC*SFA*SfC*SfG*SfA*SmA*SmA*SmG*Sm C*SmAn001RmA*SmU*SmG*SfC*SC*SA n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRnRnRnRSSSSSSSSSS SSSSSSSnRSSnR
WV- 39203	L023L010n001RL010n001RL010n001RfA*SfC*SFA*StU*SFA*S fU*StU*SfC*SfA*SfC*SfG*SfA*SmA*SmA*SmG*SmC*S mA*SmA*SmU*SmG*SfC*SC*SA n001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRnRnRSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnRSSnR
WV- 40805	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA sm01n001mU*SmC*SA sm01n001mC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnXSSnX
WV- 40804	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf SfC*SFA*SfC*SfGsm01n001fA*SA sm01n001mA*SmG*SmC*SmA*S mA*SmU*SmG*SfC*SC*SA sm01n001mU*SmC*SA sm01n001mC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnXSSSSSSSSSSSnX SSSSSSSSnXSSnX
WV- 40803	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA sm01n001mU*SmC*SmAn001RmC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnXSSnR
WV- 40802	Mod001L001fAn001RfC*SFA*StU*SFA*SFA*StU*StU*SFA*Sf C*SFA*SfC*SfGn001RfA*SmAn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmA*S mU*SmtG*SfC*SC*SA sm01*n001mU*SmC*SA sm01*n001mC	ACAAUUAUACACGAA AGCAAUGCCATCAC	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSn*XSSn*X



42336	fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfA *SC*SAnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	AGCAUAGACUCAC	SSSSSSSnRSSnR
WV- 42337	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfG *SC*SAnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGGCAUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR
WV- 42338	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfU *SC*SCnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGUCCUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR
WV- 42339	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfA *SC*SCnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGACCCUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR
WV- 42340	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfC *SC*SCnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGGCCUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR
WV- 42341	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfG *SC*SCnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGGCCUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR
WV- 42342	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfU *SC*Slnt001SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGUCIUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnSSSnR
WV- 42343	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfA *SC*Slnt001SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGACIUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnSSSnR
WV- 42344	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfC *SC*Slnt001SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCIUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnSSSnR
WV- 42345	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfG *SC*Slnt001SmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGGCIUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnSSSnR
WV- 42346	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*S fGn001RfA*SmAn001RmU*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfU *SC*SGnt001RmU*SmC*SmAn001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGGUCUCAC	mRSSSSSSSSSSmRSnRS SSSSSSSnRSSnR







表 1D. 靶向 SERPINA1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-42060	mCn001RmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfA	CAGUUCAGUCCCUU CUCUUGAUGGUCA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42059	mGn001RmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfC	GCAGUUCAGUCCCUU UCUCUUGAUGGUCA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS nSSSSSSSSnR
WV-42058	mAn001RmG*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfU	AGCAGUUCAGUCCCUU UUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SnSSSSSSSSnR
WV-42057	mCn001RmA*SmG*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfG	CAGCAGUUCAGUCCCUU UUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnSSSSSSSnR
WV-42056	mCn001RmC*SmA*SmG*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfG	CCAGCAGUUCAGUCCCUU CUUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR
WV-42055	mCn001RmC*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfU	CCCAGCAGUUCAGUCCCUU CUUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR
WV-42054	mCn001RmC*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfA	CCCAGCAGUUCAGUCCCUU CUUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR
WV-42053	mGn001RmC*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfG	GCCCCAGCAGUUCAGUCCCUU UUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSnR
WV-42052	mGn001RmG*SmC*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfC	GGCCCCAGCAGUUCAGUCCCUU UUCUCUUGAUGGU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSnR
WV-	mUn001RmG*SmG*SmC*SmC*SmA*SmG*SmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*StU*StC*StU*StC*Stn001StU*StC*StG*StA*StU*StG*StG*StU*StC*StCn001RfU	UGGCCCCAGCAGUCCCUU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSSSSSSSSSS

42051	SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU	AGUCCCUUCUCIU	SSSSSSSnS
WV- 42050	fUn001RC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU*SfC*SfA* SfG*SfC*SmA*SmC*SmA*SmG*SmC*SmC*SmA*SmU*SmA*SmA*SmU *SmG*SmA*SmA*SmCn001RmG	UCUUCGAUGGUCAGCA CAGCCUUAUGCACG	mRSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42049	fCn001RfC*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU*SfC* SfA*SfG*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmU*SmG*SmA*SmA*SmA*SmA	CUUCGAUGGUCAGC ACAGCCUUAUGCAC	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42048	fUn001RfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU* SfC*SfA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	UCUCGAUGGUCAG CACAGCCUUAUGCA	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42047	fUn001RfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG* SfU*SfC*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	UUCUCGAUGGUCU GCACAGCCUUAUGC	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42046	fUn001RfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG* SfG*SfU*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	UUCUCGAUGGUC AGCACAGCCUUAUG	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42045	fCn001RfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU* SfG*SfG*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	CUUCUCGAUGGU CAGCACAGCCUUAU	mRSSSSSnSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42044	fCn001RfC*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG*SfA* SfU*SfG*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	CCUUCUCGAUGG UCAGCACAGCCUA	mRSSSSSnSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42043	fCn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC*SfG* SfA*SfU*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	CCUUCUCUCGAUG GUCAGCACAGCCU	mRSSSSSSSnSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42042	fUn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU*SfC* SfG*SfA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	UCCUUCUCUCGAU GGUCAGCACAGCCU	mRSSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42041	fGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001SfU* SfC*SfG*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA *SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA	GUCCCUUCUCUCGA UGUCAGCACAGCC	mRSSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV- 42040	fAn001RfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SIn001	AGUCCCUUCUCUCG	mRSSSSSSSSSSSnSSSSSSSS

42040	SfU*SfC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmU*SmC*SmA*SmG*Sm	AUGGUCAGCACAGC	SSSSSSSSnR
WV- 42039	fCn001RfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SC*SI n001SfU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmU*SmC*SmA*SmG *SmC*SmA*SmC*SmAn001RmG	CAGUCCUUUCUCIUC GAUGGUCAGCACAG	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42038	fUn001RfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*S C*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmU*SmC*SmA *SmG*SmC*SmA*SmCn001RmA	UCAGUCCUUUCUCIU CGAUGGUCAGCACA	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42037	fUn001RfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sf U*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmU*SmC* SmA*SmG*SmC*SmAn001RmC	UUCAGUCCUUUCUCI UCGAUGGUCAGCAC	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42036	fCn001RfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*Sf C*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmU*Sm mC*SmA*SmG*SmCn001RmA	CUUCAGUCCUUUCUC IUCGAUGGUCAGCA	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42035	fGn001RfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sf U*SfC*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*Sm mU*SmC*SmA*SmGn001RmC	GCUUCAGUCCUUUCU CIUCGAUGGUCAGC	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42034	fAn001RfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*Sf U*SfU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*Sm mG*SmU*SmC*SmAn001RmG	AGCUUCAGUCCUUUC UCIUCGAUGGUCAG	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42033	fCn001RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*Sf U*SfU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*Sm mG*SmG*SmU*SmCn001RmA	CAGUUCAGUCCUUU CUCIUCGAUGGUCA	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSSSSSSSnR
WV- 42032	fGn001RfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*Sf C*SfU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*SmG*Sm mU*SmG*SmG*SmU*SmCn001RmC	GCAGUUCAGUCCUU UCUCIUCGAUGGUC	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS nSSSSSSSSnR
WV- 42031	fAn001RfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*Sf fC*SfC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SmC*SfU*SC*Slm001Sm mA*SmU*SmG*SmGn001RmC	AGCAGUUCAGUCCU UUUCIUCGAUGGU	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SnSSSSSSnR
WV- 42030	fCn001RfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*Sf fC*SfC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*Sm mG*SmA*SmU*SmGn001RmG	CAGCAGUUCAGUCCC UUUCIUCGAUGG	mRSSSSSSSSSSnSSSSSS SSnSSSSSSnR

WV-42029	fCn001RfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmG	CCAGAGCAGUUCAGUCC CUUUCUUCGGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV-42028	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmU	CCCAGAGCAGUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV-42027	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmA	CCCAGAGCAGUUCAGU CCUUUCUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV-42026	fGn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmG	GCCCAGCAGUUCAG UCCUUUCUUCUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV-42025	fGn001RfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmC	GGCCCAGCAGUUCAG GUCCUUUCUUCUIC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV-42024	fU001RfG*SfG*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmU	UGGCCAGCAGUUC AGUCCUUUCUUCU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnS
WV-42076	mCn001RU*SC*SfM*U*001RmU*SfM*C*SfM*U*SfM*A*SfM*U*SfM*G*SfM*G*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmC	CUCUCGAGUUCAGC ACAGCCUUUAUGCAG	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV-42075	mUn001RmC*SfU*SfC*SfM*U*001RmU*SfM*C*SfM*U*SfM*A*SfM*U*SfM*G*SfM*G*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RIA	UCUCUCGAGUUCAG CACAGCCUUUAUGCA	mRSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV-42074	mUn001RmU*SfM*C*SfU*SfC*SfM*U*001RmU*SfM*C*SfM*U*SfM*A*SfM*U*SfM*G*SfM*G*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmC	UUCUCUCGAGUUCAG GCACAGCCUUUAUGC	mRSSSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV-42073	mUn001RmU*SfM*U*SfM*C*SfU*SfC*SfM*U*001RmU*SfM*C*SfM*U*SfM*A*SfM*U*SfM*G*SfM*G*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmG	UUUCUCUCAGUUC AGCACAGCCUUUAUG	mRSSSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR
WV-42072	mCn001RmU*SfM*U*SfM*U*SfM*C*SfU*SfC*SfM*U*001RmU*SfM*C*SfM*U*SfM*G*SfM*G*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfM*A*SfM*U*001RmC	CUUCUCUCAGUUC CAGCACAGCCUUUAU	mRSSSSSSnSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnR

WV-42071	fc*SfC*SfU*SfA*n001RfU mCn001RmC*SmU*SmU*SmC*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*SmC*S mG*SmA*SmU*SmG*SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*S fG*SfC*SfC*SfU*SfU*n001RfA	CCUUUCUUCGUAUG UCAGCACAGCCUUA	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42070	mCn001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SmU*S mC*SmG*SmA*SmU*SfG*SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfC*S fA*SfG*SfC*SfC*SfU*n001RfU	CCUUUCUUCGUAUG GUCAGCACAGCCUU	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42069	mUn001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001S mU*SmC*SmG*SmA*SmU*SfG*SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*S fC*SfA*SfG*SfC*SfC*n001RfU	UCCUUUCUUCGUAU GGUCAGCACAGCCU	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42068	mGn001RmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm 001SmU*SmC*SmG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*SfC*Sf A*SfC*SfA*SfG*SfC*n001RfC	GUCCUUUCUUCGUA UGGUCAGCACAGCC	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42067	mAn001RmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*S C*Slm001SmU*SmC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*Sf C*SfA*SfC*SfA*SfG*n001RfC	AGUCCUUUCUUCG AUGGUCAGCACAGC	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42065	mUn001RmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU* SmC*SfU*SC*Slm001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfC*SfA*SfC*n001RfA	UCAGUCCUUUCUCU CGAUGGUCAGCACA	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42064	mUn001RmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU* SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG*SfU* SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*n001RfC	UUCAGUCCUUUCUCI UCGAUGGUCAGCAC	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42063	mCn001RmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU* SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG* SfU*SfC*SfA*SfG*SfC*n001RfA	CUUCAGUCCUUUCUC IUCGAUGGUCAGCA	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42062	mGn001RmC*SmU*SmU*SmC*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC* SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Slm001SfU*SfC*SfG*SfA*SfU*SfG*SfG *SfG*SfU*SfC*SfA*SfG*n001RfC	GCUCAGUCCUUUCU CIUCGAUGGUCAGC	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-42688	fCn001RfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*Sf C*SfU*Sb001A*Slm001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*SmG*Sm U*SmC*SmA*SmG*SmC*n001RmA	CUUCAGUCCUUUCUA IUCGAUGGUCAGCA	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR
WV-	fGn001RfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*Sf	GCUCAGUCCUUUCU	mRSSSSSSSSnSSSSSSSSSS SSSSSSSSSnR

42687	U*SfC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*SmG*Sm	AUUGAUGGUCAGC	SSSSSSSSSnR
WV- 42686	fAn001RfG*SfC*StU*SfA*SfG*SfA*SfG*StU*SfC*SfC*StU*Sf U*StU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmU*Sm G*SmG*SmU*SmC*SmA*SmAn001RmG	AGCUCAGUCCCUUC UAIUCGAUGGUCAG	mRSSSSSSSSSSSSSSnS SSSSSSSSSnR
WV- 42685	fCn001RfA*SfG*SfC*StU*SfA*SfG*StU*SfC*SfC*StU*Sf U*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*Sm U*SmG*SmU*SmC*SmAn001RmA	CAGCUCAGUCCCUU CUAIUCGAUGGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSSSSSSnR
WV- 42684	fGn001RfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfA*SfG*StU*SfC*SfC*StU*Sf C*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*Sm A*SmU*SmG*SmU*SmC*SmAn001RmC	GCAGCUCAGUCCCU UCUAIUCGAUGGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSn nSSSSSSSSnR
WV- 42683	fAn001RfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfA*SfG*StU*SfC*SfC*S fC*SfC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*Sm G*SmA*SmU*SmG*SmAn001RmU	AGCAGCUCAGUCCCU UUCUAIUCGAUGG	mRSSSSSSSSSSSSSSn SnSSSSSSSnR
WV- 42682	fCn001RfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*SfA*SfG*StU*S fC*SfC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*Sm C*SmG*SmA*SmU*SmC*SmAn001RmG	CAGCAGCUCAGUCC UUUCUAIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSnSSSSSSnR
WV- 42681	fCn001RfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*SfA*SfG*StU*Sf U*SfC*StU*SmC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001Sm U*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmG	CCAGCAGCUCAGUCC CUUUCUAIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSnSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*SfA*SfG*StU*Sf G*StU*SmC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSnSSSSnR
WV- 42679	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*SfC*StU*Sf A*SfG*StU*SmC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSnSSSSnR
WV- 42678	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*SfC*StU*Sf C*SfA*StU*SmU*SmC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmG	GCCCAGCAGCUCAG UCCCUUCUAIUCG	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSnSSnR
WV- 42677	fCn001RfG*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*SfC*StU*Sf U*SfC*StU*SmU*SmC*StU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmC	GGCCCAGCAGCUC GUCCCUUCUAIUC	mRSSSSSSSSSSSSSSn SSSSSSnSnR

WV-42676	fUn001rfg*Sfg*Sfc*Sfc*Sfa*Sfg*Sfc*Sfa*Sfg*Sfc*SfA* U*SfU*Smc*SmA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU* SmC*SfU*Sb001A*Slm001SmU	UGGCCCCAGCAGCUUC AGUCCCUUCUAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnS
WV-42327	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*Sb008U* Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnXSSnR
WV-38630	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*Sb001A* Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTAUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnXSSnR
WV-38629	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*SfC*Slm 001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnXSSnR
WV-42328	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*S b008U*Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnXSSnR
WV-38923	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*S b008U*Gm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnXSSnR
WV-38622	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*S b001A*Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTAUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnXSSnR
WV-38621	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*S rC*Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnXSSnR
WV-38620	fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*S C*Slm001mU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnXSSnR
WV-42600	Mod001L001fCn001rFc*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfAn001rFG*SmUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*Sm U*SmC*ST*Sb001A*Slm001SmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCCUUUCTAUCGA	OmRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSSnR
WV-42960	Mod001L001fCn001rFc*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU *SfC*SfA*SfGm001rU*SmCm001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*Sm	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAUCGAU	OmRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSSnR

WV-42962	C*SfU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU *SfC*SfA*SfGn001RfU*SfCn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU *Sb001A*Sln001SmU*SmC*SfG*SfAAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnSSSSnR
WV-42958	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf Gn001RfU*SmCn001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001 A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSnRS SSSSSSnSSSSnR
WV-42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*Sln0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-42028	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SC*Sln001Sm U*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-42328	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf An001RfG*SmUn001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*ST*S b008U*Sln001mU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCUUUCTUUCGA	nRSSSSSSSSSSSSnRS SSSSSSSSnXSSnR
WV-42327	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*ST*Sb008U* Sln001mU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCUUUCTUUCGA	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnXSSnR
WV-42939	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SfCsm14*Sln 001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-42938	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001rA*Sln0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-42937	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SCsm17*Sln0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-42936	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SCsm16*In00 1SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSXnSSSSnR
WV-	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUCAGUC	nRSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSSSSSSS

42935	G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SCsm15*In00 ISmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUCIUCGAU	SSSXnSSSSSnR
WV- 42933	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SB007C*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42932	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SB004C*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SB001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42028	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SC*Slm001Sm U*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42030	fCn001RfA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StG*StU*St fC*StC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SC*Slm001SmU*SmC*St mG*SmA*SmU*SmGn001RmG	CAGCAGCUCUCAGUCC UUUCUCIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnSSSSSSnR
WV- 42029	fCn001RfC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StG*StF U*StC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SC*Slm001SmU*Sm C*SmG*SmA*SmU*SmGn001RmG	CCAGCAGCUCUCAGUCC CUUUCUCIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42028	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SC*Slm001Sm U*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42027	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SC*Slm001Sm 001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCUCAGU CCUUUCUCIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR
WV- 42682	fCn001RfA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StG*StU*St fC*StC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SB001A*Slm001SmU*Sm C*SmG*SmA*SmU*SmGn001RmG	CAGCAGCUCUCAGUCC UUUCUAIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnSSSSSSnR
WV- 42681	fCn001RfC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StG*StF U*StC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SRU*SB001A*Slm001Sm U*SmC*SmG*SmA*SmU*SmGn001RmG	CCAGCAGCUCUCAGUCC CUUUCUAIUCGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSSnR



WV-42984	01SmUn001RmC*SmG*SmAn001RmU fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SmC*SfU*Sb001A*n001R In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnRnSSSSSnR
WV-42983	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SmC*SfU*n001Rb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnRnSSSSSnR
WV-42982	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmCn001RfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SnRSSnSSSSSnR
WV-42981	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmUn001RmC*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS mRSSnSSSSSnR
WV-42980	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmUn001RmU*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS RSSSSnSSSSSnR
WV-42979	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmUn001RmU*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS RSSSSnSSSSSnR
WV-42978	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmCn001RmU*SmU*SmU*SmU*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-42977	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmCn001RmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-42976	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmCn001RmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-42975	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfUn001RmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SnRSSnSSSSSnR

42974	Gn001RfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSSSSSnSSSSnR
WV- 42973	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfAn0 01RfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42972	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*n001Rf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42971	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*n001RfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42970	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*n001RfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42969	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*n001RfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42968	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*n001RfC*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42967	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*n001RfG*SfC*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42966	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*n001RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42965	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*n001RfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV- 42964	fCn001RfC*SfC*SfA*n001RfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSnRSSSSSS SSSSSSnSSSSnR

WV-42963	fCn001RfC*SfCm001RIA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRsnRssssssssssssssss ssssssnsssssnR
WV-42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43081	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43080	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43078	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43077	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43076	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43075	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43074	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43073	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR
WV-43072	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SmC*SmU*SmC*SmU*Sb001A*Sln001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRssssssssssssssss sssssnsssssnR

WV-43071	01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43070	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43069	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43068	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43067	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43066	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43065	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43064	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43063	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-43062	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR fG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfR	CCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS

43061	FG*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSSSSnSSSSnR
WV- 43060	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*RfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*S FG*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43059	fCn001RfC*SfC*SfA*RfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*S FG*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43058	fCn001RfC*SfC*RfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*S FG*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43022	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43021	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43020	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43019	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43018	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 01SfU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV- 43017	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*Slm0 1SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSRRSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR

WV- 43016	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmtC*SmtC*SmtU*SfU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43015	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SfU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43014	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SfU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43013	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SfC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43012	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43011	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn00 1SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43037	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*Sf G*SmtU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn 001SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43036	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*S mG*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SIn 001SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43035	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA* SfG*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43034	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA* SfG*SfU*SmtC*SmtC*SmtC*SmtU*SmtU*SmtU*SmtC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmtC*SmtG*SmtAnt001RmtU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR

WV-43033	n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SmU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43032	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SmU*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43031	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SmC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43030	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SmG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43029	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43028	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SmU*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43027	fCn001RfC*SfC*SfA*SmG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43026	fCn001RfC*SfC*SmA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43025	fCn001RfC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43024	fCn001RmC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-	mCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfC*SfA* SfG*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR

43023	SfG*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSSSnSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43057	fCn001RfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*SfG*StU*S fC*SfC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n001SmU*Sm C*SmG*SmAn001RmU	CAGCAGCUUCAGUCCC UUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43056	fCn001RfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*SfG*Sf U*SfC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n001Sm U*SmC*SmGn001RmA	CCAGCAGCUUCAGUCC CUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43055	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n01SmU*SmCn001RmG	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43054	fCn001RfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*SfG*Sf U*SfC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n001Sm U*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCAGCAGCUUCAGUCC CUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43053	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n01SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43052	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A *SI n001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43051	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf G*StU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n01SmU*SmC*SmG*SmA*SmUn001RmG	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43050	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf C*SfA*SmG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A*SI n001SmU*SmC*SmG*SmA*SmAn001RmU	GCCCCAGCAGCUUCAG UCCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43049	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*StU*StU*SfC*SfA*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*Sb001A *SI n001SmU*SmC*SmG*SmA*SmUn001RmG	CCCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR

WV- 43048	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf 01SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAUGG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf 01SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSSnR
WV- 43047	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf In001SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS nROmRSSSSnSSSSnR
WV- 43046	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf 1SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS nROSSSSnSSSSnR
WV- 43045	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf n001SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS OnRSSSSnSSSSnR
WV- 43044	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf n001SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS ROmRSSSSnSSSSnR
WV- 43043	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS OSSSSnSSSSnR
WV- 43042	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS OSSSSnSSSSnR
WV- 43041	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR
WV- 43040	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf SmU*SfC*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR
WV- 43039	fCa001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SIG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSSnR

WV-43038	SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmCmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*Sb001A*SIn001 SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SIn0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43118	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SmC*SfU*Sb001 A*SIn001SmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43119	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*Sb001A *SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43120	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU* SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*Sb0 01A*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSSnR
WV-43121	Mod001L001fCn001RfC*SfCn001RfA*SfG*SfCn001RfA*SfG*SfC*S fU*SfU*SfC*SfA*SfGn001RfU*SfCn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfU*n001RfU *SmC*SfU*Sb001A*SIn001SmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSnRSSnRSSSSSSSnRS mRSSSnRSSSnSSSSSnR
WV-43122	Mod001L001fCn001RfC*SfCn001RfA*SfG*SfCn001RfA*SfG*SfC*S fU*SfU*SfC*SfA*SfGn001RfU*SfCn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfU*n001RfU *SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSnRSSnRSSSSSSSnRS mRSSSnRSSSnSSSSSnR
WV-43123	Mod001L001mCn001RmC*SmCn001RfA*SfG*SfCn001RfA*SfG*SfC*Sf C*SfU*SfC*SfA*SfGn001RfU*SfCn001RfC*SfC*SfU*SfU*SfU*n001 RfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	OnRSSnRSSnRSSSSSSSnRS mRSSSnRSSSnSSSSSnR
WV-43745	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfU*SC*SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAIUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSSSSSnR
WV-43746	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfU*Sb001A*SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAIUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSSSSSnR
WV-	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU	CCCCAGCAGCUUCAGU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSSSSSnR

43747	*SfU*SfC*SfA*SfG*SfM*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfU*Sf008U*SfIn001SmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCUUCUUCGGA	SSSSSSSnSSSnR
WV- 43748	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SfM*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC *SfC*SC*Sgnt001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCCGUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnRSSnR
WV- 43749	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S C*SfIn001SmU*SfC*SfGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUUCUCUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43750	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S b001A*SfIn001SmU*SfC*SfGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUUCUAIUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43751	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S b008U*SfIn001SmU*SfC*SfGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUUCUUCGGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43752	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S C*Sgnt001RmU*SfC*SfGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCCGUCGA	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnRSSnR
WV- 43753	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S 001SmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUCIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43118	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S A*SfIn001SmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43754	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S U*SfIn001SmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCUUCIUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnSSSnR
WV- 43755	Mod001L001fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU *SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*S n001RmU*SmC*SfG*SfAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCCCGUCGAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSnRSSnR
WV- 43698	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfG*SfC*Sf n001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCAGCAGCUCAGU CCCUUCGCGUCGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR

WV- 43697	fCn001RfC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfC*SiC*SiC*SiG*SiG n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43696	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43695	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43694	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI 001SmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43693	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI 001SmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43692	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI 001SmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 42027	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI 001SmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43691	fCn001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43690	fCa001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI 001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43689	fCa001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV- 43688	fCa001RfC*SiC*SiC*SiA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SiU*SiU*SiC*Sf A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SfA*SfC*SiC*SiG*SiG*SiI n001RmU*SmC*SmGm001RmA	CCCCAGCAGCUCACAGU CCCUUCCGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR

WV-43687	n001RmU*SmC*SmGnt001RmA fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfG*SA n001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUUCGCAUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43686	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfC*SA n001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCCAUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43685	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SA n001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUACAUCCA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43683	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfG*STn 001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCGCTUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43682	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfC*SA*STn 001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCCTUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43681	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*SA*STn 001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCCACTUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SA*STn 001RmU*SmC*SmGnt001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUUCUCTUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-43725	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfG*Sb001A*SGn 001RmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCGAGUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-43724	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfC*Sb001A*SGn 001RmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCAGUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-43722	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb001A*SGn 001RmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCAGUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA SfA*STn	CCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR

43721	G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StG*SB001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCGAIUCGAU	SSSSnSSSSnR
WV- 43720	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StC*SB001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCGAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43719	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StA*SB001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCAAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 42680	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*SB001A*Slm0 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43705	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*SB001A *SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCGAGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 43704	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StC*SB001A *SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCGAGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 43703	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StA*SB001A *SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCAAGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 43702	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*SB001A *SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAGUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 43699	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StA*SB001A *Slm001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCAAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 42679	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF A*StG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StU*SB001A *Slm001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCAGCAGCUUCAGU CCUUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43733	fCn001RfC*StC*StA*StG*StC*StA*StG*StC*StU*StU*StC*StA*StF G*StU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*StG*SB008U*SGn 001RmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCGUGUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR



WV-43709	*SGn001RmU*SmC*SmGn001RmA fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb008U *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCGUCUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43708	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb008U *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCGUCUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43707	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb008U *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCAUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43706	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb008U *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUUCUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-42679	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb001A *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43714	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCTAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43706	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb008U *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUUCUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43715	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*ST*Sb008U* SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCTUUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-42679	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb001A *SIn001SmU*SmC*SmGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-43718	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA A*SfG*SmU*SmC*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfA*Sb001A*STIn00 1SmU*SfC*SfGn001RmA	CCCCAGCAGCUCAGU CCCUUCUAIUCGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*SmU*STIn001RmCfA	CCCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSnR

44275	*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*n001RU*SmUfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44274	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*n001RmC*SfA*SfGn001RU*SmC*SfC*SfC*SfU*n001RU*SmU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSnRSSnRSSS SnRSSSSSSnSSSSnR
WV-44273	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*n001RmCFA*SfGn001RU*mC*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSOSSSnSOSSnR
WV-44272	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*n001RmC*SfA*SfGn001RU*SmC*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSnRSSnRSSS SSSSSSnSSSSnR
WV-44271	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*SfU*n001RmC*SfA*SfG*SfC*SmUfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSOSSOSSS SSOSSSnSOSSnR
WV-44270	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*SfU*n001RmC*SfA*SfG*SfC*SmUfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSOSSOSSS SSOSSSnSOSSnR
WV-44269	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SmA*SfG*SfC*SmU*SfU*SfU*n001RmC*SfA*SfG*SfC*SmUfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-44226	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnSSSSnR
WV-44227	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS OnRSSSSnSSSSnR
WV-44191	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOnRSO SSOSSSnSOSSnR
WV-44190	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOnRSSS SSOSSSnSOSSnR

WV-44189	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfEAfGn001RfU*SfCmC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-44187	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-44186	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-44184	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-44183	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-44182	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnSOSSSnR
WV-43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44224	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnRSSR SSSSSSSnSSSSSnR
WV-44223	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnRSSR SSSSSSSnRSSSnR
WV-44222	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnRSSR SSSSSSSnRSSSnR
WV-44219	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC*SfA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSnRSmRSSOSSSSnRSSR SSSSSSSnRSSSnR

WV-44218	In001SmU*RfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC* SfAn001RfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*S In001SmU*RfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSnRnRSSSS SSSSSSSnRSSSnR
WV-44217	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*m001RfC* SfAn001RfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*S In001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSnRnRSSSS SSSSSSSnRSSSnR
WV-44216	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*RfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSRRSS SSSSSSnSSSSnR
WV-44215	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*RfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnRSSSnR
WV-44214	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*RfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSRSSnR
WV-44213	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*RfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSnSSSSnR
WV-44199	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*Sf*RmU *SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSRSSSnR
WV-43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44200	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmA*SmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSS
WV-44198	mC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmU *SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	SSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnSSSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SmA*SmG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*S mU	CCCAGCAGCUCAGUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSSSSSSSSSSS

44203	EA*SfG*SU*SfC*SfC*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSSSnSSSSnR
WV- 44202	mCn001RmC*SmC*SmA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SU*SfC*SU*A*SfG*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44201	mCn001RmC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44225	mCn001RmC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44268	Cn001RC*SC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44267	mCn001RmC*SC*SEA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44266	mCn001RC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44265	Cn001RmC*SmC*SEA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 44264	m5Ce001Rm5Ce0*Sm5Ce0*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV- 43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SU*SU*SfC*SU*SfA*SfG*SU*SU*SfC*SfC*SU*SU*SU*SfC*SU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR

WV-44179	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Scsm15*In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSSS SSSSSSXsnSOSSnR
WV-44178	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001rA*Sin001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSSS SSSSSSsnSOSSnR
WV-44188	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSSS SSSSSSsnSOSSnR
WV-44210	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001rA*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSnRSSSS SSSSSSsnSSSSnR
WV-44185	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSnRSnRSSSS SSSSSSsnSSSSnR
WV-44175	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001rA*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44209	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44208	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44207	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGUAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44206	mCn001RmC*SmU*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfU*Sb001A*Sin001SmU	CCUAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSOSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR

	mU*SfC*SmG*SmAn001RmU			mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44205	mCn001RmU*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CUCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU		mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44204	mUn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SteoRmU	UCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU		mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-43114	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU		mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44464	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S U*SmU*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU		OnRSSSSOSSSSnRSONRS SSSSOSSSSnSOSSnR
WV-44465	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S U*SmU*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU		OnRSSSSOSSSSnRSONRS SSSSOSSSSnSOSSnR

表 1E. 靶向 SERPINA1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-42680	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S 01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR SSSSnSOSSnR
WV-44285	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S *SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR SSnXSnSOSSnR
WV-44286	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S *SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR SSSSnXSSSSnR
WV-44287	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*Sb001A*SIn001S *SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR SSOSSnSOSSnR

WV-44288	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm18m001A*SGsm01n013mU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44327	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm18m001b001A*Slm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXSnSSSSSnR
WV-42028	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm18m001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44278	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n001C*Slm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXSnSSSSSnR
WV-44279	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n001Hn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXnSSSSSnR
WV-44280	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n001Hn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXnSSSSSnR
WV-44281	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXSSSSSnR
WV-44282	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n013C*Slm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44283	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n013I013mU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44284	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm01n013mU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnR
WV-44328	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*G*SfU*SfC*SfC*SfM*SmU*SmU*SmU*SmC*Stm18m001C*Slm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCIUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnXSnSSSSSnR

ID	描述	碱基序列	立体化学/链接
	001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU		
表 1F. 靶向 SERPINA1 的示例寡核苷酸和/或组合物。			
WV-44275	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*Sn001RfU*SmUfC*SfU*Sb001A*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	nRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-44464	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*SfUn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb001A*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-44466	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb001A*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-44515	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb0008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	nRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-46313	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-46314	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb0008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-46315	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-46316	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RfC*SfAfGn001RfU*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO
WV-46317	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU*Sn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*Sb0008U*SfIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGAU	OnRSSSSOSSSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnROSnRO

WV-44464	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SfG*SmCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*SFUn001RfC*SfA*Gn001RfU*SfC*SfC*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*SfU*SfC*SfU*Sb001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSSnRSOnRS SSSSOSSSSnSOSSnR
WV-46406	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46407	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmA*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46408	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46409	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmA*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46410	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SmU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46411	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46412	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmA*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46413	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmA*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46414	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SmU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR
WV-46415	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmA*SfU*In001RmCfA*SfGn001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOOSnROSnRO SSSSOSSSnSOSSnR

WV-46468	UfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001S rUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-46469	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001 SUsm15fC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-46470	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001 SfUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44464	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA* U*SmUfUm001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001S 001A*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	OmRSSSSOSSOSnROSnRS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44487	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44482	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-47029	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RfCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-47030	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RfCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-47031	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RfCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-47032	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*SfU*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSSOSSOSnROSnROS

47033	A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUUCGAU	SSnRSOSSSnSOSSnR
WV- 47034	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUm001RfCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47035	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SmUm001RfCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV- 47036	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SmUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47037	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUm001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47038	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SmUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RmU*SmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV- 47039	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SmUm001RfCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47040	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUm001RfCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfUmUfC*ST*Sb008U*SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47041	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SmUm001RfCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*S In001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV- 47042	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCTeo*SmUm001Rm CfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUm001RmU*STeofC*ST*Sb008U* SI n001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV- 47141	mU*FG*mUmUmAfAmAmCmAmUmGmCmCfUmAfAmAmCmGmC mU*mU*mU	UGUUAACAUGCUCUAA ACGCUUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOOXX
WV- 47141	Mod001L001mA*mGmCmGmUmUmUfUmAfGfGfCmAmUmGmUmUm	AGCGUUUAGGCAUGU	OXOOOOOOOOOOOOOO

47142	UmAmAmC*mA	UAACA	0000X
WV- 47143	L001mA*mGmCmUmUfUmAfGfGfCmAmUmGmUmUmAmAmC*mA	AGCGUUAAGGCAUGUU UAACA	OX00000000000000 0000X
WV- 47339	mCn051RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47340	mCn057RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47341	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt051RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47342	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt057RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47343	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*SC*Sb008U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47344	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*SC*Sb008U*SGm001 RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnROSSnR
WV- 47345	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb012U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47346	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb013U*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47347	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb001A*SIm001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47348	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb002A*SIm001S	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSSOSSOSnROSnROS

47348	mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUCTAIUCGAU	SSSOSSSnSOSSnR
WV-47349	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb0003A*Sln001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCTAIUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47350	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb0004I*Sln001Sm UfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCTAIUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47351	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb0002G*Sln001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCTAIUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47352	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb0009U*Sln001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCTAIUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47353	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0001A*Sb0008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCAUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47354	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0002A*Sb0008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCAUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47355	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0003A*Sb0008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCAUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47356	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47357	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0001C*Sb0008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-47358	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*Sb0008C*b0008U*Sln00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSOSSSnROSnROSnROS

47359	A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*STsm11*Sb008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUUCGAU	SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47360	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*STsm12*Sb008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47361	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb004C*Sb008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47362	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*SCsm17*Sb008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47363	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*SCsm17*Sb008U*Sln 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47364	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*ST*SC*Stn001SmUfC *SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47365	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb001A*SC*Stn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCACUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47366	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb002A*SC*Stn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCACUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47367	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb003A*SC*Stn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCACUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47368	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb008U*SC*Stn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR
WV- 47369	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*StGn001RfUmC*SfC*SfC*StU*SmUmUfC*Sb001C*SC*Stn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCUUCGAU	nRSSOSSSnROSnROSnROS SSSOSSSnSOSSnR

WV-47370	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*Sb008C*C*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSXSnSOSSnR
WV-47371	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*Stsm11*SC*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-47372	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*Stsm12*SC*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-47373	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*Sb004C*SC*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-47374	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*Sb007C*SC*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-47375	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*SCsm17*SC*Slm001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-46461	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*St*Sb008U*Slm001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnROSSnR
WV-47376	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*St*Sb008U*St*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnROSSnR
WV-47377	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*St*Sb001An001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnROSSnR
WV-47378	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*St*Sb002An001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnROSSnR
WV-47379	mCn001RmC*SmC*SFA*StG*SmCmA*StG*StCmU*SfUm001RmCfA*StGn001RfUmC*StC*StU*SmUmUfC*St*Sb003A*001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCCCIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROSnROS SSSOOSSnROSSnR

WV-47380	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sb008Un 001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV-47381	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sb001Cn 001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV-47382	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sb008Cn 001RmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnXOSSnR
WV-47383	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*STsm11* SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47384	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*STsm12* SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47385	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sb004C* SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47386	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sb007C* SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47387	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SCsm17* SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47388	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SC*SfUm001RmUf C*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV-47389	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SC*SI*SmUfC*S mG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-	SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSSOSSOSnROSnROS

47390	A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb001An001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCUUUCTCAUCGUAU	SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47391	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb002An001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47392	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb003A*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47393	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb008Un001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47394	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb001Cn001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47395	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb008Cn001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47396	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*STsm11*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47397	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*STsm12*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47398	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb004C*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47399	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*Sb007C*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR
WV- 47400	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfU*n001RmCf A*SfGn001RmC*SfC*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*SC*SCsm17*SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCAUCGUAU	nRSSOSSOSSnROSnROS SSSOOSSSnROSSnR

WV-47401	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB008U*SCsm11*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47402	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB008U*SCsm12*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47403	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB009Cs m11*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47404	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB008U*SB009Cs m12*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47405	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SC*SCsm11*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTCUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47406	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SC*SCsm12*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTCUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47407	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SC*SB009Csm11*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTCUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47408	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SC*SB009Csm12*SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTCUCUCCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSSSOSSnR
WV-47483	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB002G*Im001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTGUCG	nRSSSSOSSoSnnROSnROS SSSOOSSXnSOSSnR
WV-46313	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SmCmA*SiG*SmUfUn001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB008U*SiIn0015mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUUCG	OnRSSSSOSSoSnnROSnRO SSSnnROOSSSnnSOSSnR
WV-47595	L001mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiUm001RmCfA*SiGn001RUmC*SiC*SiC*SiU*SmUmUfC*ST*SB008U*SiIn0	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUCTUUCG	OnRSSSSOSSoSnnROSnRO SSSOOSSSSnSOSSnR

WV-47596	01SmUfC*SmG*SmAn001RmU L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-47597	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47598	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47599	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47600	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-47601	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSOnROOSSSnSOSSnR
WV-47602	Mod001L001m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAT	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47603	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoA*SfG*SfCfC*Teo*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47604	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoA*SfG*SfCfC*Teo*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47605	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAfG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUj001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSSOOSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAcofG*SfC*STeoc	CCCAGCAGCTUCAGUC	OnRSSSSOOSnROSnRO

47606	rUn001RmCfA*SiGn001RfUmC*SiC*SiC*SiF*SiU*Sn001RfTeoTeofC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUTTCTUIUCGAU	SSSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47607	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiFUn001RmCfA*SiGm001RfUmC*SiC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47608	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiC*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV- 47609	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*Sm5CeomA*SiG*SiC*Teo*SiU*Sn001RfUmC*SiC*SiC*SiF*SiU*Sn001RmU*STeofC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV- 46407	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiU*Sn001RmCfA*SiGm001RfUmCmC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47610	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SiU*Sn001RmCfA*SmGm001RfUmCmC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47611	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*SmCmA*SiG*SiCmU*SmU*Sn001RfCfA*SmGm001RfUmCmC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47612	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*Sm5CeomA*SiG*SiCmU*SiU*Sn001RmCfA*SiGm001RfUm5CeomC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47613	mCn001RmC*SmC*SFA*SiG*Sm5CeomA*SiG*SiCmU*SiU*Sn001RmCfA*SiGm001RfUm5CeomC*SiC*SiU*SiU*TeoTeofC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47614	m5Ceon001Rm5Ceo*SiA*SiG*Sm5CeomA*SiG*SiCmU*SiFUn001RmCfA*SiGm001RfUm5CeomC*SiC*SiU*SmU*UfC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAeon001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAT	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV- 47615	m5Ceon001Rm5Ceo*SiA*SiG*Sm5CeomA*SiG*SiCmU*SiFUn001RmCfA*SiGm001RfUm5CeomC*SiC*SiU*SiU*TeoTeofC*ST*SB008U*SiIn001SmUfC*SmG*SmAeon001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUTTCTUIUCGAT	nRSSOSSOSSnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR

WV-47616	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SmGn001RfUm5CeomC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47617	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SmGn001RfUm5CeomC*SfC*SfU*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47618	m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*Sm5CceomA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SmGn001RfUm5CeomC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAcem001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUTCTUIUCGAT	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47619	m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*Sm5CceomA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SmGn001RfUm5CeomC*SfC*SfU*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAcem001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUTCTUIUCGAT	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-46452	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47620	m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*Sm5CceomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAcem001RTeo	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAT	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47621	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47622	m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*Sm5CceomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAcem001RTeo	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAT	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-46453	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47623	m5Ceon001Rm5Ceo*Sm5Ceo*SfA*SfG*Sm5CceomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAcem001RTeo	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGAT	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47624	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfU*STeoteofC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUTCTUIUCGUAU	nRSSSSOSSOSnROSnROO SSSOOSSSnSOSSnR



WV-47644	Sb001A*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU Mod012L030*mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	XnRSSSSOSSOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47645	Mod012L030*mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SlIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	XnRSSSSOSSOSnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-47646	Mod012L030*mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	XnRSSSSOSSOSnROSnRO OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47647	Mod012L030*mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	XnRSSSSOSSOSnROSnRO OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-47648	Mod012L030*mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCTeo*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	XnRSSSSOSSOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-48453	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUm5CeomC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSnRO OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-48454	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SmCm001RfUm5CeomC*SfC*SfU*SmUteofC*ST*Sb008U*SlIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSnRO OSSSSOOSSSnSOSSnR
WV-48455	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn001RmUmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-48456	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn004SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-48457	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SlIn008SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSSOSSOSnROSnROS

48458	A*SiGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn0255mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUIUCGAU	SSSOOSSSnSOSSnR
WV-48459	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA*SiGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn0265mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCTUIUCGAU	nRSSSOOSSOnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-49085	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUmC*SfC*SfU*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49086	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SmGn001RfUm5Ceo*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49087	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCfTeo*SmUn001RmCfA*SiGn001RmUmCmC*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-49088	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SmCfTeo*SmUn001RmCfA*SiGn001RmUm5CeoC*SfC*SfU*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-49089	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*Sm5CeoTeo*SmUn001Rm5CeoF*A*SiGn001RmUm5Ceo5Ceo*SfC*SfU*STeofC*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO OSSSOOSSSnSOSSnR
WV-49090	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*SmUmUn001RmCfA*SiGn001RfUm5Ceo*SfC*SmCmUn001RmUteofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSOnROOSSSnSOSSnR
WV-49092	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SiGn001RfUm5Ceo*SfC*SfU*STeofC*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49093	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SiGn001RfUm5Ceo*SfC*SfU*STeofC*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSSOOSSSnSOSSnR
WV-47606	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeofG*SfC*STeofUn001RmCfA*SiGn001RfUmC*SfC*SfU*STeofC*STeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUIUCGAU	OnRSSSOOSSOnROSnRO SSSnROOSSSnSOSSnR

WV-46460	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeoG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*StUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROSnROSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49094	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeoAeoG*SfC*STeofUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*StUn001RTeoTeofC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUTTCTUUCGAU	OnRSSSSOOSOOnROSnROSnROSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49095	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmU*StUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*StUn001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSOOnROSnROSnROSSnROOSSSnSOSSnR
WV-49096	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmU*StUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*StUn001RmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOOSOOnROSnROSnROSSnROOSSSnSOSSnR
WV-44230	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb010U*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSSnR
WV-44231	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb010U*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSSnR
WV-44232	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*SL034*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSSnR
WV-44233	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb008C*In001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSXnSSSSnR
WV-44234	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb011U*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSSnSSSSnR
WV-44235	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb002G*In001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSXnSSSSnR
WV-44236	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*SfG*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmC*SfU*Sb012U*SIn001SmU*SmC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnSSSSnSSSSnR

WV-44237	01SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*sm04*C*Sm001 SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-44238	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SCsm04*In00 1SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-44239	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SU*sm04*In00 1SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-44240	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*sm04*Csm04*In 001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-44241	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*sm04*U*sm04*1 n001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-42934	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SU*sm04*1 n001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUCUICCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXXnSSSSnR
WV-44242	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SmC*Sm008U*Sm001A* Sm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44243	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SmC*Sm010U*Sm001A* Sm001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44244	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SmC*Sm001C*Sm001A*Sm In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44362	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SmC*Sm008C*Sm001A*Sm In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*SU*SmC*Sm008C*SfA*Sf In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUCUAIUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR

44246	G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*Sb011U*Sb001A*S In001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUAIUCGAU	SSSSnSSSnR
WV- 44247	fCn001RmC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SmC*SmC*SmU*SmU*SmU*SmU*SmC*Sb012U*Sb001A* SIn001SmU*SmC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44248	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb008U*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44249	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb010U*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44250	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb001C*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44363	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb008C*Sb001A*SIn001 SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSXSnnSSSnR
WV- 44251	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb008C*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44252	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb011U*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44253	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sb012U*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44377	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sfsm11*Sb001A*SIn0 01SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR
WV- 44378	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*Sfsm11*SfCsm11*SIn001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSnR

WV-44379	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb001A**SGsm11* SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnR
WV-44380	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**SfCsm11**Sln0 01SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44381	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb001A**Sln0 01SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44382	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**SCsm12**Sln001S mU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44383	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb001A**SGsm12* SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSSSSnR
WV-44384	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**SCsm12**Sln0 01SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44385	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb009Csm11**Sln 001SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUCIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44386	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb009Csm12**Sln 001SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44387	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**SL010**Sln001 SmU**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCAIUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44388	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**SL010**Sln001Sm U**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44389	mCn001RmC**SmC**SfA**SfG**SfC**SfA**SfG**SfC**SfU**SfU**SfC**SfA *SfG**SfU**SfC**SfC**SfU**SfU**SfU**SfC**SfU**SfU**Sb001A**SL010m0 U**SfC**SmG**SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSSnR

WV-44390	01RmU*SfC*SsmG*SsmAn001RmU mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA fC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44276	mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfU001RmCfAf Gn001RUmC*SfC*SfC*SfU001RUmUfC*SfU*Sb001A*SfIn001Sm UfC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnROOSSSSnSOSSSnR
WV-44277	mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU001RmCfAfG n001RUmC*SfC*SfU001RUmUfC*SfU*Sb001A*SfIn001SmUfC *SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS OSSnROOSSSSnSOSSSnR
WV-42028	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SsmC*SsmC*SsmU*SsmU*SsmU*SsmC*SfU*SC*SfIn001Sm U*SsmC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44349	fCn002RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SsmC*SsmC*SsmU*SsmU*SsmU*SsmC*SfU*SC*SfIn001Sm U*SsmC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44350	fCn006RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SsmC*SsmC*SsmU*SsmU*SsmU*SsmC*SfU*SC*SfIn001Sm U*SsmC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44351	fCn020RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SsmC*SsmC*SsmU*SsmU*SsmU*SsmC*SfU*SC*SfIn001Sm U*SsmC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44352	fCn001RfC*SfC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfC*SfA*Sf G*SfU*SsmC*SsmC*SsmU*SsmU*SsmU*SsmC*SfU*SC*SfIn006Sm U*SsmC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-46312	Mod001L001mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfCmCmA*SfG*SfCmU*Sf Un001RmCfA*SfGn001RUmC*SfC*SfC*SfU*SsmUmUfC*ST*Sb00 8U*SfIn001SmUfC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSOOSSSnSOSSSnR
WV-46318	Mod001L001mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfCmCmA*SfG*SfCmU*Sf Un001RmCfA*SfGn001RUmC*SfC*SfC*SfU*SsmUmUfC*ST*S b008U*SfIn001SmUfC*SsmG*SsmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUAU	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSsnROOSSSSnSOSSSnR
WV-	Mod001L001mCn001RmC*SsmC*SfA*SfG*SfCmCmAfG*SfCmU*SfIn	CCCAGCAGCUUCAGUC	OnRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS OOnRSSSSSSSSnROSSnRO

46319	001RmCfA*SiGm001RlUmC*SiC*SmC*Uf001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUUCGAU	SSOnROOSSSnSOSSnR
WV-46320	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SiG*SfCmA*SfC*SmCmU*SfUn001RmCfA*SiGm001RlUmC*SiC*SiC*SiU*U001RlU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSSnRO SSSnRSOSSSnSOSSnR
WV-46321	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SiG*SfCmA*SfC*SfCmU*SfUn001RmCfA*SiGm001RlUmC*SmCfC*SiU*U001RlU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSSnRO SOSnRSOSSSnSOSSnR
WV-46322	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SiG*SfCmA*SfC*SfC*SiU*SfUn001RfC*SEAfGm001RlUmCmCfC*SiU*SmUmU*SfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSSnRO OOSSOSSSnSOSSn
WV-46323	Mod001L001mCn001RmC*SmC*SfA*SiG*SfCmA*SfC*SfCmU*SfUn001RmCfA*SiGm001RlUmC*SiC*SiC*SiU*SfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	OnRSSOSSOSSnROSSnRO SSSSOSSSnSOSSnR

表 1G. 靶向 KEAP1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/链接
WV-47580	fGm001RfG*SfU*SfG*SfA*SiC*SfA*SiG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfG*SfC*SiC*SmC*SmA*SmC*SmC*SmC*SmA*SC*Sb008U*SCn001RmC*SiG*SmG*SmC*SmCn001RmC	GGUGACAGCCACGCC ACCCACUCCGGCC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47567	fCm001RfU*SfG*SfU*SfC*SfA*SiG*SfG*SfA*SfA*SfC*SfG*SfU*SfG*SfU*SmG*SmA*SmC*SmC*SmA*SmU*SmC*SA*Sb008U*SA*An001RmG*SfC*SmCn001RmU	CUGUCCAGGAACGUGU GACCAUCAUAGCCU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47579	fUn001RfG*SfU*SfC*SfA*SiG*SfG*SfA*SfA*SfC*SfG*SfU*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SmG*SmA*SmC*SmC*SmA*SmU*SmC*SA*Sb008U*SA*An001RmG*SfC*SmCn001RmC	UGUCCAGGAACGUGUG ACCAUCAUAGCCUC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47565	fCm001RfU*SfG*SfU*SfC*SfA*SiG*SfC*SfU*SfG*SfG*SfU*SfG*SfC*SmC*SmA*SmC*SmC*SmA*SmU*SmC*SA*Sb008U*SA*An001RmG*SfC*SmCn001RmC	CUGUCCAGCUUGGUCCU GACCAUCAUAGCCCC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47577	fUn001RfG*SfU*SfC*SfA*SiG*SfC*SfU*SfG*SfG*SfU*SfG*SfC*SmC*SmA*SmU*SmC*SA*Sb008U*SA*An001RmG*SfC*SmCn001RmC	UGUCCAGCUUGGUCCUG ACCAUCAUAGCCCC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR

WV-47576	001RmG*SfC*SmC*SmCn001RmC fCn001RfA*SfG*SfA*SfC*SfG*SfC*SfA*SfG*SfA*SfC*SfG*S fC*SfC*SmU*SmG*SmC*SmC*SmC*SmC*SmC*SC*Sb008U*STn0 01RmC*SfG*SfG*SfG*SfA*SfA*SfA	CAGACGCAGACGCCU GCCCGCUCGGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47575	fCn001RfA*SfU*SfA*SfC*SfC*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA*SfC*Sf A*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf 1SmG*SfA*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	CAUACCUCUCCACACU GUUGUGGUGAUGC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47570	fAn001RfC*SfU*SfA*SfC*SfC*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA*SfA*Sf C*SfA*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf *Sln001SmG*SfA*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	ACUACCUCUCCACAC UGUUGUGGUGAUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47562	fCn001RfA*SfG*SfU*SfC*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*S fC*SfG*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf *STn001RmG*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	GAGUCGGUGUUGCCGU CGGGCGAGUTGUUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47561	fAn001RfG*SfU*SfC*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*S fG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf *Sln001SmU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	AGUCGGUGUUGCCGUC GGCGAGTUIUUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47574	fAn001RfG*SfU*SfC*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*S fG*SfU*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf 001RmG*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	AGUCGGUGUUGCCGUC GGCGAGTUIUUC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47573	fGn001RfU*SfC*SfG*SfG*SfU*SfG*SfU*SfU*SfG*SfC*SfC*SfC*S fU*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf 01SmU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU*SfU	GUUCGGUGUUGCCGUCG GGCGAGTUIUUCU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47560	fUg001RfG*SfU*SfU*SfA*SfG*SfC*SfC*SfU*SfU*SfG*SfG*SfG*S fC*SfG*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf *Sln001SmC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC	UGUUGCCGUCGGCGA GUUGUUCUICCGC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47559	fAn001RfG*SfU*SfA*SfG*SfC*SfC*SfU*SfU*SfG*SfA*SfG*SfG*S fA*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*Sf *SAn001RmG*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC*SfC	AGGUAGCUGAGCGACU GUCCGAAAGUAGCCG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR

表 1H. 靶向 NRF2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
----	----	------	---------

WV- 47558	fGn001RfG*SfG*SfC*SfU*SfG*SfG*SfC*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfS fU*SfG*SfG*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	GGGUGGCGAAUUGG GAGAAATUCACCUG	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47548	fGn001RfC*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfG*SfA*SfG*SfS fA*SfA*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	GCUGAAUUGGGAGAA AUUCACCUGUCUCUU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47547	fU*001RfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfG*SfA*SfG*SfA*SfA*SfS fA*SfU*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	UGAAUUGGGAGAAAU UCACCUGUCUCUACA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47556	fGn001RfA*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfS fU*SfU*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	GAUUGGGAGAAAUU CACCUGUCUCUCAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47546	fAn001RfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfS fC*SfA*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	AUUGGGAGAAAUUCAC CUGUCUCTUCAUCU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47554	fGn001RfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfC*SfC*SfS fU*SfG*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	GGAGAAUUCACCUGU CUCUUCAUCAUAGUU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47545	fGn001RfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfS fC*SfU*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	GGGAGAAUUCACCUG UCUCUUCAUCAUAGU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47553	fAn001RfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfC*SfC*SfS fU*SfA*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	AUACUUCGACUAC UCCAAAGAUCAUUAU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47543	fCn001RfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfSf U*SfC*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	CUUCGACUACUACC AAGAUCUUAUACUU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47551	fCn001RfU*SfC*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfSf A*SfA*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	CUCGACUACUCCAAG AUCUAUAUCCUUGCC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV- 47542	fUn001RfC*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*SfG*SfA*SfA*SfU*SfU*SfSf C*SfA*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg*SfMg	UCUCGACUACUCCA GAUCUAUAUCCUUGC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR

WV-47550	*SCn001RmU*StU*SmGn001RmC fCn001RfA*SfC*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfU*SmA*SmU*SmA*SmU*SmA*SmC*ST*Sb008U*SGn001RmC*SfC*SmU*SmCn001RmC	GACUACUCCAAGAU UAUAUCTUGCCUCC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47541	fCn001RfG*SfA*SfC*SfU*SfA*SfC*SfU*SfC*SfA*SfA*SfA*SfG*SfA*SmU*SmA*SmU*SmA*SmU*SmA*SmC*ST*Sb008U*SGn001RmC*SfC*SmU*SmCn001RmC	CGACUACUCCAAGAU CUAUAUCTUGCCUCC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR

表 11. 靶向 UGP2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-48161	Mod001L001mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfA*SfC*SmUfG*StU*SfG*SfG*SfCn001RfA*SfCn001RfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SmUfA*SfU*SfC*SC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OmRSSSSSSSSSSSnRSONR SSSSSSSSSSSnROSnR
WV-48162	Mod001L001mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SfU*SmG*StU*SfGmG*SfCn001RmAfC*SfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfU*SmUfA*SfU*SmA*StU*SfC*SC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OmRSSSSSSSSSSSnROSnR OSSSnRSSSnROSnR
WV-48164	Mod001L001mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmCmU*SfG*SfU*SmG*SfGn001RmCfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfA*SmU*SmUfA*SfU*SC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OmRSSSSSSSSSSSnROSnRO SSSSSSSSSSSnROSnR
WV-47046	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmUfG*StU*SfG*SfG*SfCn001RfA*SfCn001RfC*SfA*SfG*SfA*StU*SmUfA*SfU*SfC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROmRSS SSSSSSSSSnROSnR
WV-47053	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmCmUfG*StU*SmGfGn001RmCfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfA*StU*SmUfA*SfU*SC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSOmROSnROS SSnROOSSSSSnROSnR
WV-47049	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfCmU*SfG*SfU*SmG*StU*SmCfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfA*StU*SmUfA*SfU*SfC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnROS SSnROOSSSSSnROSnR
WV-47044	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*StU*SfG*SfU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfC*SfC*SAAn001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR

WV-47043	RmU*SfG*SmUn001RmU fAn001RmU*SfC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfG*SfC*SfA*SfC*SfA*SfC*SfC*SmA*SmG*SmA*SmU*SmU*SmA*SmU*SmA*SmU*SfC*SC*SA n001RmU*SmG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-47044	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfG*SfC*SfA *SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfC*SfC*SAAn001 RmU*SfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-47045	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfG*SfC*SfA *SfC*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfC*SfC*SAAn001 RmU*SmG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSnR
WV-47046	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmUfG*SfU*SfG*SfG*SfCm001R fA*SfCfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfU*SmUfA*SfU*SfC*SC*SAAn00 1RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnRROmRSS SSOSSSSnROSnR
WV-47047	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SfUfG*SfU*SfGmG*SfCm001R mAfC*SfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfUfG*SmUfA*SmUfU*SfC*SC*SA n001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnRO SSSnRSSSSnROSnR
WV-47048	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SmCfU*SfG*SfU*SfG*SfGm001RfC*S fAfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfA*SmUfU*SfA*SfU*SfC*SC*SAAn00 1RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROmRSS SSOSSSSnROSnR
WV-47049	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfCmU*SfG*SfUfG*SfGm001RmCfA *SfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfAn001RfU*SmUfA*SfU*SfC*SC*SAAn 001RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnROS SSnRSSSSSnROSnR
WV-47050	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmUmG*SfU*SfGmG*SfCm001R mAfC*SfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfU*SmUmAfU*SC*SC*SAAn001R mUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnRO SSSSOOSSSnROSnR
WV-47051	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmUmGfU*SfG*SmGfCn001Rm AfC*SfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfUfG*SmUmAfU*SC*SC*SAAn00 1RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnRO SSSnROSSSnROSnR
WV-47052	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SfC*SmUmUfA*SfU*SfC*SC*SAAn001 RmUfG*SmUn001RmU	AUCCACUGGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	mRSSSSSSSSSSSnROSnROS SSSOOSSSnROSnR
WV-	mAn001RmU*SmC*SfC*SfA*SmCmUfG*SfU*SmGfGm001RmCfA*	AUCCACUGGGCACCC	mRSSSSSSSSSSSnROSnROS

47053	SfCn001RfCmC*SfA*SfG*SfAn001RmUmUfA*SfU*SC*SA*001RmUfG*SmUn001RmU	AGAUUAUCCAUGUU	SSnROOSSSnROSSnR
WV-44560	fUn001RfC*SfC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SmA*SmG*SmA*SmU*SmU*SmA*SmU*SfC*SA*001RmL*SmG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44561	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfC*SA*001RmU*SfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44562	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfC*SB*008U*SA*001RmU*SfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44562	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfU*SfG*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfC*SB*008U*SA*001RmU*SfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44563	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfUmG*SfU*SfG*SmG*SfC*n001RfA*SfCn001RfC*SfA*SfG*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfC*SA*001RmUfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	mRSSSSSSSSSSnR0nRSSS SSOSSSnROSSnR
WV-44564	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfUmG*SfU*SfG*SmG*SfC*n001RmAfC*SfCn001RfCmA*SfG*SfA*SfU*n001RfU*SmAfU*SfC*Sb008U*SA*001RmUfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	nRSSSSOSSOSnROSnROS SSnR0SSSnROSSnR
WV-44565	mUn001RmC*SmC*SfA*SfC*SfUmG*SfU*SfG*SmG*SfC*SfA*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfC*SB*008U*SA*001RmUfG*SmU*SmUn001RmA	UCCACUGUGGCACCCA GAUUAUCCAUGUUA	nRSSSSOSSOSSOSSSS SSOSSSnROSSnR

表 11. 靶向 ACTB 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-47054	fAn001RfC*SfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SmA*SmG*SmC*SmA*SmA*SmU*SmG*SfC*SA*n001RmL*SmC*SmA*001RmC	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-47055	mAn001RmC*SmA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfC*SfA*SfC*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfA*SfU*SfA*SfC*SB*008U*SA*001RmUfG*SmU*SmUn001RmA	ACAUAUUUACACGAA AGCAAUGCCAUCAC	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR

WV-47056	1RmU*SfC*SmAn001RmC mAn001RmC*SmA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*SfA*SfC C*SfG*SfA*SfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfC*SfA*SfC	ACAAUUUACACGAA AGCA AUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47057	1RmU*SmC*SmAn001RmC mAn001RmC*SmA*SfU*SfA*SfA*SmUfU*SfU*SfA*SfA*SfC*SfA*SfAn001 RfC*SfGfAn001RfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SmAU*SfG*SfC*SfC*SfA*n	ACAAUUUACACGAA AGCA AUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSOSSSSnROSnR
WV-47058	1RmU*SmC*SmAn001RmC mAn001RmC*SmA*SfU*SfA*SfA*SmUfU*SfU*SfAmC*SfA*n001R mCfG*SfAn001RfAmA*SfG*SfC*SfA*SmUfU*IRfA*SmUfG*SfC*SfA	ACAAUUUACACGAA AGCA AUGCCAUCAC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSnRSSSSSnROSnR
WV-44554	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC fCn001RfA*SfU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*SfA*SfC*SfG*S fA*SfA*SfA*SfC*SmA*SmA*SmA*SmA*SmG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfA*n001 RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44555	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC mCn001RmA*SmU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfC*SfA*SfC*Sf G*SfA*SfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfA*n001Rm	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44556	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC mCn001RmA*SmU*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SfA*SfC*Sf G*SfA*SfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfC*SfA*n001	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnRSSSnR
WV-44557	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC mCn001RmA*SmU*SfA*SfA*SmUfU*SfU*SfU*SfA*SfC*SfA*SmAn001RfC*S fGfAn001RfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SmAU*SfG*SfC*SfC*SfA*SmAn001Rm	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSOSSSnROSSnR
WV-44558	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC mCn001RmA*SmU*SfA*SfA*SmUfU*SfU*SfA*SmC*SfA*n001RmCfG *SfAn001RfAmA*SfG*SfC*SfA*SmUfU*IRfA*SmUfG*SfC*SfC*SfA*n001	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSnROSSSnROSSnR
WV-44559	1RmU*SmC*SmA*SmCn001RmC mCn001RmA*SmU*SfA*SfA*SmUfU*SfU*SfA*SmC*SfA*SfC*SfA*SfC*Sf A*SfA*SfA*SfG*SfC*SfA*SfA*SmUfU*SfC*SfC*SfA*SfA*n001RmUfC*Sm	CAUAUUUACACGAAA GCAAUGCCAUCACC	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSOSSSnROSSnR

表 1K. 靶向 EEEF 的示例寡核苷酸和/或组合物的碱基序列

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
----	----	------	---------

WV-47059	ICn001RmC*SfA*SfC*SfC*SfA*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfG*SfG*SfC*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SmA*SfU*SfG*SfC*SA n001RmC*SfU*SfMGr001RmU	CCAAACCAGAAAUUGGC ACAAAUGCCACUGU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47060	mCn001RmC*SmA*SfA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfU*SfMGr001RmU	CCAAACCAGAAAUUGGC ACAAAUGCCACUGU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47061	mCn001RmC*SmA*SfA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfU*SfMGr001RmU	CCAAACCAGAAAUUGGC ACAAAUGCCACUGU	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR

表 1L. 靶向 SRSF 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/链接
WV-44551	fUn001RfA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UAUCCAUUCUCUCAG AUUGUCCACAGAA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-44552	mUn001RmA*SmA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UAUCCAUUCUCUCAG AUUGUCCACAGAA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-44553	mUn001RmA*SmA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UAUCCAUUCUCUCAG AUUGUCCACAGAA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47062	fUn001RfU*SfA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UUAUCCAUCUCUUCA GAUUGUCCACAGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47063	mUn001RmU*SmA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UUAUCCAUCUCUUCA GAUUGUCCACAGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-47064	mUn001RmU*SmA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UUAUCCAUCUCUUCA GAUUGUCCACAGA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR
WV-	mUn001RmU*SmA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfU*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU*SfU*SfU*SfU*SfC*SfA*SfA*SfG*SfC*SA n001 RmC*SfA*SfMGr001RmU	UUAUCCAUCUCUUCA	nRSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnRSSSnR

48183	n001RmC*SfA*SfmGm001RmA	GAUAUGUCAACAGA	SSSSSnR5SnR
WV-48184	mUn001RmU*SmA*SfA*SfU*SfC*SfA*SfA*SfA*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfA*SfU*SfA*SfU*SfG*SfU*SfC*SfU*SfC*SfA*SfA n001RmC*SfA*SfmGm001RmA	UJAAUCCAUCUCUUA GAUAUGUCUACAGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnR5SnR
WV-48185	mUn001RmU*SmA*SfA*SfU*SfC*SfC*SfA*SfA*SfU*SfC*SfU*SfC*SfU *SfU*SfC*SfA*SfA*SfU*SfA*SfU*SfG*SfU*SfC*SfA*SfA mC*SfA*SfmGm001RmA	UJAAUCCAUCUCUUA GAUAUGUCCACAGA	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnR5SnR

表 IM. 靶向 EEF1A1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-44548	fCn001RfA*SfA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*SfG*S fG*SfC*SmA*SmA*SfC*SfA*SmA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfA RmC*SfU*SfmG*SfU*n001RmG	CAACAGAAAUUGGCA CAAUUGCCACUGUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnR5SnR
WV-44549	mCn001RmA*SmA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*Sf G*SfG*SfC*SfA*SfC*SfA*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfA C*SfU*SfU*SfmG*SfU*n001RmG	CAACAGAAAUUGGCA CAAUUGCCACUGUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnR5SnR
WV-44550	mCn001RmA*SmA*SfC*SfC*SfA*SfG*SfA*SfA*SfA*SfU*SfU*Sf G*SfG*SfC*SfA*SfC*SfA*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfC*SfA*SfA lRmC*SfU*SfmG*SfU*n001RmG	CAACAGAAAUUGGCA CAAUUGCUACUGUG	mRSSSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSSnR5SnR

表 IN. 靶向 UGP2 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/键联
WV-44002	Mod001L001fA*SfU*SfCn001RfC*SfA*SfCn001RfU*SfG*SfU*SfG* SfG*SfC*SfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA U*SfC*SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA n001RmU*SfmG*SfU*n001RmU	AUCCACUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnROS OSSSSSSSSSnR5SnR
WV-44003	Mod001L001fA*SfU*SfCn001RfC*SfA*SfCn001RfU*SfG*SfU*SfG* SfG*SfC*SfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA *SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA n001RmU*SfmG*SfU*n001RmU	AUCCACUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnROS OSSSSSSSSSnR5SnR
WV-44004	Mod001L001fA*SfU*SfCn001RfC*SfA*SfCn001RfU*SfG*SfU*SfG* SfG*SfC*SfA*SfCn001RfCmC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA *SfC*SfA*SfA*SfU*SfG*SfA*SfA*SfU*SfG*SfC*SfA*SfA n001RmU*SfmG*SfU*n001RmU	AUCCACUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnROS OSSOSSSSSSnR5SnR

WV-44005	C*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfCmC*SmAmG*SmAmU*SmUmA*SmUfC *SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnR OSOSOSSnRSSnR
WV-44006	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfC*SmC*SmA*SmGmA*SmUmU*SmA*Sm U*SFc*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnR SOSOSSSSnRSSnR
WV-44007	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfC*SmC*SmA*SmGmA*SmUmU*SmAmU *SFc*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnR SOSOSSSSnRSSnR
WV-44008	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfCmC*SmA*SmGmA*SmUmU*SmA*SmUf C*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnR SOSOSSSSnRSSnR
WV-44009	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfCmC*SmA*SmGmA*SmUmU*SmAmUfC *SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnR SOSOOSSnRSSnR
WV-44012	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfU*SFg*SFU*SFg* SFg*SFc*SFA*SFcn001RfCmCmAmGmAmUmAmU*SFc*SC*SA n001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnRSSSSSSSnRO OOOOOSSnRSSnR
WV-44060	Mod001L001FA*SFU*SFcn001RfC**SFA*SFcn001RfUfGfGfGfCfA Cn001RfCmCmAmGmAmUmAmU*SFc*SC*SAnt001RmU*SmG* SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OSSnRSSnROOOOOO0nR OOOOOSSnRSSnR
WV-43980	Mod001L001FAnt001RfU*SFc*SFc*SFA*SFc*SFU*SFg*SFg* *SFc*SFA*SFcn001RfC*SmCmAmGmAmUmAmU*SmU*SFc*SC*S Ant001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OnRSSSSSSSSSSSnR OOOSSSSnRSSnR
WV-43983	Mod001L001FAnt001RfU*SFc*SFc*SFA*SFc*SFU*SFg*SFg*SFc *SFA*SFcn001RfC*SmCn001RmA*SmGmA*SmU*SmU*SmAmU*SF C*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OnRSSSSSSSSSSSnR RSOSSSSSSnRSSnR
WV-43984	Mod001L001FAnt001RfU*SFc*SFc*SFA*SFc*SFU*SFg*SFg*SFc* fG*SmC*SmA*SFcn001RfC*SmCn001RmA*SmG*SmA*SmU*SmU *SmA*SmU*SFc*SC*SAnt001RmU*SmG*SmUm001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OnRSSSSSSSSSSSnR SSSSSSSSnRSSnR
WV-	Mod001L001FAnt001RfU*SFc*SFc*SFA*SFc*SFU*SFg*SFg*SFc* Sm	AUCCACUGUGGCACCC	OnRSSSSnRSSSSSSSSnR

43985	GfG*SmCmA*SfCn001RfC*SmCn001RmU*SmG*SmA*SmU*SmU*SmA*SmU*SfC*SAAn001RmU*SmG*SmUn001RmU	AGAUUAUCCAUGUU	RSSSSSSSnRSSnR
WV-43986	Mod001L001fAn001RfU*SfC*SfA*SfCn001RmU*SfG*SfU*SmGfG*SmCmA*SfCn001RfC*SmCn001RmU*SmG*SmAmU*SmU*S mAmU*SfC*SAAn001RmU*SmG*SmUn001RmU	AUCCACUGUGGCACCC AGAUUAUCCAUGUU	OnRSSSnRSSOSOSnRSn RSSOSSSnRSSnR

表 10. 靶向 SERPINA1 的示例寡核苷酸和/或组合物。

ID	描述	碱基序列	立体化学/链接
WV-47595	L001mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUn001R mCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*SB008U*Slm0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	OnRSSSSOSSOSnROSnRO SSSSOOSSSnSOSSnR
WV-44176	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Scsm15*Im001Sm U*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSXnSSSSnR
WV-44177	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfA *SfG*SfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SB008U*Slm001S mU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSSSSSSSS SSSSnSSSSnR
WV-44180	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*Sf SFA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SB008U*Slm00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSOSSSnROSnRSS SSSSSSSnSOSSnR
WV-44211	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*Sf SFA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*Scsm15*1 n001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSnRSSnRSS SSSSSSXnSSSSnR
WV-44212	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfC*SfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*Sf SFA*SfGn001RfU*SfC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SB008U*S In001SmU*SfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSSSSSSnRSSnRSS SSSSSSSnSSSSnR
WV-43144	mU*FA*mAmGmGfGmAmGmGmAmAmUfAmUfAmGmAmGm	UAAGGGAGGAAAUAU AGAGGGUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOXX
WV-44192	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SfG*SfC*SfU*SfU*SfU*Sf SFAfGn001RfU*SfCmC*SfC*SfU*SfU*SfU*SfC*SfU*SB008U*Slm001 SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGAU	mRSSSSOSSSnROSnRO SSSSSSSnSOSSnR

WV-44193	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SIG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAIFGn001RfU*SiC*SiC*SiU*SmUfU*SiC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSS SSOSSSnSOSSnR
WV-44194	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SIG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAIFGn001RfU*SiCmC*SiC*SiU*SmUfU*SiC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSO SSOSSSnSOSSnR
WV-44195	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SIG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAIFGn001RfU*SiCmC*SiC*SiU*n001RmUfU*SiC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSO SSnROSSSnSOSSnR
WV-44196	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiCfA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAIFGn001RfU*SiC*SiC*SiU*n001RfUfU*SiC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSO SSnROSSSnSOSSnR
WV-44197	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiCfA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAIFG*SiU*SiC*SiU*n001RfUfU*SiC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOSSOSS mROSSSnSOSSnR
WV-44228	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiCfA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfSfAn001RfG*SiU*SiC*SiC*n001RfUfU*n001RfU*SiC*SiU*Sb001A*Slm001SmU*SiC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOSSOSS mOmRSSSnSOSSnR
WV-44229	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiC*SiC*SiA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfA*SiGn001RfU*SiC*SiC*n001RfUfU*n001RfU*SiC*SiU*Sb001A*Slm001SmU*SiC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnRSOSSOSS mOmRSSSnSOSSnR
WV-44220	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiC*SiC*SiA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfAn001RfG*SiU*SiC*SiC*SiC*SiU*SiU*SiU*SiC*SiU*Sb001A*Slm001SmU*SiC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSRSSSnRSnRSSR SSSSSnSOSSnR
WV-44221	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiC*SiC*SiA*SiG*SiC*SiU*SiU*n001RfC*SfA*SiGn001RfU*SiC*SiC*SiU*SiU*SiU*SiC*SiU*Sb001A*Slm001SmU*SiC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSRSSSnRSnRSSS SSSSSnSOSSnR
WV-44478	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiCmA*SiG*SiCmU*SiU*n001RmCfA*SiGn001RfUmC*SiC*SiC*SiU*n001RfU*SmUfC*SiC*SiU*Sb001A*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTAUCGUAU	mRSSSSOSSSnROSnROS SSnROSSSnSOSSnR
WV-44476	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SiCmA*SiG*SiCmU*SiU*n001RmCfA*SiGn001RfUmC*SiC*SiC*SiU*n001RfU*SmUfC*SiU*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	mRSSSSOSSSnROSnROS SSnROSSSnSOSSnR

WV-44479	01SmUfC*SmG*SmAn001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*SIn00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44477	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RfU*SmUfC*SfU*SfCsm15*SIn 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44480	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RfU*SmUfC*ST*SfCsm15*SIn0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44481	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUIn001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*SIn 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44483	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUIn001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44486	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmU*SfUIn001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOOSSSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44488	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmUfUIn001RmCfA*Sf Gn001RfUmC*SfC*SfC*SfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001Sm UfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOOSSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44489	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SmC*SfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOOSSnROSnROS SSnROOSSSnSOSSnR
WV-44490	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA* SfGn001RfUmC*SfC*SmCfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOOSSnROSnROS SOmROOSSSnSOSSnR
WV-44491	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmU*SfUIn001RmCfA* SfGn001RfUmCfC*SmCfUIn001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmU fC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOOSSnROSnROO SOmROOSSSnSOSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmUfUIn001RmCfA*Sf UfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC	mRSSSSOOSSnROSnROO

44492	Gn001RfUmCfC*SmCfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCTUJUCGAU	OSOnROOSSSnSOSSnR
WV-44493	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfCmUfUn001RmCfAfGn001RfUmCfC*SmCfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*S mG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	nRSSSSOOSOOnROOnRO OSOnROOSSSnSOSSnR
WV-44494	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA mGfCmUfUn001RmCfAmGn001RfUmCfC*SmCfUn001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*Sm G*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	nRSSSSOOSOOnROOnRO OSOnROOSSSnSOSSnR
WV-44495	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SmCmU*SfUn001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	nRSSSSOOSOOnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44496	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm 001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	nRSSSSOOSOOnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44497	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCm AfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	nRSSSSOOSOOnROOnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44498	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44499	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44500	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SmCfC*SfC*SfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROS OSnRSOSSSnSOSSnR
WV-44501	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SmCfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm00 1SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROS SOmRSOSSSnSOSSnR
WV-44502	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*A*SfG*SfCmU*SfUn001RmCfA *SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SmUfUn001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm0 01SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSSOOSOOnROSnROS SSnRSOSSSnSOSSnR

WV-44503	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SIG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SfU*SmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnROSnROSnRSSnROOSSSnSOSSnR
WV-44505	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SIG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfU*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSSSOSSSnSOSSnR
WV-44506	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfU*SfC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSSSSOSSSnSOSSnR
WV-44507	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfUmCmC*SfC*SfU*SmUmU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmROOSSOSSSnSOSSnR
WV-44508	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfUmCmCfC*SfU*SmUmU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmROOSSOSSSnSOSSnR
WV-44509	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SmUm001RfC*SfAfGm001RfU*SmCmCfC*SfU*SmUmU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSOSSOSSSnSOSSnR
WV-44510	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCfA*SIG*SmCmUfU*n001RmCfAfGm001RmUmCfC*SfC*SmUmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnROOmROOSSOSSSnSOSSnR
WV-44511	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmU*SmUm001RfC*SfAfAmGm001RmUfC*SfC*SmCmUmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSOSSOSSSnSOSSnR
WV-44512	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfUmCmCfC*SfU*SmUmU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmROOSSOSSSnSOSSnR
WV-44513	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SfU*SfUm001RfC*SfAfGm001RfU*SfCmCmUmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnRSOmRSOSSOSSSnSOSSnR
WV-44514	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SIG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SfU*SmUfU*SfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSSnROSnROSnRSSSSOSSSnSOSSnR

	mUfC*SmG*SmAn001RmU			
WV-44515	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*StU001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-46416	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmU*SmUn001RmCmA*SmGn001RmUmC*SmC*SmU*SmUmUmC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR
WV-46417	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR
WV-46418	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR
WV-46419	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SmCfC*SfU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS OSnROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS OSnROOSSSsnSOSSnR
WV-46420	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmC*SmCfC*SfU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS OSnROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS OSnROOSSSsnSOSSnR
WV-46421	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmC*SfC*SfC*SfU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSnROOSSSsnSOSSnR
WV-46422	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmC*SmCmU001RfU*SmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR
WV-46423	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmC*SmCmU001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR
WV-46424	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SfCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmCfA*SfGn001RmUmC*SmCmU001RmUmUfC*ST*Sb008U*Slm001SmUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS OOmROOSSSsnSOSSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmU*SmUn001RmC	CCCAGCAGCUUCAGUC	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR	nRSSSSOSSOSnROS SSSOOSSnSOSSnR

46425	EA*SfGm001RmUmC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCUUUCTUJUCGAU	OOmROOSSSnSOSSmR
WV-46426	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS SOmROOSSSnSOSSmR
WV-46427	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS OOmROOSSSnSOSSmR
WV-46428	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS SOmROOSSSnSOSSmR
WV-46429	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUmUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS SOmROOSSSnSOSSmR
WV-46430	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS OOmROOSSSnSOSSmR
WV-46431	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS OOmROOSSSnSOSSmR
WV-46432	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUmUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS SOmROOSSSnSOSSmR
WV-46433	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS SOmROOSSSnSOSSmR
WV-46434	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUmUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS OOmROOSSSnSOSSmR
WV-46435	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmUfUm001RmCfA*SfGm001RfUmC*SfC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUJUCGAU	mRSSSOOSSOmROSnROS OOmROOSSSnSOSSmR

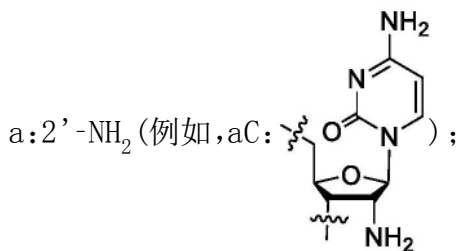
WV-46436	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SmCmUmUm001RmCfA*SfGn001RmUmC*SmCmUm001RmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUA	mRSSSSOSSOOnROSnROS OOOnROSSSSnSOSsSnR
WV-46437	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46438	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAeon001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46439	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SGeo*SAeon001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46440	m5Ceon001Rm5Ceo*SfA*SfG*SfC*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46441	m5Ceon001Rm5Ceo*SfA*SfG*SfC*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SAeon001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46442	m5Ceon001Rm5Ceo*SfA*SfG*SfC*SmCmA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SGeo*SAeon001RTeo	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAT	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46443	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUA	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46444	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmC*Aeo*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUA	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46445	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUCAGUC CCUUUCTUUCGUA	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR
WV-46446	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001Rm5CeofA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*Sln001	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGUA	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSSnSOSsSnR

WV-46447	SmUfC*SmG*SmAnt001RmU mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUm5Ceo*SfC*SfU*SfU*SmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001 1SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46448	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUTUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46449	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46450	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S TeofC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46451	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S mUm5Ceo*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46452	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 CEA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46453	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 CEA*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUUCAGUC CCUTTCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-46458	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCaeofG*SfC*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S mUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSnSOSnR
WV-46459	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*Sm5CeomA*SfG*SfC*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001 01SmUfC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCTUUCAGUC CCUTTCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSnROOSSnSOSnR
WV-46463	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf A*SfGn001RfUmC*SfC*SfU*SfU*STeomUfC*ST*Sb008U*SIn001S Usm15fC*SmG*SmAnt001RmU	CCCAGCAGCUUCAGUC CCUUUCTUUCGAU	mRSSSSOSSOSnROSnROS SSSOOSSnSOSnR
WV-	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmA*SfG*SfCmU*SfUm001RmCf	CCCAGCAGCUUCAGUC	mRSSSSOSSOSnROSnROS

46464	A*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU*SfUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SrUfC*SmG*SmAn001RmU	CCUUUCUUCGUAU	SSSOOSSSnSOSnR
WV-46465	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SUsm15fC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSOOSSOmROSnROS SSnROOSSSnSOSnR
WV-46466	mCn001RmC*SmC*SfA*SfG*SmCmAfG*SfC*SmUfUn001RmCfA*SfGn001RfUmC*SfC*SfC*SfU001RmUmUfC*ST*Sb008U*SIn001SrUfC*SmG*SmAn001RmU	CCCAGCAGCUCAGUC CCUUUCUUCGUAU	nRSSSOOSSOmROSnROS SSnROOSSSnSOSnR
WV-48444	mG*mAfAfGfCfUfGfCfUfGmG*mG	GAAGCUCUGGG	XO00000000X
WV-48445	mG*mAmAmGmCmUmGmCmUmGmG*mG	GAAGCUCUGGG	XO00000000X
WV-48446	mG*mArArGrCrUrGrCrUrGmG*mG	GAAGCUCUGGG	XO00000000X
WV-48447	mC*mUfGfAfAfGfCfUfGfCfUfGmG*mG	CUGAAGCUCUGGG	XO0000000000X
WV-48448	mC*mUmGmAmAmGmCmUmGmCmUmGmG*mG	CUGAAGCUCUGGG	XO0000000000X
WV-48449	mC*mUrGrArGrCrUrGrCrUrGmG*mG	CUGAAGCUCUGGG	XO0000000000X
WV-48450	mG*mAfCfUfGfAfAfGfCfUfGfCfUfGmG*mG	GACUGAAGCUCUGGG	XO000000000000X
WV-48451	mG*mAmCmUmGmAmAmGmCmUmGmCmUmGmG*mG	GACUGAAGCUCUGGG	XO000000000000X
WV-48452	mG*mArCrUrGrArGrCrUrGrCrUrGmG*mG	GACUGAAGCUCUGGG	XO000000000000X

注意事项:

表1(例如,表1A、表1B、表1C等)中的描述、碱基序列和立体化学/键联因其长度而可能分为多行。除非另有说明,否则表1中的所有寡核苷酸均为单链的。如本领域技术人员所理解的,除非另外指明(例如,用r、m、m5、eo等),否则核苷单元是未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。如果未指定糖,则糖是天然DNA糖;并且如果未指定核苷酸间键联,则核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。烷基部分和修饰:



m: 2'-OMe;

m5: C的5位处的甲基(核碱基是5-甲基胞嘧啶);

m5lC: C的5位处的甲基(核碱基是5-甲基胞嘧啶)并且糖是LNA糖;

l: LNA糖;

I: 核碱基是次黄嘌呤;

f: 2'-F;

r: 2'-OH;

eo: 2'-MOE (2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>);

m5Ceo: 5-甲基2'-O-甲氧基乙基C;

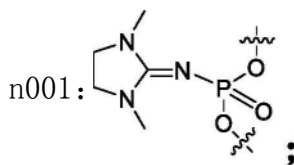
O、PO: 磷酸二酯(磷酸酯)。其可以是键联或是末端基团(或其组分), 例如接头与寡核苷酸链之间的键联、核苷酸间键联(天然磷酸酯键联)等。磷酸二酯通常在立体化学/键联列中以“O”指示而通常不在描述列中标记(如果它是末端基团, 例如5'末端基团, 则其在描述中指示而通常不在立体化学/键联列中指示); 如果在描述列中未指示键联, 则除非另外指明, 否则其通常是磷酸二酯。注意, 接头(例如, L001)与寡核苷酸链之间的磷酸酯键联可以不在描述列中标记, 但可以在立体化学/键联列中用“O”指示;

\*、PS: 硫代磷酸酯。它可以是末端基团(如果它是末端基团, 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, 描述中的\*R表示呈Rp构型的单个硫代磷酸酯键联;

S、Sp: 呈Sp构象的硫代磷酸酯。注意, 描述中的\*S表示呈Sp构型的单个硫代磷酸酯键联;

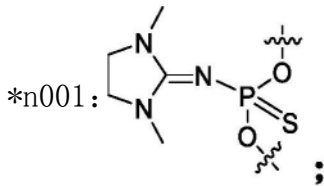
X: 立体随机硫代磷酸酯;



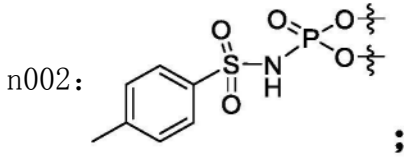
nX(使用时或n001): 立体随机n001;

nR(使用时或n001)或n001R: 呈Rp构型的n001;

nS(使用时或n001)或n001S: 呈Sp构型的n001;



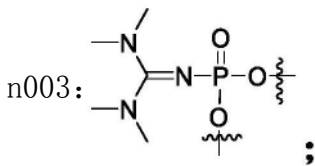
n\*X: 立体随机\*n001;



nX(用于n002时): 立体随机n002;

nR(用于n002时)或n002R: 呈Rp构型的n002;

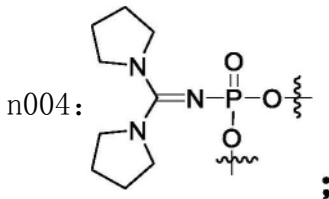
nS(用于n002时)或n002S: 呈Sp构型的n002;



nX(用于n003时): 立体随机n003;

nR(用于n003时)或n003R: 呈Rp构型的n003;

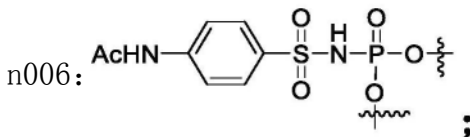
nS(用于n003时)或n003S: 呈Sp构型的n003;



nX(用于n004时): 立体随机n004;

nR(用于n004时)或n004R: 呈Rp构型的n004;

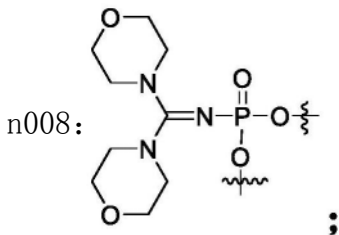
nS(用于n004时)或n004S: 呈Sp构型的n004;



nX(用于n006时): 立体随机n006;

nR(用于n006时)或n006R: 呈Rp构型的n006;

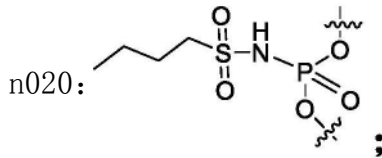
nS(用于n006时)或n006S: 呈Sp构型的n006;



nX(用于n008时): 立体随机n008;

nR(用于n008时)或n008R:呈Rp构型的n008;

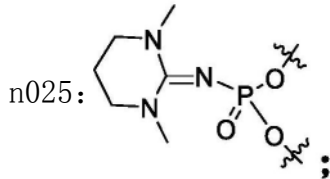
nS(用于n008时)或n008S:呈Sp构型的n008;



nX(用于n020时):立体随机n020;

nR(用于n020时)或n020R:呈Rp构型的n020;

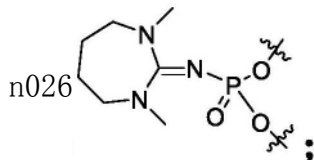
nS(用于n020时)或n020S:呈Sp构型的n020;



nX(使用时或n025):立体随机n025;

nR(使用时或n025)或n025R:呈Rp构型的n025;

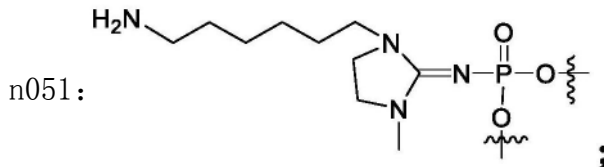
nS(使用时或n025)或n025S:呈Sp构型的n025;



nX(使用时或n026):立体随机n026;

nR(使用时或n026)或n026R:呈Rp构型的n026;

nS(使用时或n026)或n026S:呈Sp构型的n026;

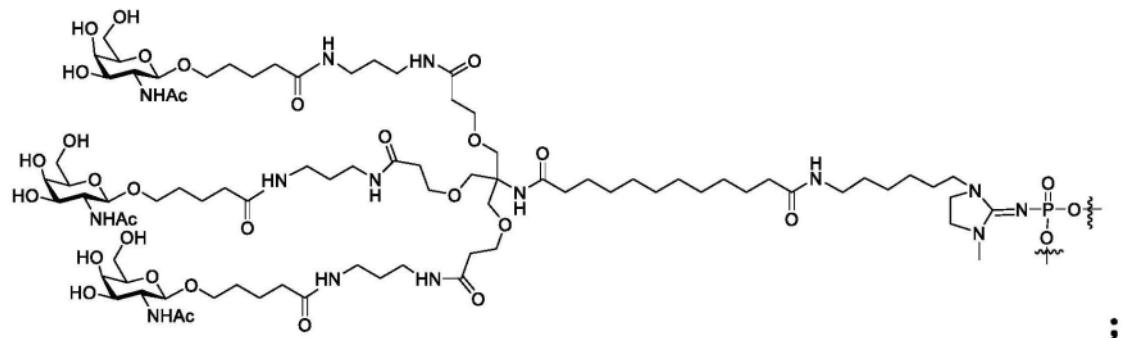


nX(用于n051时):立体随机n051;

nR(用于n051时)或n051R:呈Rp构型的n051;

nS(用于n051时)或n051S:呈Sp构型的n051;

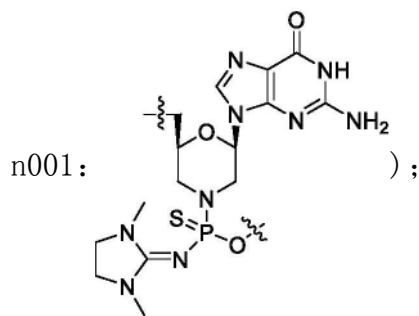
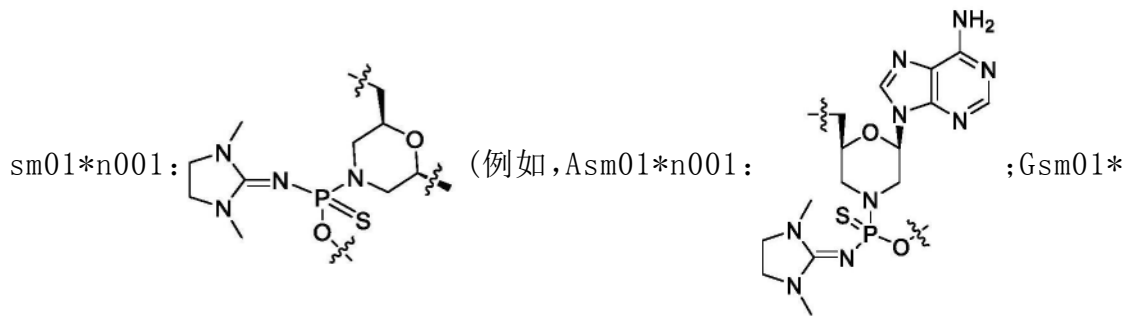
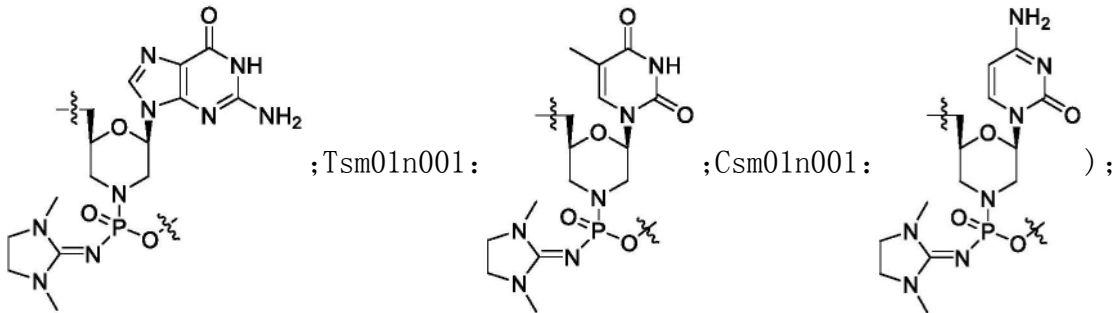
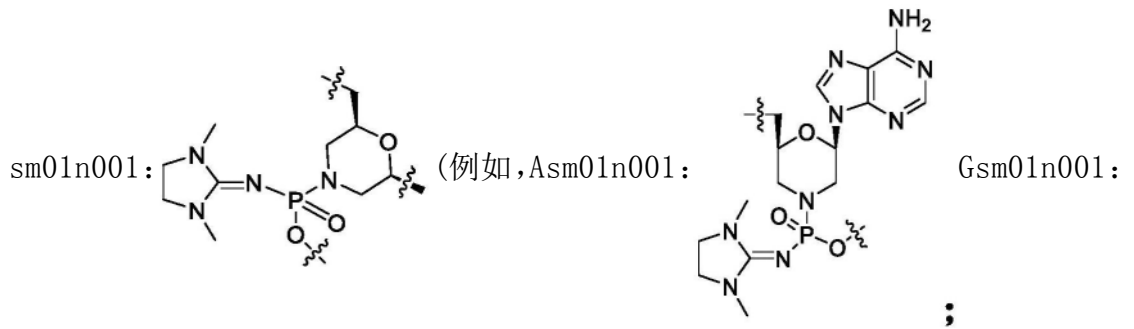
n057:

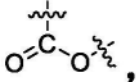


nX(用于n057时):立体随机n057;

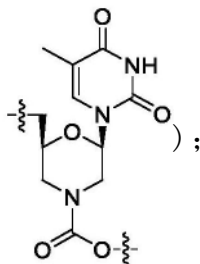
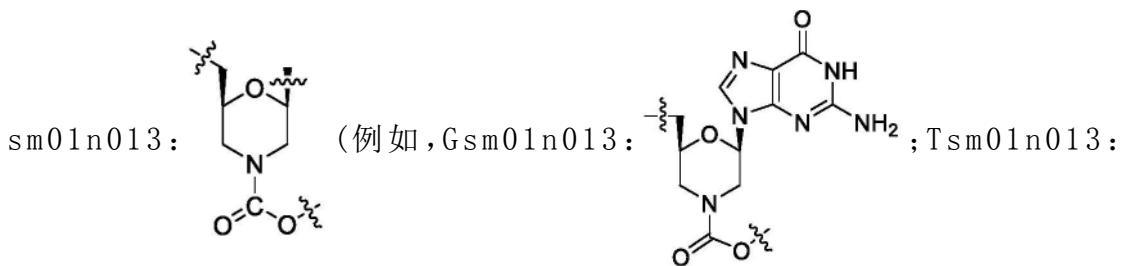
nR(用于n057时)或n057R:呈Rp构型的n057;

nS(用于n057时)或n057S:呈Sp构型的n057;

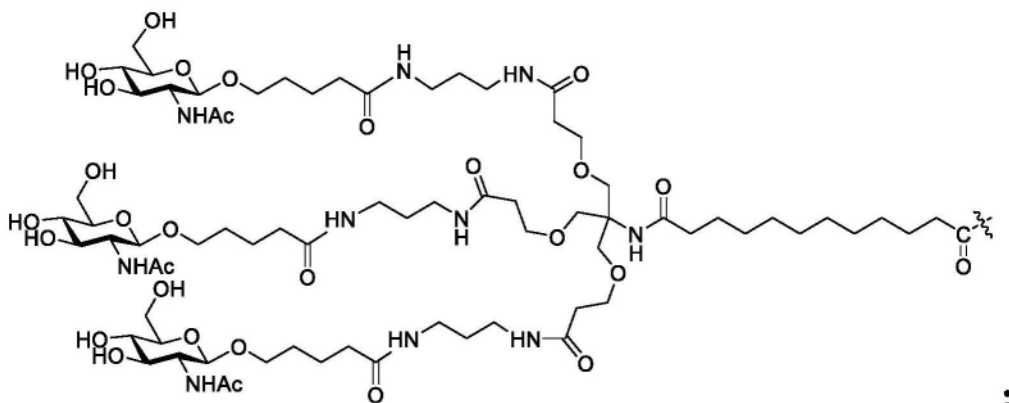


n013:n013:  其中-C(O)-与氮键合;如表中所用,n013在立体化学/键联中


可表示为0;



Mod001:



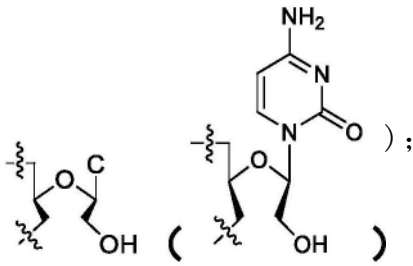
L001: -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>-接头(C6接头、C6胺接头或C6氨基接头),其通过-NH-连接到Mod(例如,Mod001),并且在例如WV-27457的情况下,通过磷酸酯键联(O或PO)连接到寡核苷酸链的5'末端。例如,在WV-27457中,L001通过-NH-(形成酰胺基团-C(O)-NH-)连接到Mod001,并且通过磷酸酯键联(O)连接到寡核苷酸链;

L010:  在一些实施例中,当L010存在于寡核苷酸的中间时,其作为其他糖

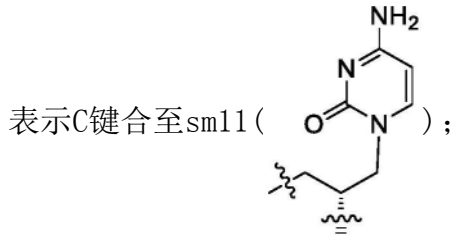
(例如,DNA糖)与核苷酸间键联键合,例如,其5'-碳与另一单元(例如,糖的3')连接,并且其3'-碳独立地与另一单元(例如,碳的5'-碳)连接,例如,经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性受控的或是手性受控的(Sp或Rp))) ;

L012: -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-。当L012存在于寡核苷酸的中间时,其两个末端中的每一个独立地与核苷酸间键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性受控的或是手性受控的(Sp或Rp)))键合;

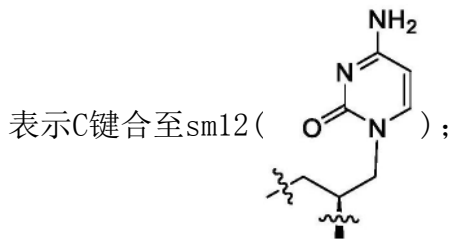




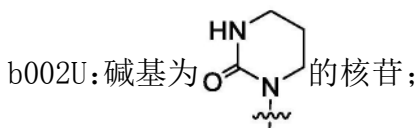
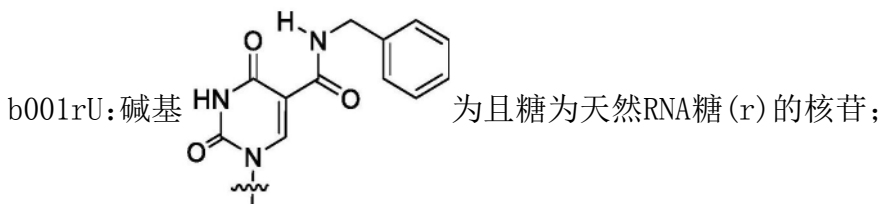
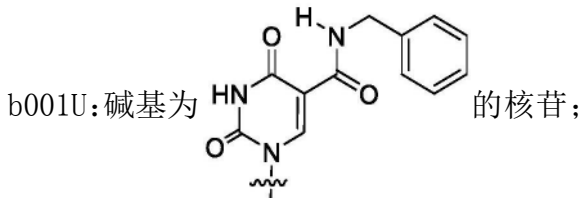
sm11: 。sm11跟随它所键合的核碱基之后；例如，在WV-47403中，“Csm11”

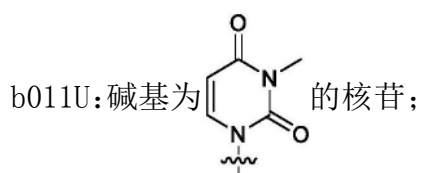
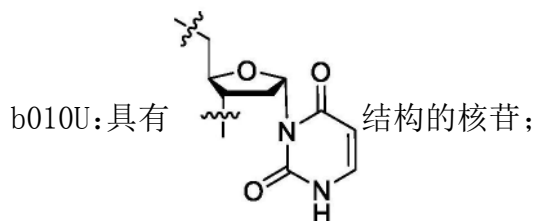
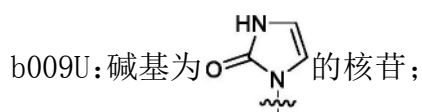
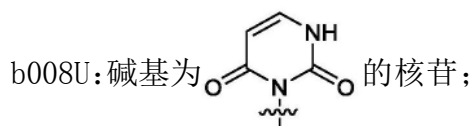
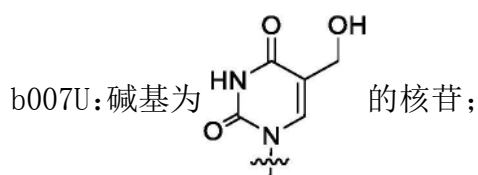
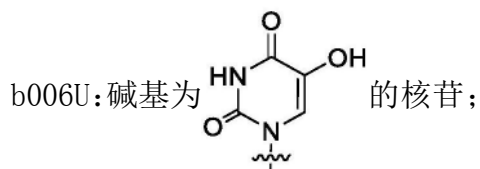
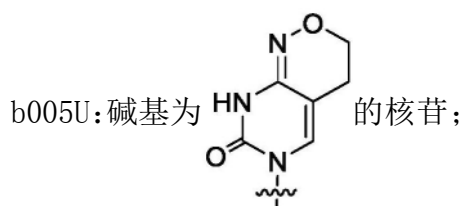
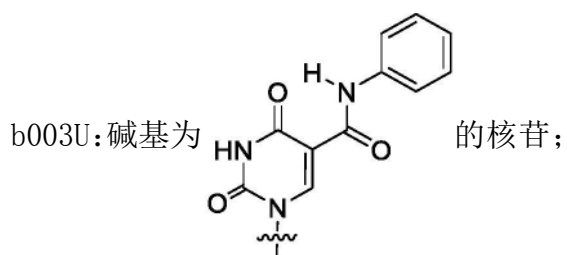


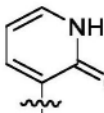
sm12: 。sm12跟随它所键合的核碱基之后；例如，在WV-47402中，“Csm12”

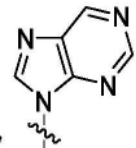


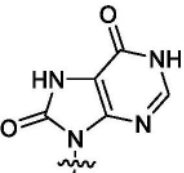
a: 2'-NH<sub>2</sub>；

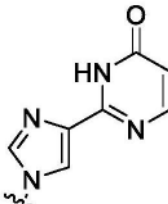


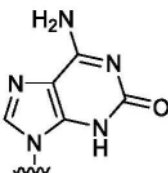


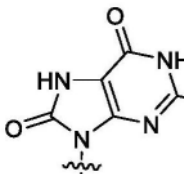
b012U: 碱基为  的核苷;

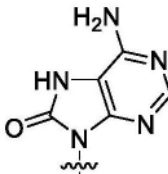
b003I: 碱基为  的核苷;

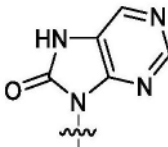
b004I: 碱基为  的核苷;

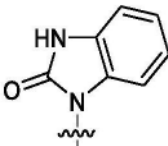
b014I: 碱基为  的核苷;

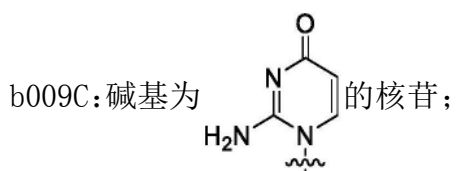
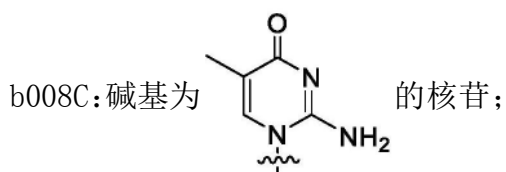
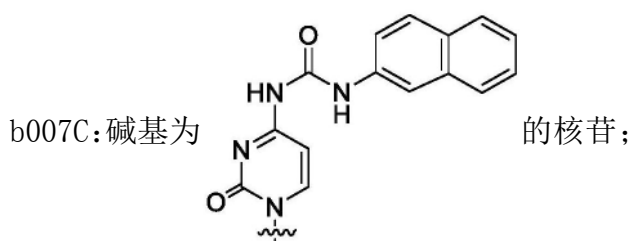
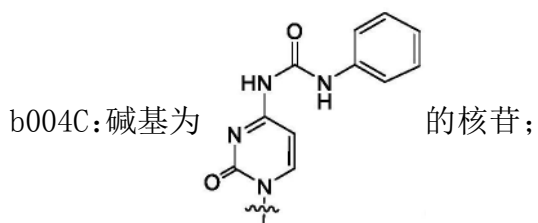
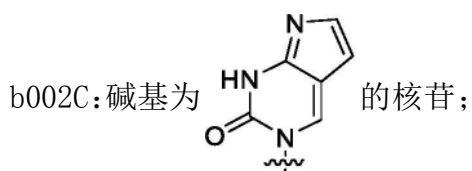
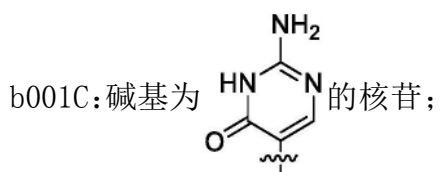
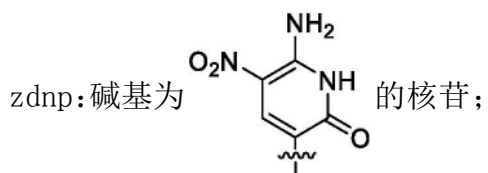
b001G: 碱基为  的核苷;

b002G: 碱基为  的核苷;

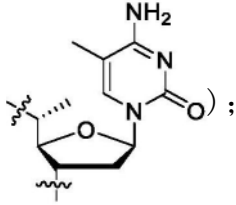
b001A: 碱基为  的核苷;

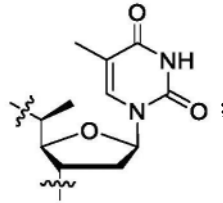
b002A: 碱基为  的核苷;

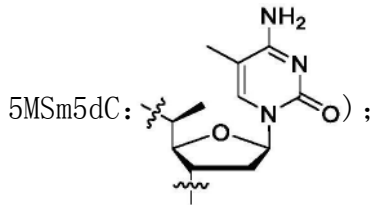
b003A: 碱基为  的核苷;



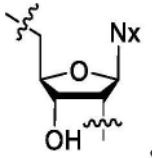
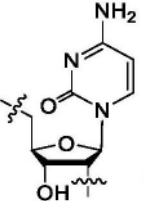
5MR: 糖的5'-Me修饰, 糖的5'-碳构型为R (例如, 5MRdT: ; 5MRm5dC:

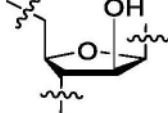


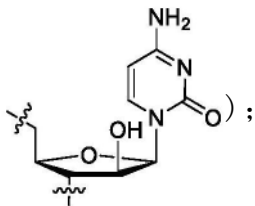
5MS: 糖的5'-Me修饰, 糖的5'-碳的构型为S (例如, 5MSdT: ;

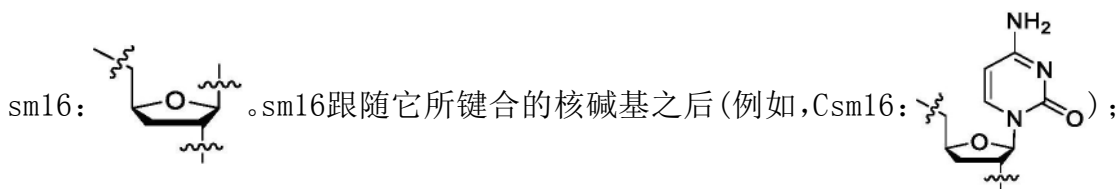


rNxsm13:  , 其中Nx是核碱基 (例如, rCsm13:  );

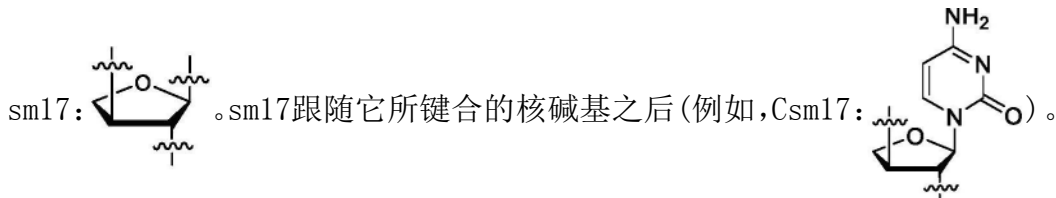
rNxsm14:  , 其中Nx是核碱基 (例如, rCsm14:  );

sm15:  。sm15跟随它所键合的核碱基之后 (例如, Csm15:





以及



在一些实施例中,糖通过氧原子键合至核苷酸间键联,例如天然磷酸酯键中的氧原子,例如典型的天然DNA分子中的氧原子。在一些实施例中,糖通过不是氧的原子键合至核苷酸间键联。在一些实施例中,糖通过糖的氮原子键合至核苷酸间键联。在一些实施例中,糖通过糖的环氮原子键合至核苷酸间键联(例如,在sm01中);在这种情况下,糖的环氮原子可以直接与键联磷原子形成键(例如,参见sm01n001),并且本领域技术人员将理解可以从键联移除氧原子(例如,参见sm01n001)。例如,另见sm18,如表中的寡核苷酸所示,它可以通过氮原子直接与键联磷键合(例如,sm18n001)。实例或W0 2021/071858(将其通过引用并入本文)中描述了某些试剂(例如,亚磷酰胺、核苷等)和使用各种修饰的方法,例如本文中列举的那些修饰,例如经修饰的糖、经修饰的核碱基等。

#### 寡核苷酸组合物

[0635] 尤其是,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了本文所述的寡核苷酸的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含本披露中所述的多个寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸组合物不是手性受控的(立体随机的)。

[0636] 天然磷酸酯键联的键联磷是非手性的。许多修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷是手性的。在一些实施例中,在寡核苷酸组合物的制备期间(例如,在传统的亚磷酰胺寡核苷酸合成中),不有意地设计或控制手性键联磷的构型,从而产生非手性控制(立体随机)的寡核苷酸组合物(基本上是非消旋制备物),其是各种立体异构体的复杂的随机的混合物(非对映异构体)-对于具有n个手性核苷酸间键联(键联磷是手性的)的寡核苷酸,通常是 $2^n$ 个立体异构体(例如,当n是10时, $2^{10}=1,032$ ;当n是20时, $2^{20}=1,048,576$ )。这些立体异构体具有相同的构成,但是其键联磷的立体化学模式不同。

[0637] 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。

[0638] 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,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/键联中包含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,

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,寡核苷酸共享相同的骨架手性中心模式(键联磷的立体化学)。在一些实施例中,骨架手性中心模式如本披露中所述。在一些实施例中,多个寡核苷酸是结构相同的。

[0639] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同碱基序列,和

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

[0640] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同碱基序列,和

2) 独立地在一个或多个(例如,约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联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碱基序列的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0641] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)手性核苷酸间键联(手性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中的寡核苷酸。

[0642] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

共同骨架手性中心模式,该模式包含至少一个Sp,

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

[0643] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列，  
共同骨架键联模式，以及  
共同骨架手性中心模式，该模式包含至少一个Rp，

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

[0644] 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，该组合物包含多个寡核苷酸，其中这些寡核苷酸共享：

1) 共同构成，以及

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

其中相对于具有共同构成的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物，该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0645] 在一些实施例中，本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物，其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享：

1) 共同碱基序列，和

2) 独立地在在一个或多个(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”)；

其中每个手性受控的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100%(例如，85-100%、90-100%，约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)。

[0646] 在一些实施例中，寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物，该组合物包含多个寡核苷酸，其中这些寡核苷酸共享：

共同碱基序列，  
共同骨架键联模式，以及

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

其中每个手性受控的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100%(例如，85-100%、90-100%，约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)。

[0647] 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，该组合物包含多个寡核苷酸，其中这些寡核苷酸共享：

1) 共同构成，以及

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

其中每个手性受控的核苷酸间键联的键联磷的立体化学纯度独立地是80%-100% (例如,85-100%、90-100%,约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%)。

[0648] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享:

1) 共同碱基序列,和

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

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0649] 在一些实施例中,本披露提供了包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列,和

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

其中每种多个寡核苷酸的共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0650] 在一些实施例中,本披露提供了组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,这些寡核苷酸具有特定的寡核苷酸类型,其特征在于:

a) 共同碱基序列;

b) 共同骨架键联模式;

c) 共同骨架手性中心模式;

d) 共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性受控的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸;以及

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

[0651] 在一些实施例中,如本文所述,一部分可以为约或至少约10-40、15-40、20-40,例如10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个核碱基长。在一些实施例中,一部分为核酸的约或至少约或不超过约1%-50%。在一些实施例中,一部分为核酸的全长。在一些实施例中,共同碱基序列与如本文所述的核酸的一部分的碱基序列互补。在一些实施例中,除了在与靶腺苷相对的核碱基处,它在整个长度上是完全互补的。在一些实施例中,它在整个长度上是完全互补的。在一些实施例中,靶腺苷与病症、障碍或疾病有关。在一些实施例中,靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。在一些实施例中,通过所提供的寡核苷酸或组合物将靶腺苷编辑成I。在一些实施例中,如本文

所述,编辑增加转录物或其产物(例如,mRNA、蛋白等)的表达、水平和/或活性。在一些实施例中,如本文所述,编辑降低转录物或其产物(例如,mRNA、蛋白等)的表达、水平和/或活性。

[0652] 在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核碱基修饰和/或糖修饰。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核苷酸间键联修饰(其中核苷酸间键联可以呈多种酸、碱和/或盐形式)。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的核碱基修饰、糖修饰和核苷酸间键联修饰(如果有的话)。在一些实施例中,多个寡核苷酸具有相同的形式,例如酸形式、碱形式或特定盐形式(例如,药学上可接受的盐形式,例如盐形式)。在一些实施例中,组合物中的寡核苷酸可以以一种或多种形式存在,例如酸形式、碱形式和/或一种或多种盐形式。在一些实施例中,在水溶液中(例如,当溶解于如PBS的缓冲液中时),阴离子和阳离子可以解离。在一些实施例中,多个寡核苷酸具有相同的构成。在一些实施例中,多个寡核苷酸在结构上是相同的。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中这些寡核苷酸具有共同构成,并且在一个或多个(例如,1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60个或更多个)手性核苷酸间键联(手性受控的核苷酸间键联)处共享相同的键联磷立体化学,其中该组合物相对于具有共同构成的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

[0653] 在一些实施例中,至少一个手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,至少2个核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联的数目为至少3。在一些实施例中,它是至少4。在一些实施例中,它是至少5。在一些实施例中,它是至少6。在一些实施例中,它是至少7。在一些实施例中,它是至少8。在一些实施例中,它是至少9。在一些实施例中,它是至少10。在一些实施例中,它是至少11。在一些实施例中,它是至少12。在一些实施例中,它是至少13。在一些实施例中,它是至少14。在一些实施例中,它是至少15。在一些实施例中,它是至少20。在一些实施例中,它是至少25。在一些实施例中,它是至少30。

[0654] 在一些实施例中,所有核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受

控的。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少5%-100%(例如,约10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)是手性受控的。在一些实施例中,百分比是至少50%。在一些实施例中,百分比为至少60%。在一些实施例中,百分比为至少70%。在一些实施例中,百分比为至少80%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。

[0655] 在一些实施例中,不超过1-10个,例如不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,不超过1个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,不超过2个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,不超过3个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,不超过4个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,不超过5个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,非手性受控的核苷酸间键联的数目为1。在一些实施例中,它是2。在一些实施例中,它是3。在一些实施例中,它是4。在一些实施例中,它是5。

[0656] 在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的组合物,其中多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐。在一些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的组合物,其中多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,这样的组合物相对于特定寡核苷酸的基本上外消旋的制备物是富集的。如本领域技术人员所理解的,多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同序列,该共同序列是特定寡核苷酸的碱基序列。在一些实施例中,组合物中共享特定寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,组合物中共享特定寡核苷酸或其盐的所有寡核苷酸的构成的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-

60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,百分比是至少10%。在一些实施例中,百分比是至少20%。在一些实施例中,百分比是至少30%。在一些实施例中,百分比是至少40%。在一些实施例中,百分比是至少50%。在一些实施例中,它是至少60%。在一些实施例中,它是至少70%。在一些实施例中,它是至少80%。在一些实施例中,它是至少90%。在一些实施例中,它是至少95%。在一些实施例中,它是约5%-100%。在一些实施例中,它是约10%-100%。在一些实施例中,它是约20%-100%。在一些实施例中,它是约30%-90%。在一些实施例中,它是约30%-80%。在一些实施例中,它是约30%-70%。在一些实施例中,它是约40%-90%。在一些实施例中,它是约40%-80%。在一些实施例中,它是约40%-70%。在一些实施例中,特定寡核苷酸是本文例示的寡核苷酸,例如表1或另一表的寡核苷酸。

[0657] 在一些实施例中,相对于基本上外消旋的制备物的富集是组合物中所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%,或组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸,或组合物中共享多个寡核苷酸的所有寡核苷酸是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,百分比是至少10%。在一些实施例中,百分比是至少20%。在一些实施例中,百分比是至少30%。在一些实施例中,百分比是至少40%。在一些实施例中,百分比是至少50%。在一些实施例中,它是至少60%。在一些实施例中,它是至少70%。在一些实施例中,它是至少80%。在一些实施例中,它是至少90%。在一些实施例中,它是至少95%。在一些实施例中,它是约5%-100%。在一些实施例中,它是约10%-100%。在一些实施例中,它是约20%-100%。在一些实施例中,它是约30%-90%。在一些实施例中,它是约30%-80%。在一些实施例中,它是约30%-70%。在一些实施例中,它是约40%-90%。在一些实施例中,它是约40%-80%。在一些实施例中,它是约40%-70%。

[0658] 在一些实施例中,组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,百分比是至少10%。在一些实施例中,百分比是至少20%。在一些实施例中,百分比

是至少30%。在一些实施例中,百分比是至少40%。在一些实施例中,百分比是至少50%。在一些实施例中,它是至少60%。在一些实施例中,它是至少70%。在一些实施例中,它是至少80%。在一些实施例中,它是至少90%。在一些实施例中,它是至少95%。在一些实施例中,它是约5%-100%。在一些实施例中,它是约10%-100%。在一些实施例中,它是约20%-100%。在一些实施例中,它是约30%-90%。在一些实施例中,它是约30%-80%。在一些实施例中,它是约30%-70%。在一些实施例中,它是约40%-90%。在一些实施例中,它是约40%-80%。在一些实施例中,它是约40%-70%。

[0659] 对手性受控的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸的水平进行控制。相比之下,在非手性受控的(或立体随机的、外消旋的)寡核苷酸组合物(或制备物)中,寡核苷酸的水平是随机的且不进行控制的。在一些实施例中,相对于基本上外消旋的制备物的富集是本文描述的水平。

[0660] 在一些实施例中,百分比水平(例如,控制水平、预定水平、富集)为或至少为(DS)<sup>nc</sup>,其中DS(各个核苷酸间键联的非对映纯度)为90%-100%,并且nc为如本披露所述的手性受控的核苷酸间键联的数目(例如,5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)。在一些实施例中,每个手性核苷酸间键联是手性受控的,并且nc为手性核苷酸间键联的数目。在一些实施例中,DS为90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更大。在一些实施例中,DS为或至少为90%。在一些实施例中,DS为或至少为91%。在一些实施例中,DS为或至少为92%。在一些实施例中,DS为或至少为93%。在一些实施例中,DS为或至少为94%。在一些实施例中,DS为或至少为95%。在一些实施例中,DS为或至少为96%。在一些实施例中,DS为或至少为97%。在一些实施例中,DS为或至少为98%。在一些实施例中,DS为或至少为99%。在一些实施例中,水平(例如,控制水平、预定水平、富集)是组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸的百分比,其中该百分比为或至少为(DS)<sup>nc</sup>。例如,当DS为99%并且nc为10时,该百分比为或至少为90%((99%)<sup>10</sup>≈0.90=90%)。如本领域技术人员所理解的,在立体随机制备物中,该百分比通常为约1/2<sup>nc</sup>-当nc为10时,该百分比为约1/2<sup>10</sup>≈0.001=0.1%。在一些实施例中,富集(例如,相对于基本上外消旋的制备物)水平等是:组合物中的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸、或组合物中共享多个寡核苷酸的共同构成的所有寡核苷酸的至少约(DS)<sup>nc</sup>为该多个寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中的所有寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中共享多个寡核苷酸的共同碱基序列的所有寡核苷酸。在一些实施例中,它是组合物中共享多个寡核苷酸的共同构成的所有寡核苷酸。在一些实施例中,可以适当地认为寡核苷酸的多种形式(例如,多种盐形式)具有相同的构成。

[0661] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个或更多个)手性受控的手性核苷酸间键联,其键联磷的非对映体过量(d.e.)独立地是约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中,包含手性键磷的所有手性核苷酸间键联中的约或至少约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地是这样的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约或至少约50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%独立地是这样的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这样的手性受控的核苷酸

间键联。在一些实施例中,包含手性键联磷的每个手性核苷酸间键联独立地是这样的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,d.e.是约或至少约80%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约85%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约90%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约95%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约96%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约97%。在一些实施例中,d.e.是约或至少约98%。

[0662] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物(也称为寡核苷酸组合物)是包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个手性核苷酸间键联(手性受控的核苷酸间键联)处的相同键联磷立体化学,

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸中的寡核苷酸的百分比为至少(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为90%-100%,并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

[0663] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物(也称为寡核苷酸组合物)是包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

共同骨架手性中心模式,该模式包含至少一个Sp,

其中组合物中共享共同碱基序列和骨架键联模式的所有寡核苷酸中的该多个寡核苷酸中的寡核苷酸的百分比为至少(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为90%-100%,并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

[0664] 在一些实施例中,可以将组合物中的多个寡核苷酸的非对映纯度的水平确定为寡核苷酸中每个手性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(例如,对于寡核苷酸.....NxNy.....中Nx与Ny之间的键联,二聚体是NxNy)。

[0665] 在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物包含两种或更多种多个寡核苷酸,其中每种多个寡核苷酸各自独立地是如本文所述的多个寡核苷酸(例如,在多种手性受控的寡核苷酸组合物中)。例如,在一些实施例中,每种多个寡核苷酸独立地共享共同碱基序列,以及在一个或多个手性核苷酸间键联处的相同的键联磷立体化学,并且每种多个寡核苷酸与该多个寡核苷酸的立体随机制备物相比独立地富集,或者每种多个寡核苷酸独立地具有如本文所述的水平。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的腺苷。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向相同或不同核酸的不同转录物。在一些实施例中,至少两种多个寡核苷酸或每种多个寡核苷酸独立地靶向不同基因的转录物。尤其是,在一些实施例中,这样的组合物可用于同时和在同一系统中靶向两个或更多个靶标。

[0666] 在一些实施例中,所有手性核苷酸间键联都是手性受控的,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,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。

[0667] 寡核苷酸可以包含骨架手性中心的多种模式(手性键联磷的立体化学模式)或由其组成。在本披露中描述了骨架手性中心的某些有用的模式。在一些实施例中,多个寡核苷酸共享共同骨架手性中心模式,其是或包含本披露中描述的模式(例如,如在“键联磷立体化学及其模式”、表1中的手性受控的寡核苷酸的骨架手性中心模式等)。

[0668] 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,其中这些寡核苷酸是相同的[包括这些寡核苷酸的每个手性元件,包括每个手性键联磷,是独立定义的(立体限定的)],并且该组合物不含其他立体异构体。寡核苷酸立体异构体的手性纯(或立体纯,立体化学纯)的寡核苷酸组合物不含其他立体异构体(如本领域技术人员所理解的,一个或多个非预期的立体异构体可以作为杂质存在)。

[0669] 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,如本文所述的骨架手性中心模式任选地与本文所述的其他结构特征(例如,核碱基、糖、核苷酸间键联等的修饰)组合可用于以高效率提供所需的定向腺苷编辑。

[0670] 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,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。

[0671] 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多种核酸并且可以具有多种碱基序列,并且可以提供有效的腺苷编辑(例如,将A转化成I)。

[0672] 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。在一些实施例中,所提供的手性受控的寡核苷酸组合物包含具有相同构成的多个寡核苷酸,并且具有一个或多个核苷酸间键联。在一些实施例中,例如在手性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(和/或其多种盐形式中的一种或多种),其中该寡核苷酸在手性受控的核苷酸间键联中包含至少一个 $R_p$ 或 $S_p$ 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(和/或其多种盐形式中的一种或多种),其中寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的(每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是 $R_p$ 或 $S_p$ )。在一些实施例中,寡核苷酸组合物,例如寡核苷酸组合物是单一寡核苷酸的基本上纯的制备物,因为在一些情况下,在某些纯化程序后,在该组合物中的不是该单一寡核苷酸的寡核苷酸是来自该单一寡核苷酸的制备过程中的杂

质。在一些实施例中，单一寡核苷酸是表1的寡核苷酸，其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联是手性受控的（例如，在“立体化学/键联”中表示为S或R，但不是X）。

[0673] 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。

[0674] 在一些实施例中，本披露涉及能够调节基因或其基因产物的水平、活性或表达的手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中，与参考条件相比（例如，不存在本披露的寡核苷酸和/或组合物，和/或存在参考寡核苷酸和/或寡核苷酸组合物（例如，具有相同碱基序列但不同修饰的寡核苷酸、具有可比较结构（例如，碱基序列、修饰等）但缺乏立体化学控制的寡核苷酸的立体随机组合物等），基因或其基因产物的水平、活性或表达增加（例如，通过将A转化成I以恢复正确的G至A突变、以增加蛋白翻译水平、以增加特定蛋白同种型的产生、以调节剪接从而增加特定剪接产物和由此编码的蛋白的水平等），而在一些实施例中，基因或其基因产物的水平、活性或表达降低（例如，通过将A转化成I以产生终止密码子和/或改变密码子、以降低蛋白翻译水平、以减少特定蛋白同种型的产生、以调节剪接从而降低特定剪接产物和由此编码的蛋白的水平等）。

[0675] 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，该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是、包含或包含本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）的跨度（例如，至少10或15个连续碱基）。在一些实施例中，本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物，该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）。在一些实施例中，本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物，该组合物能够增加基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）。

[0676] 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，该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）的跨度（例如，至少10或15个连续碱基）。在一些实施例中，本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物，该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是或包含本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）。在一些实施例中，本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物，该组合物能够降低基因或其基因产物的水平、活性或表达，并且包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸，该共同碱基序列是本文披露的碱基序列（例如，在表1中，其中每个T可独立地被U代替并且反之亦然）。

[0677] 在一些实施例中，所提供的手性受控的寡核苷酸组合物是包含多个寡核苷酸的手

性受控的寡核苷酸组合物。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,本披露提供了表1中的寡核苷酸的手性纯的寡核苷酸组合物,其中该寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的( $R_p$ 或 $S_p$ ,例如,可以从“立体化学/键联”中的R或S而不是X来确定)。如本领域普通技术人员将理解的那样,化学选择性很少(如果有的话)达到完全性(绝对100%)。在一些实施例中,手性纯的寡核苷酸组合物包含多个寡核苷酸,其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸在结构上相同并且都具有相同的结构(相同的立体异构形式;在寡核苷酸的情况下,通常与通常在寡核苷酸中存在的多个手性中心相同的非对映形式),并且手性纯的寡核苷酸组合物不含有任何其他立体异构体(在寡核苷酸的情况下,通常如通常在寡核苷酸中存在的多个手性中心的非对映体;其程度例如可通过立体选择性制备实现)。如本领域技术人员所理解的,立体随机的(或“外消旋的”、“非手性受控的”)寡核苷酸组合物是许多立体异构体的随机混合物(例如, $2^n$ 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)。

[0678] 显示手性受控的寡核苷酸组合物(例如,手性受控的寡核苷酸组合物在调节靶基因和/或其产物的水平、活性和/或表达方面)的特性和/或活性的某些数据显示在例如本披露的实例中。

[0679] 在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸包含至少一个手性键联磷。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有 $R_p$ 构型。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有 $S_p$ 构型。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,其中寡核苷酸包含手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联,其中键联磷具有 $R_p$ 构型并且键联磷具有 $S_p$ 构型。在一些实施例中,这样的寡核苷酸组合物是手性受控的,并且 $R_p$ 和/或 $S_p$ 核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

[0680] 在一些实施例中,与参考寡核苷酸或寡核苷酸组合物相比,所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物(例如,手性受控的寡核苷酸组合物)出人意料地有效。在一些实施例中,所需的生物效应(例如,如通过mRNA、蛋白等的水平增加(如果期望增加的话)和/或降低(如果期望降低的话)所测量的,这些mRNA、蛋白等的水平以增加为目标)可以增强超过1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50或100倍(例如,如通过所需的mRNA、蛋白等的水平所测量的)。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比所需的mRNA和/或蛋白水平的增加或不期望的mRNA和/或蛋白水平的降低来衡量。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比所需的mRNA和/或蛋白水平的增加来衡量。在一些实施例中,变化通过与参考条件相比不期望的mRNA和/或蛋白水平的降低来衡量。在一些实施例中,参考条件分别是不存在所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物,和/或存在参考寡核苷酸或寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸共享相同的碱基序列,但具有不同的核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰和/或键联磷立体化学。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同的碱基序列但不同的核碱基修饰、糖修饰、核苷酸间键联修饰和/或键联磷立体化学的寡核苷酸的组合物。在

一些实施例中,用于手性受控的寡核苷酸组合物的参考组合物是具有相同碱基序列、核碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰(但缺乏键联磷立体化学控制和/或具有低水平的键联磷立体化学控制)或具有相同构成的寡核苷酸的相应立体随机组合物。

[0681] 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,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,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 $S_p$ 。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,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个硫代磷酸酯核苷酸间键联是非手性受控的或是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,不超过1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。在一些实施例中,其不超过1。在一些实施例中,其不超过2。在一些实施例中,其不超过3。在一些实施例中,其不超过4。在一些实施例中,其不超过5。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。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,其中大部分手性核苷酸间键联是手性受控的并且在键联磷处是 $S_p$ 。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,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 $S_p$ 。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 $R_p$ 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,其中至少一个手性受控的核苷酸间键联包含 $R_p$ 键联磷并且至少一个手性受控的核苷酸间键联包含 $S_p$ 键联磷。

[0682] 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,其中至少两个手性受控的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同键联磷立体化学和/或不同的P-修饰,其中P-修饰是在键联磷处的修饰。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,其中至少两个手性受控的核苷酸间键联具有相对于彼此不同的立体化学,并且寡核苷酸的骨架手性中心模式的特征在于交替立体化学的重复模式。

[0683] 在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然磷酸酯键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然

磷酸酯键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰,并且每个寡核苷酸包含硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰,并且每个寡核苷酸包含天然磷酸酯键联和硫代磷酸三酯核苷酸间键联。在某些实施例中,本披露提供了包含多个寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物,其中在每个寡核苷酸中,至少两个单独的核苷酸间键联具有相对于彼此的不同P-修饰,并且每个寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联和硫代磷酸三酯核苷酸间键联。

[0684] 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,该组合物包含多个寡核苷酸,这些寡核苷酸共享共同碱基序列,该共同碱基序列是本文披露的寡核苷酸的碱基序列,其中至少一个核苷酸间键联是手性受控的。

#### 键联磷立体化学和骨架手性中心模式

[0685] 尤其是,本披露提供了多种寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了本文所述的寡核苷酸的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物包含本披露所述的多个寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸组合物是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸组合物不是手性受控的(立体随机的)。

[0686] 与天然磷酸酯键联形成对比,手性修饰的核苷酸间键联(例如硫代磷酸酯核苷酸间键联)的键联磷是手性的。尤其是,本披露提供了包括控制手性核苷酸间键联中的手性键联磷的立体化学的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)。在一些实施例中,如本文所展示,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、改善的对靶核酸的修饰、改善的对转录物和/或其编码产物(例如,mRNA、蛋白等)的水平s的调节等。在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸和/或其区域的骨架手性中心的有用模式,该模式包括从5'至3'的手性键联磷中的每个手性键联磷( $R_p$ 或 $S_p$ )的立体化学、每个非手性键联磷( $O_p$ ,如果有的话)的指示等的组合。在各种表中(例如,作为实例的立体化学/键联)提供了某些模式;这样的模式可以应用于具有多种碱基序列和修饰(例如,本文所述的那些,包括其模式)的多种寡核苷酸。

[0687] 本文广泛描述了骨架手性中心的有用模式,例如用于寡核苷酸、第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域、第三子结构域等的那些。例如,在一些实施例中,寡核苷酸或其一个或多个部分(例如,第一结构域、第二结构域、第一子结构域、第二子结构域和/或第三子结构域,和/或其中的5'末端部分和/或3'末端部分)的高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联提供高稳定性和/或活性。在一些实施例中,第一结构域包含高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域包含高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联(以相对于天然磷酸酯键联和/或 $R_p$ 核苷酸间键联的数量和/或百分比计)。在一些实施例中,第一子结构域包含高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,第二子结构域包含高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,第三子结构域包含高水平的 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,如本文所展示,可以在多种位置和/或部分使用 $R_p$ 核苷酸间键联。例如,在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个或高水平的 $R_p$ 核苷酸间键联,并且在一些实施例中,第二子结构域包含一个或多个或高水平的 $R_p$ 核苷酸间键联。

[0688] 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 $S_p$ 。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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 键联磷的手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联中至少10%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%具有 $S_p$ 键联磷。在一些实施例中,百分比为至少20%。在一些实施例中,百分比为至少30%。在一些实施例中,百分比为至少40%。在一些实施例中,百分比为至少50%。在一些实施例中,百分比为至少60%。在一些实施例中,百分比为至少65%。在一些实施例中,百分比为至少70%。在一些实施例中,百分比为至少75%。在一些实施例中,百分比为至少80%。在一些实施例中,百分比为至少90%。在一些实施例中,百分比为至少95%。在一些实施例中,所有手性受控的核苷酸间键联都具有 $S_p$ 键联磷。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都具有 $S_p$ 键联磷。在一些实施例中,至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个核苷酸间键联是具有 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $S_p$ 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 $R_p$ 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、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60个核苷酸间键联是具有 $R_p$ 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 $R_p$ 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 $R_p$ 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 $R_p$ 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 $R_p$ 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 $R_p$ 键联磷的手性受控的核苷酸间键联。

[0689] 在一些实施例中,除了一个或少数核苷酸间键联(例如,寡核苷酸中所有手性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/或低于50%、45%、40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%)呈 $R_p$ 构型外,寡核苷酸或其一部分中所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,寡核苷酸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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第一结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,第一结构域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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第一结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,第二结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,第二结构域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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第二结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个呈 $R_p$ 构型的硫代磷酸酯外,第二结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,第二结构域的子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,第二结构域的第一子结构域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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,第二结构域的第一子结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个呈 $R_p$ 构型的硫代磷酸酯外,第二结构域的第一子结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个或少量呈 $R_p$ 构型的核苷酸间键联外,第二结构域的第二子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,第二结构域的第二子结构域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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%,或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中,除了一个呈 $R_p$ 构型的硫代磷酸酯外,第二结构域的第二子结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,除了一个呈 $R_p$ 构型的硫代磷酸酯外,第二结构域的第二子结构域中的每个核苷酸间键联是呈 $S_p$ 构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中,第二结构域的第三子结构域中的所有、基本上所有或大部分核苷酸间键联呈 $S_p$ 构型(例如,第二结构域的第三子结构域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的约50%-100%、55%-100%、60%-100%、65%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、85%-100%、90%-100%、55%-95%、60%-95%、65%-95%，或约55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、99%或更多)。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第三子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。在一些实施例中，除了一个呈Rp构型的硫代磷酸酯外，第二结构域的第三子结构域中的每个核苷酸间键联是呈Sp构型的硫代磷酸酯。

[0690] 在一些实施例中，寡核苷酸包含一个或多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含一个且不超过一个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸包含五个或更多个Rp核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸中所有手性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，某些部分(例如，结构域、子结构域等)可以包含相对更多(数量和/或百分比)的Rp核苷酸间键联，例如第二子结构域。

[0691] 在一些实施例中，寡核苷酸在一个或多个位置，例如-1、-2、+1、+2、+7、+8等处包含一个或多个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置+1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置+2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-1、-2、+1和+2处的两个或三个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，位置是-1和-2。在一些实施例中，位置是+1和+2。在一些实施例中，位置是-1和+1。在一些实施例中，位置是-1、+1和+2。在一些实施例中，位置是-1、-2和+1。在一些实施例中，一个且仅一个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，一个且仅一个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联并且在位置+2、+1、1或2处。在一些实施例中，位置是+1。在一些实施例中，位置是+2。在一些实施例中，位置是-1。在一些实施例中，位置是-2。在一些实施例中，观察到利用Rp核苷酸间键联可以改进ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2的编辑效率。在一些实施例中，ADAR1(p110和/或p150)的编辑改进比ADAR2的改进更多(与不存在Rp相比，没有或更少的改进或更少的编辑)。

[0692] 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，其中该组合物包含非随机或控制水平的多个寡核苷酸，其中该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享共同碱基序列，并且独立地在至少1-60、1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25个或更多个手性核苷酸间键联处共享键联磷的相同构型。

[0693] 在一些实施例中，所提供的寡核苷酸包含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。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸组合物包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个手性受控的核苷酸间键联。

[0694] 在一些实施例中，所有核苷酸间键联中的约1%-100%是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，所有手性核苷酸间键联中的约1-100%是手性受控的核苷酸间键联。

在一些实施例中,百分比为约5%-100%。在一些实施例中,百分比为至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、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%。

[0695] 在一些实施例中,呈 $S_p$ 构型的核苷酸间键联(具有 $S_p$ 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 $R_p$ 构型的核苷酸间键联(具有 $R_p$ 键联磷)是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,呈 $S_p$ 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 $R_p$ 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 $S_p$ 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 $R_p$ 构型的每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0696] 在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物中的所提供的寡核苷酸各自包含不同类型的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联并且独立地是手性受控的。

[0697] 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具有彼此不同的立体化学。在一些实施例中,寡核苷酸各自包含骨架手性中心模式,该模式包含交替键联磷立体化学。

[0698] 在一些实施例中,硫代磷酸三酯键联包含手性助剂,其例如用于控制反应(例如,在寡核苷酸合成循环中的偶联反应)的立体选择性。在一些实施例中,硫代磷酸三酯键联不含手性助剂。在一些实施例中,有意地维持硫代磷酸三酯键联直至施用寡核苷酸组合物给受试者,和/或在施用寡核苷酸组合物给受试者期间有意地维持硫代磷酸三酯键联。

[0699] 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。

[0700] 在一些实施例中,许多寡核苷酸及其组合物(其中寡核苷酸中除了手性键联磷中心的所有其他手性中心已经被立体限定(例如,糖中的碳手性中心,其在例如用于寡核苷酸合成的亚磷酰胺中限定))的纯度,特别是立体化学纯度,和特别是非对映纯度可以通过在

偶联步骤中当形成手性核苷酸间键联时手性键联磷处的立体选择性(如本领域技术人员所理解的,在寡核苷酸合成的许多情况(其中寡核苷酸包含多于一个手性中心)下的非对映选择性)来控制。在一些实施例中,偶联步骤在键联磷处具有60%的立体选择性(当存在其他手性中心时为非对映选择性)。在这样的偶联步骤之后,可以认为形成的新的核苷酸间键联具有60%的立体化学纯度(对于寡核苷酸,鉴于其他手性中心的存在,通常是非对映纯度)。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有至少60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%的立体选择性。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联通常以至少85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少85%;在一些实施例中,至少87%;在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体选择性形成。在一些实施例中,立体选择性为至少85%。在一些实施例中,立体选择性为至少87%。在一些实施例中,立体选择性为至少90%。在一些实施例中,每个偶联步骤独立地具有几乎100%的立体选择性。

[0701] 在一些实施例中,组合物中手性中心(例如,手性键联磷)的立体纯度为至少60%、70%、80%、85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%。在一些实施例中,立体纯度为至少80%。在一些实施例中,立体纯度是至少85%。在一些实施例中,立体纯度是至少87%。在一些实施例中,立体纯度是至少90%。在一些实施例中,立体纯度为几乎100%。在一些实施例中,每个手性受控的核苷酸间键联在其手性键联磷处独立地具有至少85%、87%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99.5%或几乎100%(在一些实施例中,至少85%;在一些实施例中,至少87%;在一些实施例中,至少90%;在一些实施例中,至少95%;在一些实施例中,至少96%;在一些实施例中,至少97%;在一些实施例中,至少98%;在一些实施例中,至少99%)的立体化学纯度(对于具有多个手性中心的寡核苷酸,通常为非对映纯度)。在一些实施例中,手性受控的核苷酸间键联具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,大部分手性受控的核苷酸间键联独立地具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,每个手性受控的核苷酸间键联独立地具有至少90%的立体化学纯度。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有手性受控的核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。在一些实施例中,至少60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

[0702] 立体选择性和立体纯度可以通过多种技术来评估。在一些实施例中,立体选择性和/或立体纯度几乎为100%,因为当通过分析方法(例如,NMR、HPLC等)分析组合物时,几乎所有可检测的立体异构体都具有预期的立体化学。

[0703] 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]。

[0704] 在一些实施例中,在立体随机(或外消旋)制备物(或立体随机/非手性受控的寡核苷酸组合物)中,寡核苷酸的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个手性核苷酸间键联独立地具有相对于核苷酸间键联的手性键联磷小于约60%、65%、70%、75%、80%或85%的立体化学纯度(对于包含多个手性中心的寡核苷酸,通常为非对映纯度)。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约60%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约65%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约70%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约75%。在一些实施例中,立体化学纯度(立体纯度)小于约80%。

[0705] 在一些实施例中,本披露的化合物(例如,寡核苷酸、手性助剂等)包含多个手性元素(例如,多个碳和/或磷(例如,手性核苷酸间键联的键联磷)手性中心)。在一些实施例中,所提供的化合物(例如,寡核苷酸)的至少1、2、3、4、5、6、7、8、9个或更多个手性元件各自独立地具有如本文所述的非对映纯度。在一些实施例中,非对映纯度为至少85%。在一些实施例中,非对映纯度为至少86%。在一些实施例中,非对映纯度为至少87%。在一些实施例中,非对映纯度为至少88%。在一些实施例中,非对映纯度为至少89%。在一些实施例中,非对映纯度为至少90%。在一些实施例中,非对映纯度为至少91%。在一些实施例中,非对映纯度为至少92%。在一些实施例中,非对映纯度为至少93%。在一些实施例中,非对映纯度为至少94%。在一些实施例中,非对映纯度为至少95%。在一些实施例中,非对映纯度为至少96%。在一些实施例中,非对映纯度为至少97%。在一些实施例中,非对映纯度为至少98%。在一些实施例中,非对映纯度为至少99%。

[0706] 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。

[0707] 多种技术可用于鉴定或证实手性元素的立体化学(例如,手性键联磷的构型)和/或骨架手性中心模式,和/或用于评估立体选择性(例如,寡核苷酸合成中的偶联步骤的非对映选择性)和/或立体化学纯度(例如,核苷酸间键联、化合物(例如,寡核苷酸)等的非对映纯度)。示例技术包括NMR[例如1D(一维)和/或2D(二维) $^1\text{H}$ - $^{31}\text{P}$ 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有特异性的苯甲酸酶和微球菌核酸酶无法切割侧接有Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联的分离的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0708] 在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸共享共同骨架磷修饰模式和共同碱基修饰模式。在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸组合物共享共同骨架磷

修饰模式和共同核苷修饰模式。在一些实施例中,共享共同碱基序列、共同骨架键联模式和共同骨架手性中心模式的寡核苷酸具有相同的结构。

[0709] 在一些实施例中,本披露提供了包含能够指导靶核酸中的靶腺苷脱氨的多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸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的制备物而言,该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

[0710] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸组合物中的多个寡核苷酸或特定寡核苷酸类型的寡核苷酸是寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了手性受控的寡核苷酸组合物,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列;

共同骨架键联模式;以及

在一个或多个手性核苷酸间键联(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中的寡核苷酸。

[0711] 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,该组合物包含多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列;

共同骨架键联模式;以及

共同骨架手性中心模式,该组合物是单一寡核苷酸的基本上纯的制备物,因为该组合物中至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、93%、95%、96%、97%、98%或99%的寡核苷酸具有共同碱基序列、共同骨架键联模式以及共同骨架手性中心模式。

[0712] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物类型进一步由以下方面定义:4) 另外的化学部分,如果有的话。

[0713] 在一些实施例中,百分比为至少约10%。在一些实施例中,百分比为至少约20%。在一些实施例中,百分比为至少约30%。在一些实施例中,百分比为至少约40%。在一些实施例中,百分比为至少约50%。在一些实施例中,百分比为至少约60%。在一些实施例中,百分比为至少约70%。在一些实施例中,百分比为至少约75%。在一些实施例中,百分比为至少约80%。在一些实施例中,百分比为至少约85%。在一些实施例中,百分比为至少约90%。在一些实施例中,百分比为至少约91%。在一些实施例中,百分比为至少约92%。在一些实施例中,百分比为至少约93%。在一些实施例中,百分比为至少约94%。在一些实施例中,百分比为至少约95%。在一些实施例中,百分比为至少约96%。在一些实施例中,百分比为至少约97%。在一些实施例中,百分比为至少约98%。在一些实施例中,百分比为至少约99%。在一些实施例中,百分比为或大于(DS)<sup>nc</sup>,其中DS和nc各自独立地如本披露中所述。

[0714] 在一些实施例中,多个寡核苷酸共享相同的构成。在一些实施例中,多个寡核苷酸是相同的(相同的立体异构体)。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物是立体纯寡核苷酸组合物,其中该多个寡核苷酸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。

[0715] 在一些实施例中,所提供的组合物的特征在于当它与靶核酸接触[例如,转录物(例如,前体mRNA,成熟mRNA,与组合物的寡核苷酸杂交的其他类型的RNA等)]时,靶核酸和/或由此编码的产物的水平和/或在参考条件下观察到的相比降低。在一些实施例中,核酸和/或其产物的水平增加,该核酸是靶核酸的A至I编辑的产物。在一些实施例中,参考条件选自由以下组成的组:不存在组合物、存在参考组合物、及其组合。在一些实施例中,参考条件是不存在组合物。在一些实施例中,参考条件是存在参考组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不与靶核酸杂交的组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸不含与靶核酸充分互补的序列的组合物。在一些实施例中,参考组合物是其寡核苷酸共享相同的碱基序列但不共享相同的核碱基、糖和/或核苷酸间键联修饰的组合物。在一些实施例中,所提供的组合物是手性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)。

[0716] 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,该组合物包含能够指导靶核酸中的靶腺苷脱氨的多个寡核苷酸,其中这些寡核苷酸共享:

共同碱基序列,

共同骨架键联模式,以及

在一个或多个手性核苷酸间键联(手性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中的寡核苷酸,

该寡核苷酸组合物的特征在于:当它与靶序列接触时,靶核酸中的靶腺苷脱氨相对于在参考条件下观察到的脱氨有所改善,该参考条件选自由以下组成的组:不存在该组合物、存在参考组合物及其组合。

[0717] 如本领域技术人员所理解的,可以使用多种技术来评估靶腺苷的脱氨。在一些实施例中,技术是测序,其中脱氨的腺苷被检测为G或I。在一些实施例中,通过产物(例如, RNA、蛋白(例如,由其中靶A被I代替但在其他方面与靶核酸相同的序列编码)等)的水平来评估脱氨。

[0718] 如本文所展示,寡核苷酸结构单元(例如,糖修饰、骨架键联、骨架手性中心、骨架磷修饰、其模式等)及其组合可以提供令人惊讶地改善的特性和/或生物活性。

[0719] 在一些实施例中,寡核苷酸组合物是单一寡核苷酸立体异构体的基本上纯的制备物,因为组合物中具有相同构成但不具有立体异构体的寡核苷酸是来自所述寡核苷酸立体异构体的制备过程的杂质,在一些情况下,在某些纯化程序之后。

[0720] 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,所提供的组合物包含非随机水平或控制水平的一种或多种单独的寡核苷酸类型。在一些实施例中,同一寡核苷酸类型的寡核苷酸是相同的。

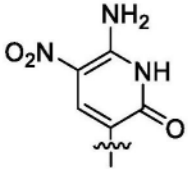
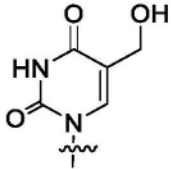
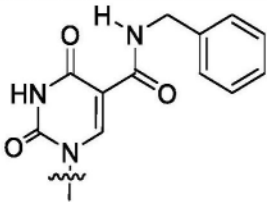
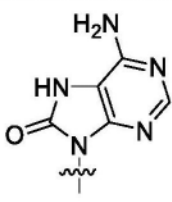
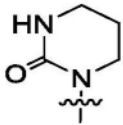
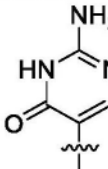
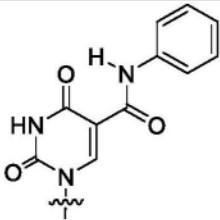
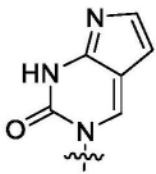
核碱基

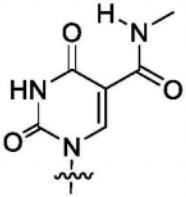
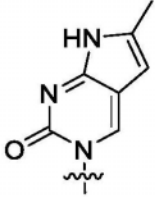
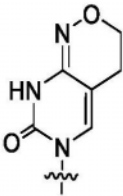
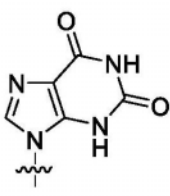
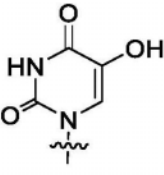
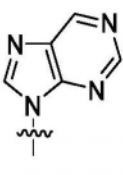
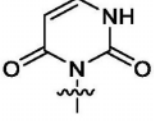
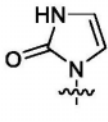
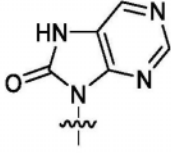
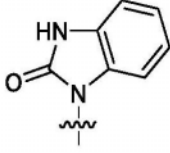
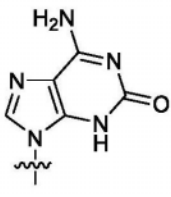
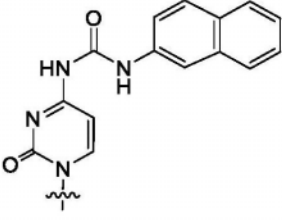
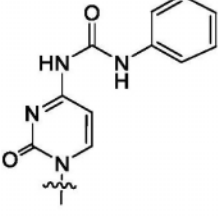
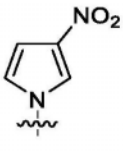
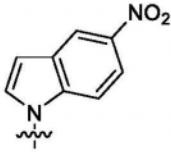
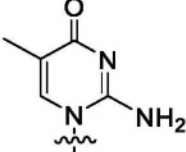
[0721] 根据本披露,多种核碱基可用于所提供的寡核苷酸中。在一些实施例中,核碱基是

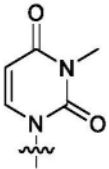
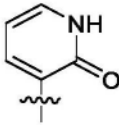
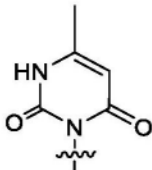
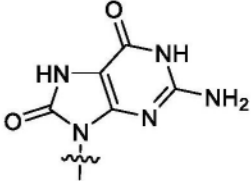
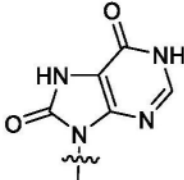
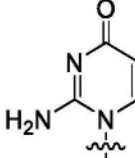
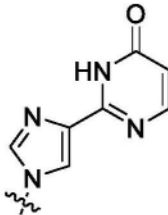
天然核碱基,最常见的天然核碱基是A、T、C、G和U。在一些实施例中,核碱基是经修饰的核碱基,因为它不是A、T、C、G或U。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U,例如5mC、5-羟基甲基C等。在一些实施例中,核碱基是烷基取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,核碱基是A。在一些实施例中,核碱基是T。在一些实施例中,核碱基是C。在一些实施例中,核碱基是G。在一些实施例中,核碱基是U。在一些实施例中,核碱基是5mC。在一些实施例中,核碱基是取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中,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取代的核碱基相同处理,例如5mC可以与C相同处理[例如,具有5mC代替C(例如,AT5mCG)的寡核苷酸被认为与在一个或多个相应位置(例如,ATCG)具有C的寡核苷酸具有相同的碱基序列]。在一些实施例中,核碱基是或包含具有至少一个氮原子的任选地经取代的环。在一些实施例中,核碱基包含如本文所述的环BA,其中环BA的至少一个单环包含氮环原子。

[0722] 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-羟基甲基胞苷、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。

[0723] 如本文所展示,在某些位置(例如,在与靶腺苷相对的核苷和/或其相邻核苷中)利用某些核碱基可以提供具有改善的特性和/或活性(例如,腺苷编辑成I)的寡核苷酸。在一些实施例中,有用的核碱基是或包含如本文所述的环BA。在一些实施例中,核苷中的核碱基是或包含具有以下结构的环BA:BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的或被保护的以下结构,或任选地经取代的或被保护的以下结构的互变异构体:

<b>zdnP</b>		<b>b007U</b>	
<b>b001U</b>		<b>b001A</b>	
<b>b002U</b>		<b>b001C</b>	
<b>b003U</b>		<b>b002C</b>	

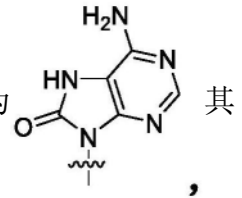
b004U		b003C	
b005U		b002I	
b006U		b003I	
b008U		b009U	
b002A		b003A	
b001G		b007C	
b004C		b005C	
b006C		b008C	

b011U		b012U	
b013U		b002G	
b004I		b009C	
b014I			

在一些实施例中,经修饰的核碱基是b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或zdpn。在一些实施例中,经修饰的核碱基是zdpn、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A或b007C。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个这样的核碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的核碱基的化合物。在一些实施例中,本发明提供了包含这样的核碱基的单体(例如,可用于寡核苷酸合成的单体)。在一些实施例中,本披露提供了包含这样的核碱基的亚磷酰胺。在一些实施例中,亚磷酰胺是CED亚磷酰胺。在一些实施例中,单体包含如本文所述的辅助部分(例如,P与O和N、O和S、S和S等形成键)。在一些实施例中,亚磷酰胺包含如本文所述的手性助剂部分(例如,其中P与O和N形成键)。在一些实施例中,R<sup>NS</sup>包含这样的核碱基。在一些实施例中,对核碱基进行保护以用于寡核苷酸合成。

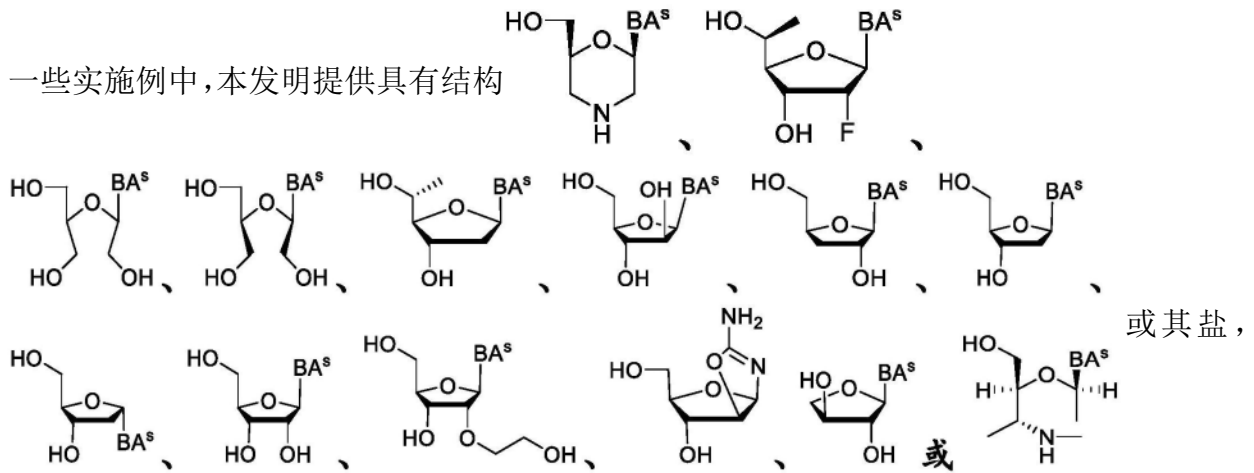
[0724] 在一些实施例中,本发明提供各种核苷。在一些实施例中,b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A或b007C也可指其核碱基分别为b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、

b003I、b009U、b003A或b007C的核苷。例如，b001A可以指核苷，其核碱基为

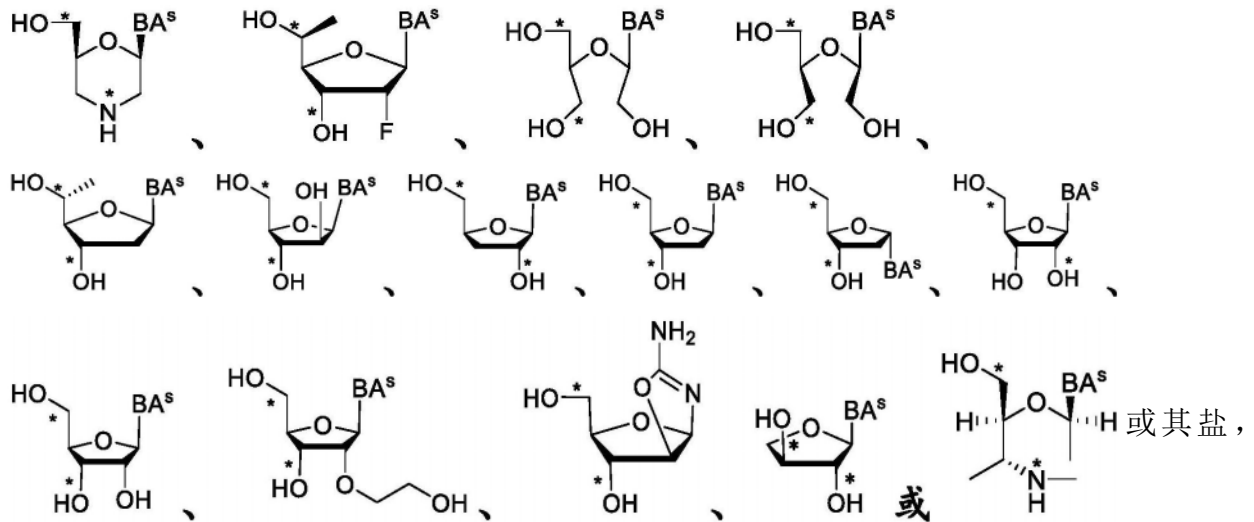


糖为天然DNA糖；也可以标明糖修饰，例如b001rA中的“r”表示糖上有2’-OH(天然RNA糖)。在

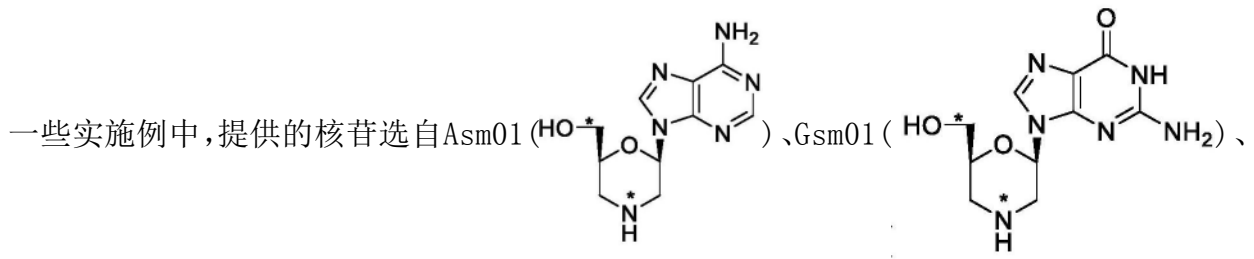
一些实施例中，本发明提供具有结构

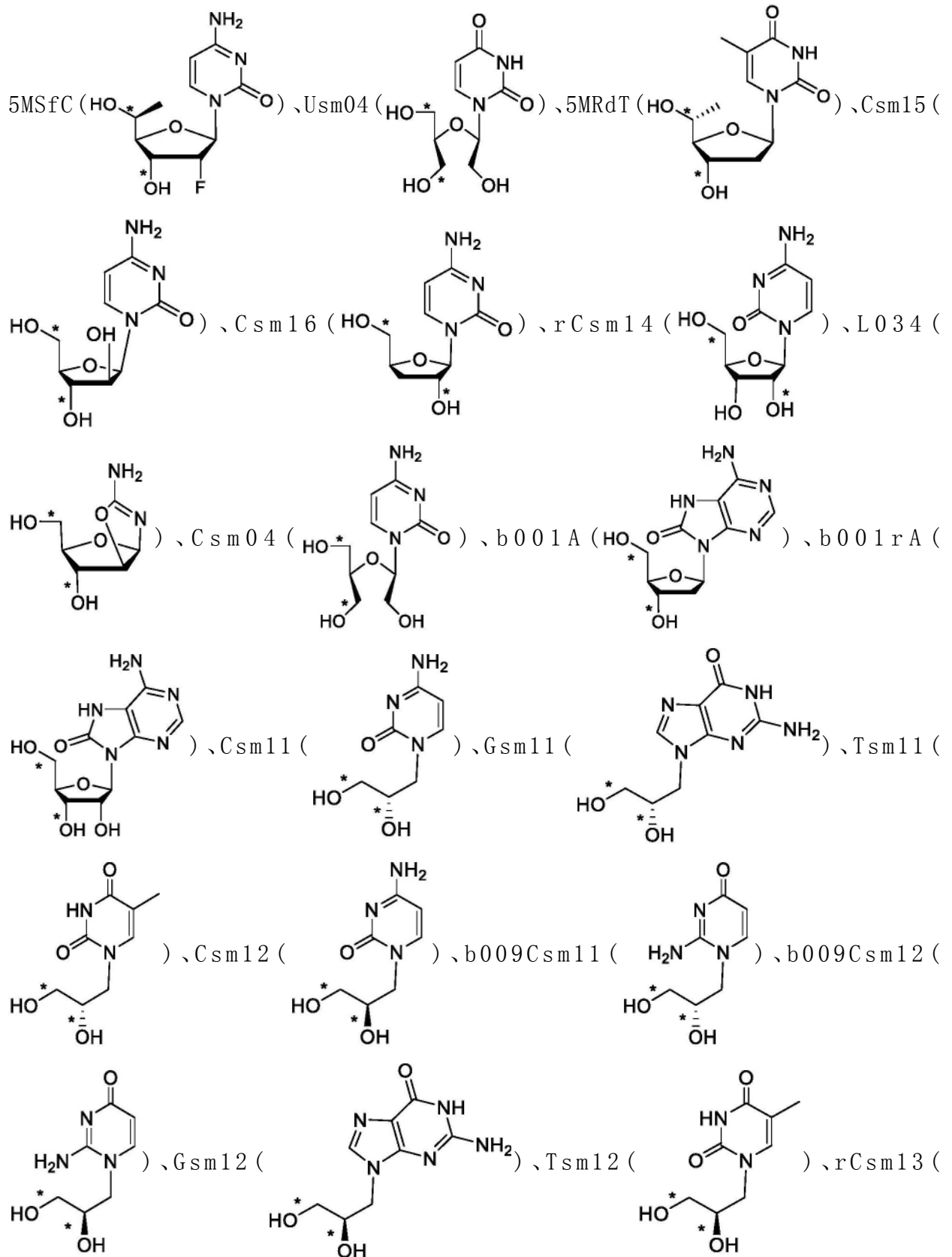


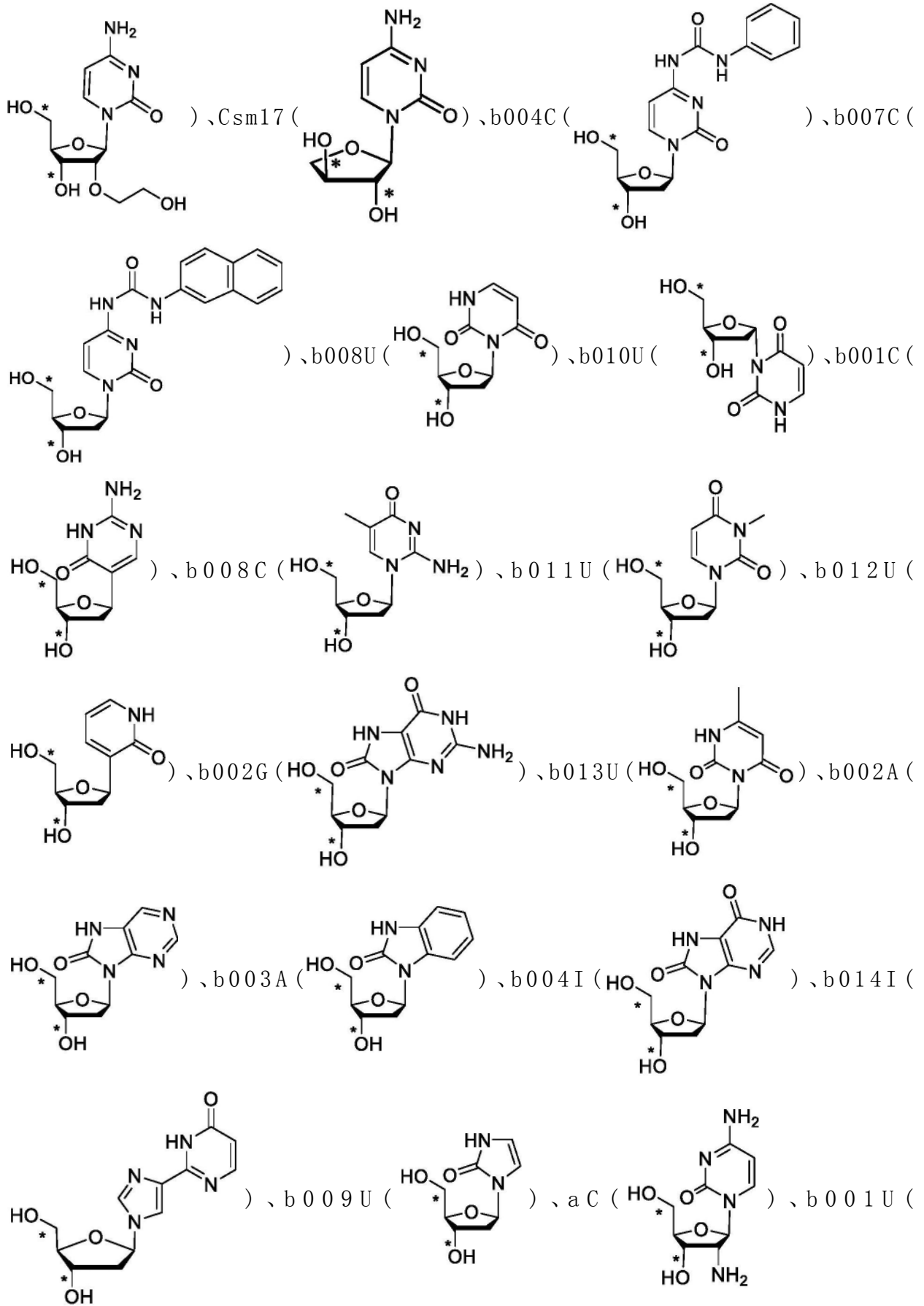
其中BA<sup>s</sup>如本文所述。在一些实施例中，提供的化合物，例如，核苷具有的结构

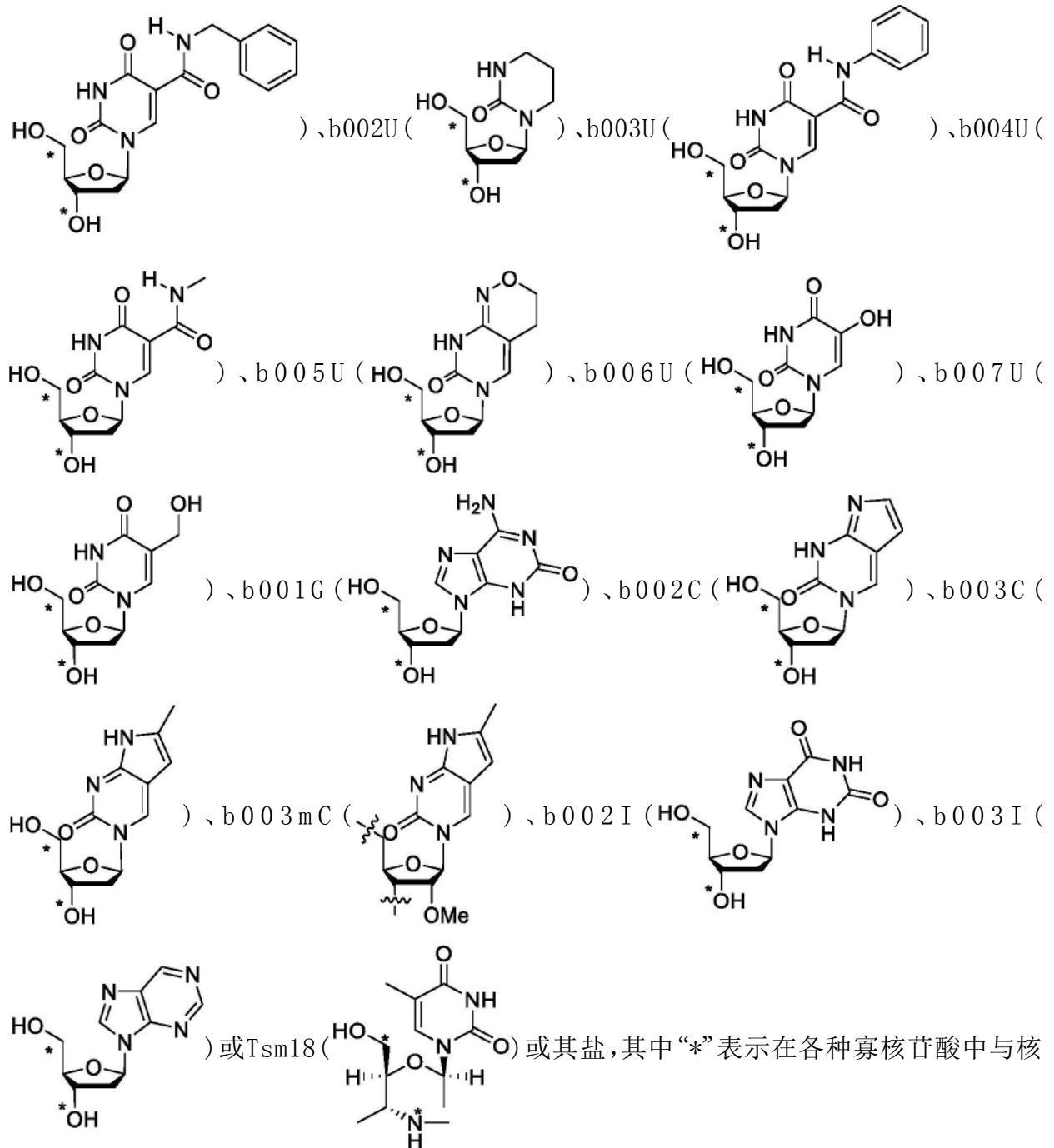


其中“\*”表示在各种寡核苷酸中与核苷酸间键连接，并且BA<sup>s</sup>如本文所述。在一些实施例中，BA<sup>s</sup>是核碱基，例如，如本文所述的BA。在一些实施例中，BA被保护用于寡核苷酸合成。在









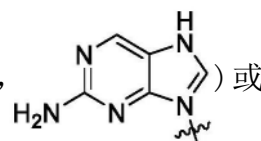
苷酸间键联连接。在一些实施例中,寡核苷酸包含本文所述的核苷。在一些实施例中,核苷通过氮原子(例如,sm01、sm18等)连接至核苷酸间键联,其中氮原子直接连接至键联磷原子。在一些实施例中,本披露提供如本文所述的核苷单体(例如,Asm01、Gsm01、Tsm18等)。在一些实施例中,本披露提供如本文所述的核苷的亚磷酰胺。在一些实施例中,这样的单体或亚磷酰胺包含被保护的羟基(例如,DMTrO-)和/或被保护的核碱基(例如,可用于寡核苷酸合成)。在一些实施例中,这样的单体或亚磷酰胺包含被保护的羟基(例如,DMTrO-)、任选地被保护的核碱基(例如,可用于寡核苷酸合成)和/或手性助剂基团。某些试剂,例如各种亚磷酰胺,可用于将各种核苷和/或化合物掺入寡核苷酸,以及使用这样的试剂进行寡核苷酸制备的某些技术,例如循环、条件等,在实例或W0 2021/071858中有所描述。某些包含经修饰的核苷的寡核苷酸及其组合物是利用这样的试剂和技术制备的,并在本文中作为实例呈

现,例如,包括表1中的那些在内的各个表中的那些。

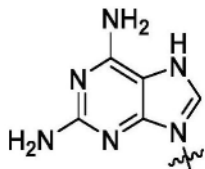
[0725] 在一些实施例中,本披露提供包含一个或多个如本文所述的经修饰的核碱基的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供包含如本文所述的经修饰的核碱基的化合物。在一些实施例中,本发明提供包含如本文所述的经修饰的核碱基的单体(例如,可用于寡核苷酸合成的那些单体)。在一些实施例中,本发明提供包含如本文所述的经修饰的核碱基的亚磷酰胺。在一些实施例中,亚磷酰胺是CED亚磷酰胺。在一些实施例中,单体包含如本文所述的辅助部分(例如,P与O和N、O和S、S和S等形成键)。在一些实施例中,亚磷酰胺包含如本文所述的手性助剂部分(例如,其中P与O和N形成键)。在一些实施例中, $R^{NS}$ 包含如本文所述的核碱基。在一些实施例中, $R^{NS}$ 包含如本文所述的经修饰的核碱基。在一些实施例中,对核碱基进行保护以用于寡核苷酸合成。

[0726] 在一些实施例中,寡核苷酸包含独立地选自假异胞苷、Benner碱基Z、5-羟基C、5-氨基C和8-氧代A的一个或多个结构。

[0727] 在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的2AP(2-氨基嘌呤,



DAP(2,6-二氨基嘌呤,



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。

[0728] 如本领域技术人员所理解的,多种核碱基在本领域中是已知的并且可以根据本披露使用,例如,在以下文献中描述的那些:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的糖、碱基和核苷酸间键联修饰独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,核碱基被保护并且可用于寡核苷酸合成。

[0729] 在一些实施例中,核碱基是天然核碱基或衍生自天然核碱基的经修饰的核碱基。实例包括任选地其各自的氨基被酰基保护基保护的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶和鸟嘌呤,2-氟尿嘧啶,2-氟胞嘧啶,5-溴尿嘧啶,5-碘尿嘧啶,2,6-二氨基嘌呤,氮杂胞嘧啶,嘧啶类似物(诸如假异胞嘧啶和假尿嘧啶),以及其他经修饰的核碱基(诸如8-取代的嘌呤、黄嘌呤、或次黄嘌呤,后两个是天然降解产物)。经修饰的核碱基的某些实例披露于Chiu和Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048; Limbach等人 Nucleic Acids Research [核酸研究], 1994, 22, 2183-2196; 以及 Revankar和Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry [天然产物综合化学], 第7卷, 313中。在一些实施例中,经修饰的核碱基是取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中,经修饰的核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤

呤、胞嘧啶或鸟嘌呤的例如就氢键合和/或碱基配对而言的功能代替物。在一些实施例中，核碱基是任选地经取代的尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。在一些实施例中，核碱基是尿嘧啶、胸腺嘧啶、腺嘌呤、胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶或鸟嘌呤。

[0730] 在一些实施例中，所提供的寡核苷酸包含一个或多个5-甲基胞嘧啶。在一些实施例中，本披露提供了寡核苷酸，该寡核苷酸的碱基序列在本文中例如在表1中披露，其中每个T可以独立地被U代替并且反之亦然，并且每个胞嘧啶任选地并且独立地被5-甲基胞嘧啶代替，或反之亦然。如本领域技术人员所理解的，在一些实施例中，就寡核苷酸的碱基序列而言，可以将5mC视为C-这种寡核苷酸在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。

[0731] 在一些实施例中，经修饰的碱基是任选地经取代的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶或其互变异构体。在一些实施例中，经修饰的核碱基是通过以下方式而被一个或多个修饰所修饰的经修饰的腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶或尿嘧啶：

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

核碱基的一个或多个原子独立地被选自碳、氮和硫的不同原子代替；

核碱基中的一个或多个双键独立地被氢化；或

一个或多个芳基或杂芳基环独立地插入核碱基中。

[0732] 在一些实施例中，碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U，其中一个或多个-NH<sub>2</sub>独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>3</sub>代替，一个或多个-NH-独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-代替，一个或多个=N-独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)-代替，一个或多个=CH-独立地且任选地被=N-代替，并且一个或多个=O独立地且任选地被=S、=N(-L-R<sup>1</sup>)或=C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>代替，其中两个或更多个-L-R<sup>1</sup>任选地与居于它们之间的原子合在一起形成具有0-10个杂原子环原子的3-30元双环或多环。在一些实施例中，经修饰的碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U，其中一个或多个-NH<sub>2</sub>独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>3</sub>代替，一个或多个-NH-独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>-代替，一个或多个=N-独立地且任选地被-C(-L-R<sup>1</sup>)-代替，一个或多个=CH-独立地且任选地被=N-代替，并且一个或多个=O独立地且任选地被=S、=N(-L-R<sup>1</sup>)或=C(-L-R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>代替，其中两个或更多个-L-R<sup>1</sup>任选地与居于它们之间的原子合在一起形成具有0-10个杂原子环原子的3-30元双环或多环，其中经修饰的碱基不同于天然A、T、C、G和U。在一些实施例中，碱基是任选地经取代的A、T、C、G或U。在一些实施例中，经修饰碱基是取代的A、T、C、G或U，其中经修饰的碱基不同于天然A、T、C、G和U。

[0733] 在一些实施例中，经修饰的核碱基是本领域（例如，WO 2017/210647）中已知的经修饰的核碱基。在一些实施例中，经修饰的核碱基是其中已添加一个或多个芳基和/或杂芳基环（诸如苯环）的尺寸扩大的核碱基。在以下文献中描述了经修饰的核碱基的某些实例，包括核碱基代替物：Glen研究目录（弗吉尼亚州斯特林的格兰研究公司（Glen Research, Sterling, Virginia））；Krueger AT等人，Acc.Chem.Res.[化学研究评述]，2007，40，141-150；Kool, ET, Acc.Chem.Res.[化学研究评述]，2002，35，936-943；Benner S.A.等人，Nat.Rev.Genet.[遗传学自然评论]，2005，6，553-543；Romesberg, F.E.等人，

Curr. Opin. Chem. Biol. [化学生物学新见], 2003, 7, 723-733; 或 Hirao, I., Curr. Opin. Chem. Biol. [化学生物学新见], 2006, 10, 622-627。在一些实施例中, 尺寸扩大的核碱基是例如 W0 2017/210647 中描述的大小扩增的核碱基。在一些实施例中, 经修饰的核碱基是诸如咕啉或卟啉衍生的环之类的部分。某些卟啉衍生的碱基替代物已描述于例如 Morales-Rojas, H 和 Kool, ET, Org. Lett. [有机快报], 2002, 4, 4377-4380 中。在一些实施例中, 卟啉衍生的环是例如 W0 2017/219647 中描述的卟啉衍生的环。在一些实施例中, 经修饰的核碱基是在例如 W0 2017/219647 中描述的经修饰的核碱基。在一些实施例中, 经修饰的核碱基是荧光的。这样的发荧光的经修饰的核碱基的实例包括菲、芘、茈(stillbene)、异黄嘌呤、异黄蝶呤、三联苯、三嗪吩、苯并三嗪吩、香豆素、二氧四氢蝶啶、系拴茈(tethered stillbene)、苯并尿嘧啶、萘并尿嘧啶等, 以及例如 W0 2017/210647 中描述的那些。在一些实施例中, 核碱基或经修饰的核碱基选自: C5-丙炔T、C5-丙炔C、C5-噻唑、吩噻嗪、2-硫代胸腺嘧啶、5-三唑基苯基胸腺嘧啶、二氨基嘌呤和 N2-氨基丙基鸟嘌呤。

[0734] 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-羟基甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-N-甲基鸟嘌呤、6-N-甲基腺嘌呤、2-丙基腺嘌呤、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶和 2-硫胞嘧啶、5-丙炔基(-C≡C-CH<sub>3</sub>) 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代替的那些核碱基, 例如, 7-脱氮-腺嘌呤、7-脱氮鸟苷、2-氨基吡啶或 2-吡啶酮。在一些实施例中, 经修饰的核碱基是在以下文献中披露的那些: US 3687808, The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering [聚合物科学与工程简明百科全书], Kroschwitz, J.I. 编辑, John Wiley & Sons [约翰威利父子公司], 1990, 858-859; Englisch 等人, Angewandte Chemie, International Edition [应用化学国际版], 1991, 30, 613; Sanghvi, Y.S., 第 15 章, Antisense Research and Applications [反义研究与应用], Crooke, S.T. 和 Lebleu, B. 编辑, CRC Press [CRC 出版社], 1993, 273-288; 或第 6 章和第 15 章, Antisense Drug Technology [反义药物技术], Crooke S.T. 编辑, CRC Press [CRC 出版社], 2008, 163-166 和 442-443。

[0735] 在一些实施例中, 经修饰的核碱基及其方法是在 US 20030158403、US 3687808、US 4845205、US 5130302、US 5134066、US 5 175273、US 5367066、US 5432272、US 5434257、US 5457187、US 5459255、US 5484908、US 5502177、US 5525711、US 5552540、US 5587469、US 5594 121、US 5596091、US 5614617、US 5645985、US 5681941、US 5750692、US 5763588、US

5830653或US 6005096中描述的那些。

[0736] 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。

[0737] 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; $\beta$ ,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; $\beta$ ,D-甘露糖基Q核苷;5-甲氧基羰基甲基尿苷;5-甲氧基尿苷;2-甲基硫代- $N^6$ -异戊烯基腺苷; $N$ -((9- $\beta$ ,D-呋喃核糖基-2-甲基硫代嘌呤-6-基)氨基甲酰基)苏氨酸; $N$ -((9- $\beta$ ,D-呋喃核糖基嘌呤-6-基)- $N$ -甲基氨基甲酰基)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。

[0738] 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。

[0739] 核碱基的某些实例及相关方法在US 3687808、4845205、US 513030、US 5134066、US 5175273、US 5367066、US 5432272、US 5457187、US 5457191、US 5459255、US 5484908、US 5502177、US 5525711、US 5552540、US 5587469、US 5594121、US 5596091、US 5614617、US 5681941、US 5750692、US 6015886、US 6147200、US 6166197、US 6222025、US 6235887、US 6380368、US 6528640、US 6639062、US 6617438、US 7045610、US 7427672、US或US 7495088中描述。

[0740] 在一些实施例中,寡核苷酸包含在以下任一文献中描述的核碱基、糖、核苷和/或核苷酸间键联:Gryaznov, S;Chen, J. -K. J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志]1994, 116, 3143; Hendrix等人1997 Chem. Eur. J. [欧洲化学杂志]3: 110; Hyrup等人1996 Bioorg. Med. Chem. [生物有机化学与医药化学]4: 5; Jepsen等人2004 oligo. [寡核苷酸]14: 130-146; Jones等人J. Org. Chem. [有机化学杂志]1993, 58, 2983; Koizumi等人2003 Nuc. Acids Res. [核酸研究]12: 3267-3273; Koshkin等人1998 Tetrahedron [四面体]54: 3607-3630; Kumar等人1998 Bioorg. Med. Chem. Lett. [生物有机化学与医药化学快报]8: 2219-2222; Lauritsen等人2002 Chem. Comm. [化学通讯]5: 530-531; Lauritsen等人2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. [生物有机化学与医药化学快报]13: 253-256; Mesmaeker等人Angew. Chem., Int. Ed. Engl. [应用化学英文国际版]1994, 33, 226; Morita等人2001 Nucl. Acids Res. [核酸研究]增刊1: 241-242; Morita等人2002 Bioorg. Med. Chem. Lett. [生物有机化学与医药化学快报]12: 73-76; Morita等人2003 Bioorg. Med. Chem. Lett. [生物有

机化学与医药化学快报]2211-2226;Nielsen等人1997Chem.Soc.Rev.[化学学会评论]73;Nielsen等人1997J.Chem.Soc.Perkins Transl.[化学学会杂志珀金学报I]1:3423-3433;Obika等人1997Tetrahedron Lett.[四面体快报]38(50):8735-8;Obika等人1998Tetrahedron Lett.[四面体快报]39:5401-5404;Pallan等人2012Chem.Comm.[化学通讯]48:8195-8197;Petersen等人2003TRENDS Biotech.[生物技术趋势]21:74-81;Rajwanshi等人1999Chem.Commun.[化学通讯]1395-1396;Schultz等人1996Nucleic Acids Res.[核酸研究]24:2966;Seth等人2009J.Med.Chem.[药物化学杂志]52:10-13;Seth等人2010J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:8309-8318;Seth等人2010J.Org.Chem.[有机化学杂志]75:1569-1581;Seth等人2012Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]22:296-299;Seth等人2012Mol.Ther-Nuc.Acids.[分子疗法-核酸]1,e47;Seth,Punit P;Siwkowski,Andrew;Allerson,Charles R;Vasquez,Guillermo;Lee,Sam;Prakash,Thazha P;Kinberger,Garth;Migawa,Michael T;Gaus,Hans;Bhat,Balkrishen;等人,来自Nucleic Acids Symposium Series[核酸研讨会丛刊](2008),52(1),553-554;Singh等人1998Chem.Comm.[化学通讯]1247-1248;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:10035-39;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:6078-6079;Sorensen 2003Chem.Comm.[化学通讯]2130-2131;Ts'o等人Ann.N.Y.Acad.Sci.[纽约科学院年刊]1988,507,220;Van Aerschot等人 1995 Angew.Chem. Int. Ed. Engl.[应用化学英文国际版] 34: 1338;Vasseur等人 J. Am. Chem. Soc.[美国化学学会杂志] 1992, 114, 4006;WO 2007090071;或WO 2016/079181。

[0741] 在一些实施例中,寡核苷酸包含在以下任一文献中描述的经修饰的核碱基、核苷或核苷酸:Feldman等人2017J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]139:11427-11433,Feldman等人2017Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]114:E6478-E6479,Hwang等人2009Nucl.Acids Res.[核酸研究]37:4757-4763,Hwang等人2008J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]130:14872-14882,Lavergne等人2012Chem.Eur.J.[欧洲化学杂志]18:1231-1239,Lavergne等人2013J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]135:5408-5419,Ledbetter等人2018J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]140:758-765,Malyshv等人2009J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]131:14620-14621,Seo等人2009Chem.Bio.Chem.[化学生物化学]10:2394-2400,例如d3FB、d2Py类似物、d2Py、d3MPy、d4MPy、d5MPy、d34DMPy、d35DMPy、d45DMPy、d5FM、d5PrM、d5SICS、dFEM0、dMM02、dNaM、dNM01、dTPT3;具有2'-叠氮基糖、2'-氨基糖、2'-氨基糖或阿拉伯糖的核苷酸;异喹诺酮核苷酸、萘基核苷酸及氮杂吡啶核苷酸;以及其修饰及衍生物及官能化形式,例如其中糖包含2'修饰和/或其他修饰的那些,以及具有间氯、间溴、间碘、间甲基或间丙炔基取代基的dMM02衍生物。

[0742] 在一些实施例中,核碱基包含至少一个任选地经取代的环,该环包含杂原子环原子。在一些实施例中,核碱基包含至少一个任选地经取代的环,该环包含氮环原子。在一些实施例中,这样的环是芳香族的。在一些实施例中,核碱基通过杂原子键合至糖。在一些实施例中,核碱基通过氮原子键合至糖。在一些实施例中,核碱基通过环氮原子键合至糖。

[0743] 在一些实施例中,寡核苷酸包含如下描述的核碱基或经修饰的核碱基:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/

237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的碱基和经修饰的核碱基独立地通过援引并入本文。

[0744] 在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的嘌呤碱基残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的嘌呤碱基残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的腺嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的腺嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的鸟嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的鸟嘌呤残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的胸腺嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的胸腺嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的尿嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的尿嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是任选地经取代的5-甲基胞嘧啶残基。在一些实施例中,核碱基是被保护的5-甲基胞嘧啶残基。

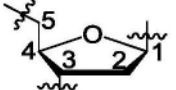
[0745] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含例如在以下文献中描述的经修饰的核碱基:US 5552540、US 6222025、US 6528640、US 4845205、US 5681941、US 5750692、US 6015886、US 5614617、US 6147200、US 5457187、US 6639062、US 7427672、US 5459255、US 5484908、US 7045610、US 3687808、US 5502177、US 5525711 6235887、US 5175273、US 6617438、US 5594121、US 6380368、US 5367066、US 5587469、US 6166197、US 5432272、US 7495088、US 5134066或US 5596091。在一些实施例中,核碱基描述于WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中,并且可以根据本披露使用。

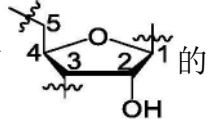
[0746] 在一些实施例中,核碱基是如用于寡核苷酸制备中的被保护的碱基残基。在一些实施例中,核碱基是在US 2011/0294124、US 2015/0211006、US 2015/0197540、WO 2015/107425、WO 2017/192679、WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858中展示的碱基残基,其各自的碱基残基独立地通过援引并入本文。

### 糖

[0747] 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。

[0748] 最常见的天然存在的核苷包括连接到核碱基腺苷(A)、胞嘧啶(C)、鸟嘌呤(G)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)的核糖(例如,在RNA中)或脱氧核糖(例如,在DNA中)。在一些实施例中,糖,例如表1中的许多寡核苷酸中的各种糖(除非另外说明),是DNA核酸或寡核苷酸中的

天然DNA糖,其具有  的结构,其中核碱基连接到1'位并且3'和5'位连接到核苷酸间键联(如本领域技术人员所理解的,如果在寡核苷酸的5'末端,则5'位可以连接到5'末端基团(例如,-OH),并且如果在寡核苷酸的3'末端,则3'位可以连接到3'末端基团(例如,-

OH)。在一些实施例中,糖是在RNA核酸或寡核苷酸中的天然RNA糖,其具有  的

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

[0749] 尤其是,本披露展示了可根据本披露使用各种非天然RNA糖,例如天然DNA糖、各种经修饰的糖等。例如,在不同位置可以耐受一个或多个天然DNA糖。在一些实施例中,掺入一个或多个天然DNA糖提供增加的编辑水平,或增加的ADAR1(p110、p150或两者)、ADAR2或两者的编辑水平。在一些实施例中,改进了ADAR1的编辑。在一些实施例中, $N_{-3}$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_1$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_7$ 、 $N_8$ 、 $N_{10}$ 、 $N_{12}$ 、 $N_{13}$ 、 $N_{14}$ 、 $N_{15}$ 、 $N_{16}$ 、 $N_{17}$ 、 $N_{18}$ 、 $N_{20}$ 和 $N_{21}$ 中的一个或多个糖独立地是天然DNA糖(- (例如, $N_{-1}$ ):从 $N_0$ 开始计数到寡核苷酸的3'末端;+或只有数字(例如 $N_1$ ):从 $N_0$ 开始计数到寡核苷酸的5'末端;每个 $N_{NZ}$ 独立地是核苷,其中NZ是来自例如约-100、-90、-80、-70、-60、-50、-40、-30、-20、-10、-9、-8、-7、-6、-5、-4等的整数)。在一些实施例中, $N_{-3}$ 、 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 、 $N_1$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_7$ 、 $N_8$ 、 $N_{10}$ 、 $N_{12}$ 、 $N_{13}$ 、 $N_{14}$ 、 $N_{15}$ 、 $N_{16}$ 、 $N_{17}$ 、 $N_{18}$ 、 $N_{20}$ 和 $N_{21}$ 中的一个或多个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 、 $N_5$ 、 $N_{11}$ 、 $N_{12}$ 和 $N_{20}$ 中的一个或多个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{-1}$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_0$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_1$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_5$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{11}$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中, $N_{12}$ 的糖是天然DNA糖。在一些实施例中,经修饰的糖在一个或多个位置处是耐受的。在一些实施例中,在一个或多个位置或大多数位置使用2'-修饰的糖,例如2'-F和/或2'-OR修饰的糖,其中R任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基(例如,甲基)。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外的一个或多个或大多数或所有位置使用经修饰的糖。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外中的一个或多个或大多数或所有位置使用2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基(例如,甲基)。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外的一个或多个或大多数或所有位置使用经修饰的糖并且5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'中使用一个或多个2'-F修饰的糖、天然DNA糖和/或天然RNA糖。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外的一个或多个或大多数或所有位置使用经修饰的糖,并且5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,天然DNA糖或天然RNA糖。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外的一个或多个或大多数或所有位置使用经修饰的糖,并且5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'的每个糖独立地是2'-F修饰的糖或天然DNA糖。在一些实施例中,在5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'外的一个或多个或大多数或所有位置使用经修饰的糖,并且5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'的每个糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,修饰的糖,例如2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基)提供增加的编辑水平,或增加的ADAR1(p110、p150或两者)、ADAR2或两者的编辑水平。在一些实施例中,改进了ADAR2的编辑。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖(例如LNA糖、cEt糖等)。在一些实施例中,双环糖可用于其中使用2'-OR糖的一个或多个或所有位置,其中R为任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。在一

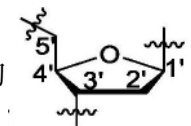
些实施例中,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,大多数是至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99% (例如55%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、51%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%等。

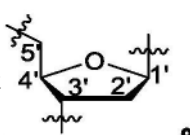
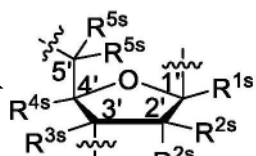
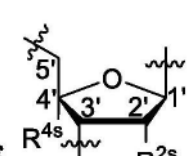
[0750] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第一结构域的最前几个(例如,1-10个、1个、2个、3个、4个或5个等)(除非另有规定,否则从5'末端开始)糖中的一个或多个(例如,1-10个、1个、2个、3个、4个或5个等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最前几个糖中的每一个独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第一结构域的最前一个、两个或三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最前一个糖是经修饰的糖。在一些实施例中,最前两个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最前三个糖独立地是经修饰的糖(例如,WV-27458)。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0751] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第二结构域或第三子结构域的最后几个(例如,1-10、1、2、3、4或5个等)(除非另有说明,从5'末端开始)糖中的一个或多个(例如,1-10个、1个、2个、3个、4个或5个等)独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后几个糖中的每一个独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或第二结构域或第三子结构域的最后两个或三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后的糖是经修饰的糖。在一些实施例中,最后两个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后三个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,最后四个糖独立地是经修饰的糖(例如,WV-27458)。在一些实施例中,经修饰的糖是双环糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

[0752] 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至糖的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。

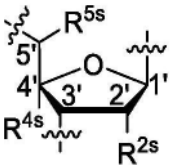
[0753] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的天然DNA或RNA糖。在一些实施例中,糖是任

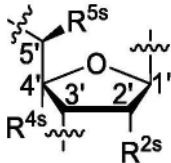
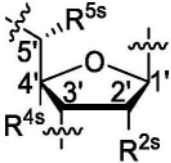
选地经取代的  在一些实施例中,2'位置是任选地经取代的。在一些实施例

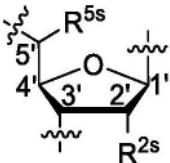
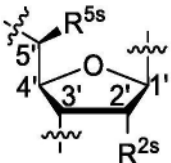
中,糖是  在一些实施例中,糖具有  或  的结构,

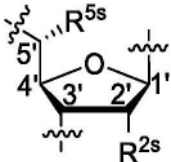
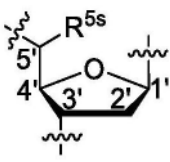
其中R<sup>1s</sup>、R<sup>2s</sup>、R<sup>3s</sup>、R<sup>4s</sup>和R<sup>5s</sup>各自独立地是-H、合适的取代基或合适的糖修饰(例如,US

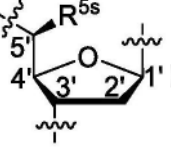
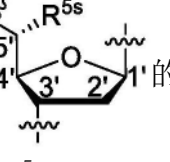
9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858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独立地通过援引并入本文)。在一些实施例中, $R^{1s}$ 、 $R^{2s}$ 、 $R^{3s}$ 、 $R^{4s}$ 和 $R^{5s}$ 各自独立地是 $R^s$ ,其中每个 $R^s$ 独立地是-F、-Cl、-Br、-I、-CN、-N<sub>3</sub>、-NO、-NO<sub>2</sub>、-L<sup>s</sup>-R'、-L<sup>s</sup>-OR'、-L<sup>s</sup>-SR'、-L<sup>s</sup>-N(R')<sub>2</sub>、-O-L<sup>s</sup>-OR'、-O-L<sup>s</sup>-SR'、或-O-L<sup>s</sup>-N(R')<sub>2</sub>,其中每个R'独立地如本文所述,并且每个L<sup>s</sup>独立地是共价键或任选地经取代的二价C<sub>1-6</sub>脂肪族基或具有1至4个杂原子的杂脂肪族基;或两个R<sup>s</sup>合在一起形成桥-L<sup>s</sup>。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>

脂肪族基。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,糖具有

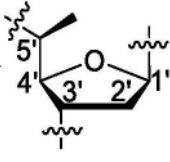
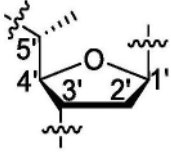
 的结构。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,糖具

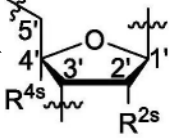
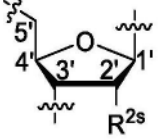
有  的结构。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,糖

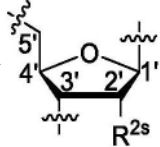
具有  的结构。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,

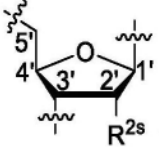
糖具有  的结构。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,

$R^{5s}$ 是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中, $R^{5s}$ 是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中, $R^{5s}$ 是任选地经取代的甲基。在一些实施例中, $R^{5s}$ 是甲基。在一些实施例中,糖

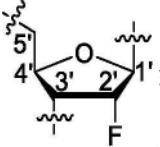
具有  的结构。在一些实施例中,糖具有  的结构。在一些实施例中,糖

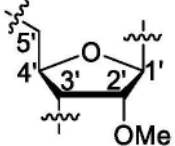
具有  的结构。表1中使用了多种这样的糖。在一些实施例中,糖具有  的结构。

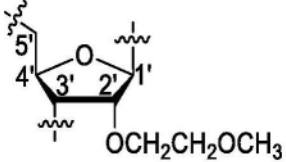
的结构。在一些实施例中，2'-修饰的糖具有  的结构，其中R<sup>2s</sup>是2'-修饰。在一些

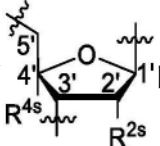
实施例中，糖具有  的结构，其中R<sup>2s</sup>是-H、卤素或-OR，其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>

脂肪族基。在一些实施例中，R<sup>2s</sup>是-H。在一些实施例中，R<sup>2s</sup>是-F。在一些实施例中，R<sup>2s</sup>是-OMe。在一些实施例中，经修饰的核苷是mA、mT、mC、m5mC、mG、mU等，其中R<sup>2s</sup>是-OMe。在一些实施例中，R<sup>2s</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe。在一些实施例中，经修饰的核苷是Aeo、Teo、Ceo、m5Ceo、Geo、Ueo等，其中R<sup>2s</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe。在一些实施例中，R<sup>2s</sup>是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH。在一些实施例中，寡核苷酸包

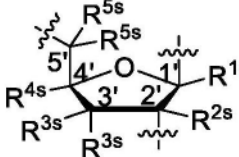
含具有  结构的2'-F修饰的糖（例如，如在fA、fT、fC、f5mC、fG、fU等中）。在一些实

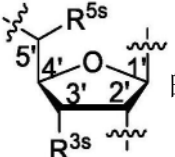
施例中，寡核苷酸包含具有  结构的2'-OMe修饰的糖（例如，如在mA、mT、mC、

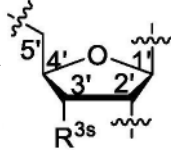
m5mC、mG、mU等中）。在一些实施例中，寡核苷酸包含具有  结构的2'-MOE  
修饰的糖（例如，如在Aeo、Teo、Ceo、m5Ceo、Geo、Ueo等中）。

[0754] 在一些实施例中，糖具有  的结构，其中R<sup>2s</sup>和R<sup>4s</sup>合在一起形成-L<sup>s</sup>-，其中

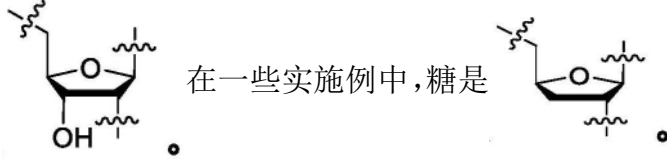
L<sup>s</sup>是共价键或任选地经取代的二价C<sub>1-6</sub>脂肪族基或具有1至4个杂原子的杂脂肪族基。在一些实施例中，每个杂原子独立地选自氮、氧或硫。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是任选地经取代的C2-O-CH<sub>2</sub>-C4。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是C2-O-CH<sub>2</sub>-C4。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是C2-O-(R)-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-C4。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是C2-O-(S)-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-C4。

[0755] 在一些实施例中，糖具有  的结构，其中每个变量独立地如本文

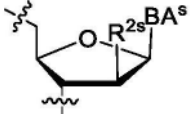
所述。在一些实施例中，糖具有  的结构，其中每个变量独立地如本文所述。在一

些实施例中,  $R^{5s}$  是 -H。在一些实施例中, 糖具有  的结构, 其中每个变量独立地如

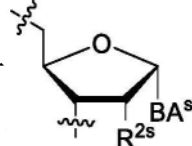
本文所述。在一些实施例中,  $R^{3s}$  是 -OH。在一些实施例中,  $R^{3s}$  是 -H。在一些实施例中, 糖是



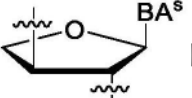
[0756] 在一些实施例中, 糖是

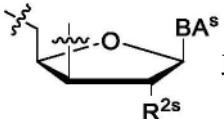
[0757] 在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构,

其中  $BA^s$  是 -H 或任选地经取代的或被保护的核碱基 (例如, BA), 并且  $R^{2s}$  如本文所述。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -OH、卤素或任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $BA^s$  是 -H。在一些实施例中,  $BA^s$  是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,  $BA^s$  是 BA。在一些实施

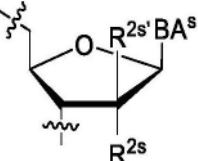
例中,  $R^{2s}$  是 -F。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结

构, 其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -H、-OH、卤素或任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -H。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -F。在一些实施例中, 包含

经修饰的糖的核苷具有  的结构, 其中每个变量如本文所述。在一些实施例中,

包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中每个变量独立地如本

文所述。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -H、-OH、卤素或任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -H。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -F。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有

 或其盐形式的结构, 其中  $R^{2s'}$  是  $R^s$ , 并且  $R^s$ 、 $R^{2s}$  和  $BA^s$  各自独立地如本文所述。

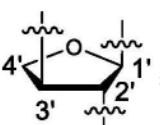
在一些实施例中,  $R^{2s}$  和  $R^{2s'}$  各自独立地是 -H、-OH、卤素或任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -H。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -OH。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是卤素。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是 -F。在一些实施例中,  $R^{2s}$  是任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $R^{2s'}$  是 -H。在一些实施例中,  $R^{2s'}$  是 -OH。在一些实施例中,  $R^{2s'}$  是卤素。在一些实施例中,  $R^{2s'}$  是 -F。在一些实施例中,  $R^{2s'}$  是任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施例中,  $BA^s$  是 -H。在一些实施例中,  $BA^s$  是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,  $BA^s$  是 BA。在一些实施

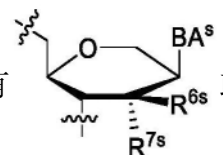
例中,核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。某些这样的包含糖和核碱基的核苷及其用途在WO 2020/154342中描述。在一些实施例中,寡核苷酸包含阿拉伯糖苷、2'-脱氧-2'-氟-阿拉伯糖苷、2'-OR阿拉伯糖苷、脱氧胞苷、DNA-无碱基、RNA-无碱基或2'-OR无碱基,其中R不是氢(例如,任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)。在一些实施例中,2'-OR是2'-OMe。在一些实施例中,2'-OR是2'-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸包含2'-O-甲基-阿拉伯胞苷(amC)。在一些实施例中,寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中,单体包含这样的核苷。在一些实施例中,亚磷酰胺包含这样的核苷(在一些实施例中,一个连接位点(例如,-CH<sub>2</sub>-连接位点)键合至任选地经取代的-OH,例如,(-ODMTTr),并且一个连接位点(例如,环连接位点)键合至也键合至亚磷酰胺的P的O)。在一些实施例中,5'紧邻核苷(例如,N<sub>1</sub>)、相对的核苷(N<sub>0</sub>)和3'紧邻核苷(例如,N<sub>1</sub>)中的一个或多个或每一个独立地是这种核

苷。在一些实施例中,5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>-3'是amCCA。在一些实施例中,糖具有的结构,

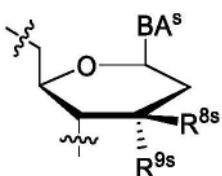
其中每个变量如本文所述并且C1'与核碱基键合。在一些实施例中,糖是阿拉伯糖。在一些

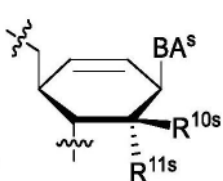
实施例中,糖具有的结构,其中C1'与核碱基键合。

[0758] 在一些实施例中,糖是,其中核碱基在位置1'键合。

[0759] 在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形式的结构,

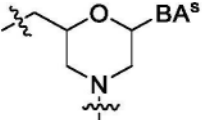
其中R<sup>6s</sup>和R<sup>7s</sup>各自独立地是R<sup>s</sup>,BA<sup>s</sup>是-H或任选地经取代的或被保护的核碱基(例如,BA),并且R<sup>s</sup>独立地如本文所述。在一些实施例中,R<sup>6s</sup>是-H、-OH或卤素,并且R<sup>7s</sup>是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基。在一些实施例中,BA<sup>s</sup>是-H。在一些实施例中,BA<sup>s</sup>是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,BA<sup>s</sup>是BA。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核

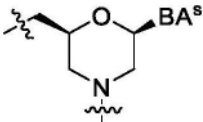
苷具有或其盐形式的结构,其中R<sup>8s</sup>和R<sup>9s</sup>各自独立地是R<sup>s</sup>,并且R<sup>s</sup>和BA<sup>s</sup>各自

独立地如本文所述。在一些实施例中,R<sup>8s</sup>是-H或卤素,并且R<sup>9s</sup>是-H、-OH、卤素或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷氧基。在一些实施例中,包含经修饰的糖的核苷具有或其盐形

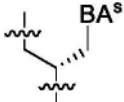
式的结构,其中R<sup>10s</sup>和R<sup>11s</sup>各自独立地是R<sup>s</sup>,并且R<sup>s</sup>和BA<sup>s</sup>各自独立地如本文所述。在一些实施

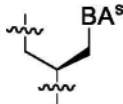
例中,  $R^{10s}$  是-H或卤素, 并且  $R^{11s}$  是-H、-OH、卤素或任选地经取代的  $C_1-C_6$  烷氧基。在一些实施

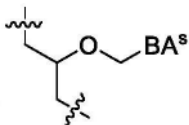
例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中  $BA^s$  如本文所述。

在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中  $BA^s$  如

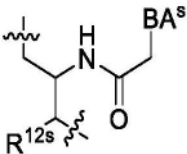
本文所述。本领域技术人员理解, 在一些实施例中, 氮可以直接键合至键联磷。在一些实施例中, 卤素是-F。在一些实施例中,  $BA^s$  是-H。在一些实施例中,  $BA^s$  是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中,  $BA^s$  是BA。在一些实施例中, 核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。在一些实施例中, 寡核苷酸包含  $\alpha$ -homo-DNA、 $\beta$ -homo-DNA 部分。某些这样的包含糖和核碱基的核苷及其用途在W0 2020/154343中描述。在一些实施例中, 寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中, 单体包含这样的核苷。在一些实施例中, 亚磷酰胺包含这样的核苷(在一些实施例中, 一个连接位点(例如,  $-CH_2-$  连接位点)键合至任选地经取代的-OH, 例如-ODMTTr, 并且一个连接位点(例如, 环连接位点)键合至亚磷酰胺的P(例如, 当连接环原子是N时)或键合至也键合至亚磷酰胺的P的O(例如, 当连接环原子是C时))。在一些实施例中, 5' 紧邻核苷(例如,  $N_1$ )、相对的核苷( $N_0$ ) 和3' 紧邻核苷(例如,  $N_{-1}$ ) 中的一个或多个或每一个独立地是这种核苷。

[0760] 在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中

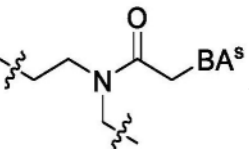
各变量如本文所述。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的

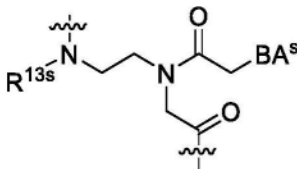
结构, 其中各变量如本文所述。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有 

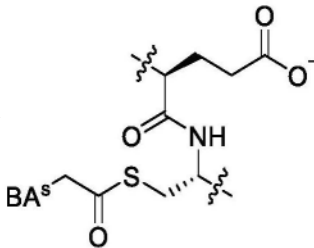
或其盐形式的结构, 其中各变量如本文所述。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有

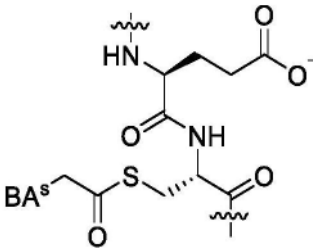
 或其盐形式的结构, 其中  $R^{12s}$  是  $R^s$ , 并且  $R^s$  和  $BA^s$  各自独立地如本文所述。在一

些实施例中,  $R^{12s}$  是-H、-OH、卤素、任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基、任选地经取代的  $C_{1-6}$  杂烷基或任

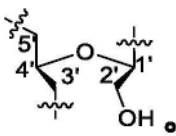
选地经取代的  $C_{1-6}$  烷氧基。在一些实施例中, 卤素是-F。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中各变量如本文所述。在一些实施例中,

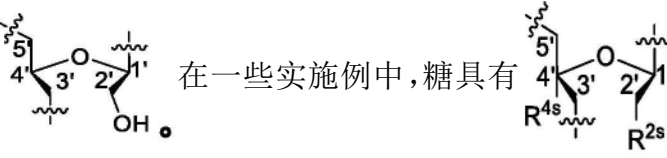
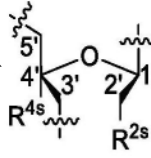
包含经修饰的糖的核苷酸具有  或其盐形式的结构, 其中R<sup>13s</sup>是R<sup>s</sup>, 并且R<sup>s</sup>和BA<sup>s</sup>各自独立地如本文所述。在一些实施例中, R<sup>13s</sup>是-H或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。

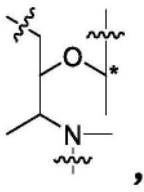
在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷具有  或其盐形式的结构, 其中各变量如本文所述。在一些实施例中, 包含经修饰的糖的核苷酸具有

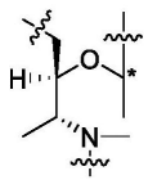
 或其盐形式的结构, 其中每个变量如本文所述。在一些实施例中, 键联是酰胺键联。在一些实施例中, BA<sup>s</sup>是-H。在一些实施例中, BA<sup>s</sup>是任选地经取代的或被保护的核碱基。在一些实施例中, BA<sup>s</sup>是BA。在一些实施例中, 核碱基诸如BA任选地经取代的或被保护以用于寡核苷酸合成。某些这样的包含糖和核碱基的核苷和核苷酸及其用途在W0 2020/154344中描述。在一些实施例中, 寡核苷酸包含这样的核苷。在一些实施例中, 寡核苷酸包含这样的核苷(在一些实施例中, 一个连接位点(例如, -CH<sub>2</sub>-连接位点)键合至任选地经取代的-OH, 例如, (-ODMTr), 并且一个连接位点(例如, 环连接位点)键合至也键合至亚磷酸酰胺的P的O)。在一些实施例中, 5'紧邻核苷(例如, N<sub>1</sub>)、相对的核苷(N<sub>0</sub>)和3'紧邻核苷(例如, N<sub>-1</sub>)中的一个或多个或每一个独立地是这种核苷。

[0761] 在一些实施例中, 糖是无环糖, 例如UNA糖。在一些实施例中, 糖是任选地经取代的

 在一些实施例中, 2'位置是任选地经取代的。在一些实施例中, 糖是

 在一些实施例中, 糖具有  的结构。在一些实施例中, R<sup>2s</sup>是-OH。在一

些实施例中, 糖是  其中“\*”表示与核碱基键合的碳原子。在一些实施例中, 糖是



其中“\*”表示与核碱基键合的碳原子。在一些实施例中，碳原子与核碱基的氮原

子键合并并且具有R构型(例如, sm18)。在一些实施例中，寡核苷酸包含本文所述的糖。

[0762] 在一些实施例中，糖不通过5'和3'位置连接。本领域技术人员理解，对于这样的糖，5'可以指朝向寡核苷酸的5'末端的侧/方向，3'可以指朝向寡核苷酸的3'末端的侧/方向。

[0763] 在一些实施例中， $R^{1s}$ 、 $R^{2s}$ 、 $R^{3s}$ 、 $R^{4s}$ 和 $R^{5s}$ 各自独立地是 $R^s$ ，其中 $R^s$ 独立地是-H、卤素、-CN、-N<sub>3</sub>、-NO、-NO<sub>2</sub>、-L<sup>s</sup>-R'、-L<sup>s</sup>-Si(R')<sub>3</sub>、-L<sup>s</sup>-OR'、-L<sup>s</sup>-SR'、-L<sup>s</sup>-N(R')<sub>2</sub>、-O-L<sup>s</sup>-R'、-O-L<sup>s</sup>-Si(R')<sub>3</sub>、-O-L<sup>s</sup>-OR'、-O-L<sup>s</sup>-SR'或-O-L<sup>s</sup>-N(R')<sub>2</sub>；其中L<sup>s</sup>是如本文所述的L<sup>B</sup>，并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $R^{1s}$ 和 $R^{2s}$ 各自独立地是 $R^s$ 。在一些实施例中， $R^s$ 是-H。在一些实施例中， $R^s$ 不是-H。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是共价键。在一些实施例中， $R^{2s}$ 和 $R^{4s}$ 各自独立地是-H、-F、-OR、-N(R)<sub>2</sub>。在一些实施例中， $R^{2s}$ 是-H、-F、-OR、-N(R)<sub>2</sub>。在一些实施例中， $R^{4s}$ 是-H。在一些实施例中， $R^{2s}$ 和 $R^{4s}$ 形成2'-O-L<sup>s</sup>-，其中L<sup>s</sup>是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>亚烷基。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。在一些实施例中，L<sup>s</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。

[0764] 在一些实施例中，R是氢。在一些实施例中，R不是氢。在一些实施例中，R是选自以下的任选地经取代的基团：C<sub>1-10</sub>脂肪族基、具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷及硅的杂原子的C<sub>1-10</sub>杂脂肪族基、C<sub>6-20</sub>芳基、具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷及硅的杂原子的5元至20元杂芳环以及具有1-10个独立地选自氧、氮、硫、磷及硅的杂原子的3元至20元杂环。

[0765] 在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-30</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-15</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中，R是任选地经取代的己基、戊基、丁基、丙基、乙基或甲基。在一些实施例中，R是任选地经取代的己基。在一些实施例中，R是任选地经取代的戊基。在一些实施例中，R是任选地经取代的丁基。在一些实施例中，R是任选地经取代的丙基。在一些实施例中，R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中，R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中，R是己基。在一些实施例中，R是戊基。在一些实施例中，R是丁基。在一些实施例中，R是丙基。在一些实施例中，R是乙基。在一些实施例中，R是甲基。在一些实施例中，R是异丙基。在一些实施例中，R是正丙基。在一些实施例中，R是叔丁基。在一些实施例中，R是仲丁基。在一些实施例中，R是正丁基。在一些实施例中，R是-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>。

[0766] 在一些实施例中，R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中，R是苯基。

[0767] 在一些实施例中， $R^{2s}$ 是如本披露中所述的2'-修饰，并且 $R^{4s}$ 是-H。在一些实施例中， $R^{2s}$ 是-OR，其中R不是氢。在一些实施例中， $R^{2s}$ 是-F。在一些实施例中， $R^{2s}$ 是-OMe。在一些实施例中， $R^{2s}$ 是-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>，例如在表1中使用的各种X<sub>eo</sub>中(X是m5C、T、G、A等)。在一些实施例中， $R^{2s}$ 选自-H、-F和-OR，其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中， $R^{2s}$ 选自-H、-F和-OMe。

[0768] 在一些实施例中，糖是双环糖，例如其中 $R^{2s}$ 和 $R^{4s}$ 形成如本披露中所述的任选地经

取代的环的糖。在一些实施例中,糖选自LNA糖、BNA糖、cEt糖等。在一些实施例中,桥在2'碳原子与4'碳原子之间(对应于 $R^{2s}$ 和 $R^{4s}$ 与居于它们之间的原子合在一起形成如本文所述的任选地经取代的环)。在一些实施例中,桥是 $2'-L^a-L^b-4'$ ,其中 $L^a$ 是 $L^a$ 是 $-O-$ 、 $-S-$ 或 $N(R)$ ,并且 $L^b$ 是任选地经取代的 $C_{1-4}$ 二价脂肪族链,例如亚甲基。

[0769] 在一些实施例中,糖是 $2'-OMe$ 、 $2'-MOE$ 、 $2'-F$ 、LNA(锁核酸)糖、ENA(乙烯桥核酸)糖、BNA(NMe)(甲氨基桥核酸)糖、 $2'-F$  ANA( $2'-F$ 阿拉伯糖)、 $\alpha$ -DNA( $\alpha$ -D-核糖)、 $2'/5'$  ODN(例如, $2'/5'$ 连接的寡核苷酸)、Inv(转化糖、例如转化脱氧核糖)、AmR(氨基-核糖)、ThioR(硫代-核糖)、HNA(己糖核酸)、CeNA(环己烯核酸)或MOR(吗啉代)糖。

[0770] 本领域技术人员在阅读本披露内容后将理解,多种类型的糖修饰是已知的并且可以根据本披露内容使用。在一些实施例中,糖修饰是 $2'$ -修饰(例如, $R^{2s}$ )。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-F$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-OR$ ,其中 $R$ 不是氢。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-OR$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-OR$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-OMe$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-MOE$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $-O-L^b$ -或 $-L^b-L^b-$ ,其将糖部分的 $2'$ -碳连接到糖部分的另一个碳。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $2'-O-L^b-4'$ 或 $2'-L^b-L^b-4'$ ,其将糖部分的 $2'$ -碳连接到糖部分的 $4'$ -碳。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $S-cEt$ 。在一些实施例中,经修饰的糖是LNA糖。在一些实施例中, $-L^b-$ 是 $-C(R)_2-$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-C(R)_2-C4)$ ,其中每个 $R$ 独立地如本披露中所述。在一些实施例中, $2'$ -修饰是LNA糖修饰 $(C2-O-CH_2-C4)$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 如本披露中所述。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(R)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 如本披露中所述并且不是氢。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(S)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 如本披露中所述并且不是氢。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是未取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是甲基。在一些实施例中, $R$ 是乙基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是甲基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是乙基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(R)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(R)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(R)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是甲基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(R)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是乙基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(S)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(S)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(S)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是甲基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $(C2-O-(S)-CHR-C4)$ ,其中 $R$ 是乙基。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $C2-O-(R)-CH(CH_2CH_3)-C4$ 。在一些实施例中, $2'$ -修饰是 $C2-O-(S)-CH(CH_2CH_3)-C4$ 。在一些实施例中,糖是天然DNA糖。在一些实施例中,糖是天然RNA糖。在一些实施例中,糖是任选地经取代的天然DNA糖。在一些实施例中,糖是任选地在 $2'$ 取代的天然DNA糖。在一些实施例中,糖是在 $2'$ 取代的天然DNA糖( $2'$ -修饰)。在一些实施例中,糖是在 $2'$ 修饰的天然DNA糖( $2'$ -修饰)。

[0771] 在一些实施例中,糖是任选地经取代的核糖或脱氧核糖。在一些实施例中,糖是任选地经修饰的核糖或脱氧核糖,其中该核糖或脱氧核糖部分的一个或多个羟基任选且独立

地被卤素、R'、-N(R')<sub>2</sub>、-OR'或-SR'代替,其中每个R'如本文所述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位是任选地经取代的。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被卤素、R'、-N(R')<sub>2</sub>、-OR'或-SR'取代,其中每个R'独立地在本披露中描述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位是任选地被卤素取代的。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被一个或多个-F取代。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-OR'取代,其中每个R'独立地在本披露中描述。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-OR'取代,其中每个R'独立地是任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-OR'取代,其中每个R'独立地是任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>烷基。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-OMe取代。在一些实施例中,糖是任选地经取代的脱氧核糖,其中脱氧核糖的2'位任选地被-O-甲氧基乙基取代。

[0772] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个天然糖。

[0773] 双环糖的实例包括 $\alpha$ -L-亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA、 $\beta$ -D-亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') LNA、亚乙基氧基(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2') LNA、氨基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') LNA和氧氨基(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') LNA的糖。在一些实施例中,双环糖,例如LNA或BNA糖,是在两个糖碳之间具有至少一个桥的糖。在一些实施例中,核苷中的双环糖可以具有 $\alpha$ -L-呋喃核糖或 $\beta$ -D-呋喃核糖的立体化学构型。

[0774] 在一些实施例中,双环糖可以通过异构体构型进一步定义。例如,包含4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'桥的糖可以呈 $\alpha$ -L构型或 $\beta$ -D构型。在一些实施例中,4'至2'桥是-L-4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'、 $\beta$ -D-4'-CH<sub>2</sub>-O-2'、4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'、4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R')-2'、4'-CH<sub>2</sub>-N(R')-O-2'、4'-CH(R')-O-2'、4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'、4'-CH<sub>2</sub>-S-2'、4'-CH<sub>2</sub>-N(R')-2'、4'-CH<sub>2</sub>-CH(R')-2'、4'-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-2'和4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2',其中每个R'如本披露中所述。在一些实施例中,R'是-H、保护基或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基。在一些实施例中,R'是-H或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基。

[0775] 在一些实施例中,双环糖是 $\alpha$ -L-亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA、 $\beta$ -D-亚甲基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-2') BNA、亚乙基氧基(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2') BNA、氨基氧基(4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R)-2') BNA、氧氨基(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2') BNA、甲基(亚甲基氧基)(4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2') BNA(也称为受限制的乙基或cEt)、亚甲基-硫基(4'-CH<sub>2</sub>-S-2') BNA、亚甲基-氨基(4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-2') BNA、甲基碳环(4'-CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-2') BNA、亚丙基碳环(4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-2') BNA或乙烯基BNA的糖。

[0776] 在一些实施例中,糖修饰是US 9006198中描述的修饰。在一些实施例中,经修饰的糖在US 9006198中描述。在一些实施例中,糖修饰是在US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO2021/071858中描述的修饰,其各自的糖修饰和经修饰的糖独立地通过援引并入。

[0777] 在一些实施例中,经修饰的糖是以下中描述的一种:US 5658873、US 5118800、US 5393878、US 5514785、US 5627053、US 7034133;7084125、US 7399845、US 5319080、US 5591722、US 5597909、US 5466786、US 6268490、US 6525191、US 5519134、US 5576427、US 6794499、US 6998484、US 7053207、US 4981957、US 5359044、US 6770748、US 7427672、US 5446137、US 6670461、US 7569686、US 7741457、US 8022193、US 8030467、US 8278425、US 5610300、US 5646265、US 8278426、US 5567811、US 5700920、US 8278283、US 5639873、US 5670633、US 8314227、US 2008/0039618、US 2009/0012281、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376。

[0778] 在一些实施例中,糖修饰是2'-OMe、2'-MOE、2'-LNA、2'-F、5'-乙烯基或S-cEt。在一些实施例中,经修饰的糖是FRNA糖、FANA糖或吗啉代糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含核酸类似物,例如GNA、LNA、PNA、TNA、F-HNA(F-THP或3'-氟四氢吡喃)、MNA(甘露醇核酸,例如Leumann 2002Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学杂志]10:841-854)、ANA(安尼妥(anitol)核酸)或吗啉代或其一部分。在一些实施例中,糖如在柔性核酸或丝氨酸核酸中。在一些实施例中,糖修饰用另一个环状或无环状部分代替天然糖。这样的部分的实例在本领域中是众所周知的,例如用于吗啉代、二醇核酸等中的那些,并且可以根据本披露使用。如本领域技术人员所理解的,当与经修饰的糖一起使用时,在一些实施例中,核苷酸间键联可以被修饰,例如,如在吗啉代、PNA等中。在一些实施例中,糖是(R)-GNA糖。在一些实施例中,糖是(S)-GNA糖。在一些实施例中,具有GNA糖的核苷用作 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和/或 $N_1$ 。在一些实施例中, $N_0$ 是具有GNA糖的核苷。在一些实施例中,糖是双环糖。在一些实施例中,糖是LNA糖。在一些实施例中,糖是无环糖。在一些实施例中,糖是UNA糖。在一些实施例中,具有UNA糖的核苷用作 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和/或 $N_1$ 。在一些实施例中, $N_0$ 是具有UNA糖的核苷。在一些实施例中,核苷是无碱基的。在一些实施例中,无碱基糖用作 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和/或 $N_1$ 。在一些实施例中, $N_0$ 是具有无碱基糖的核苷。

[0779] 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。

[0780] 在一些实施例中,修饰的糖在2'位包含一个或多个取代基(通常是一个取代基,并且通常在轴向位置),其独立地选自-F; -CF<sub>3</sub>、-CN、-N<sub>3</sub>、-NO、-NO<sub>2</sub>、-OR'、-SR'、或-N(R')<sub>2</sub>,其中每个R'独立地描述于本披露中;-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-S-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、或-N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>;-O-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)、-S-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)、-NH-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)或-N(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)<sub>2</sub>;-O-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)、-S-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)、-NH-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)或-N(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)<sub>2</sub>;或-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)或-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、或-N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基),其中烷基、亚烷基、烯基和炔基各自独立且任选地经取代。在一些实施例中,取代基是-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OCH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>、MOE、DMAOE或DMAEOE,其中n是1至约10。在一些实施例中,经修饰的糖是以下中描述的经修饰的糖:WO 2001/088198;和Martin等人,Helv.Chim.Acta[瑞士化学学报],1995,78,486-504。在一些实施例中,经修饰的糖包含一个或多个选自以下的基团:经取代的甲硅烷基、切割RNA的基团、报告基团、荧光标记、嵌入剂、用于改善核酸的药

代动力学特性的基团、用于改善核酸的药效学特性的基团、或其他具有类似特性的取代基。在一些实施例中,在2'、3'、4'或5'位中的一个或多个上进行修饰,包括在3'末端核苷上的糖的3'位或在5'末端核苷的5'位。

[0781] 在一些实施例中,核糖的2'-OH被选自以下的基团替换:-H、-F;-CF<sub>3</sub>、-CN、-N<sub>3</sub>、-NO、-NO<sub>2</sub>、-OR'、-SR'、或-N(R')<sub>2</sub>,其中每个R'独立地描述于本披露中;-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-S-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、或-N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>;-O-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)、-S-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)、-NH-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)或-N(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>烯基)<sub>2</sub>;-O-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)、-S-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)、-NH-(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)或-N(C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>炔基)<sub>2</sub>;或-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)或-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-NH(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)<sub>2</sub>、-NH-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)、或-N(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基)-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>亚烷基)-O-(C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>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-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe替换。

[0782] 在一些实施例中,糖修饰是2'-修饰。通常使用的2'-修饰包括但不限于2'-OR,其中R不是氢并且如本披露中所述。在一些实施例中,修饰是2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,修饰是2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>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。

[0783] 在一些实施例中,糖修饰用另一个环状或无环状部分代替糖部分。这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。

[0784] 在一些实施例中,寡核苷酸的一个或多个糖被修饰。在一些实施例中,经修饰的糖包含2'-修饰。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地包含2'-修饰。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OR。在一些实施例中,2'-修饰是2'-OMe。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE。在一些实施例中,2'-修饰是LNA糖修饰。在一些实施例中,2'-修饰是2'-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-修饰。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F,其中至少一个是2'-F。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基,并且其中至少一个是2'-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F,其中至少一个是2'-F,并且至少一个是2'-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR或2'-F,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基,并且其中至少一个是2'-F,并且至少一个是2'-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR。在一些实施例中,每个糖修饰独立地是2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>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。

[0785] 经修饰的糖包括代替呋喃戊糖基糖的环丁基或环戊基部分。这样的经修饰的糖的代表性实例包括在US 4,981,957、US 5,118,800、US 5,319,080或US 5,359,044中描述的那些。在一些实施例中,核糖环内的氧原子被氮、硫、硒或碳代替。在一些实施例中,-O-被-N(R')<sub>2</sub>、-S-、-Se-或-C(R')<sub>2</sub>-代替。在一些实施例中,经修饰的糖是经修饰的核糖,其中核糖环内的氧原子被氮代替,并且其中氮任选地被烷基(例如,甲基、乙基、异丙基等)取代。

[0786] 经修饰的糖的非限制性实例是甘油,其是甘油核酸(GNA)的一部分,例如,如以下文献中所述:Zhang, R等人., J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志], 2008, 130, 5846-5847; Zhang L, 等人, J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志], 2005, 127, 4174-4175以及Tsai CH等人, PNAS [美国国家科学院院刊], 2007, 14598-14603中。

[0787] 柔性核酸(FNA)是基于甲酰甘油的混合乙缩醛缩醛胺,例如描述于Joyce GF等人, PNAS [美国国家科学院院刊], 1987, 84, 4398-4402以及Heuberger BD和Switzer C, J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志], 2008, 130, 412-413中。

[0788] 在一些实施例中,寡核苷酸和/或其经修饰的核苷包含在以下文献中描述的糖或经修饰的糖:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858, 其各自的糖和经修饰的糖独立地通过援引并入本文。

[0789] 在一些实施例中,糖中的一个或多个羟基基团任选地且独立地被卤素、R'-N(R')<sub>2</sub>、-OR'、或-SR'替换,其中每个R'独立地描述于本披露中。

[0790] 在一些实施例中,经修饰的核苷是在以下文献中描述的任何经修饰的核苷:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858, 其各自的经修饰的核苷独立地通过援引并入本文。

[0791] 在一些实施例中,糖修饰是5'-乙烯基(R或S)、5'-甲基(R或S)、2'-SH、2'-F、2'-OCH<sub>3</sub>、2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F或2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>20</sub>CH<sub>3</sub>。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、叠氨基、硫基、0-烯丙基、0-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、OCF<sub>3</sub>、OCH<sub>2</sub>F、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)、O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)和O-CH<sub>2</sub>-C(=O)-N(R<sub>1</sub>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>), 其中每个烯丙基、氨基和烷基任选地经取代,并且R<sub>1</sub>、R<sub>m</sub>和R<sub>n</sub>各自独立地是如本披露中所述的R'。在一些实施例中,R<sub>1</sub>、R<sub>m</sub>和R<sub>n</sub>各自独立地是-H或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基。

[0792] 在一些实施例中,双环糖在两个糖碳原子之间,例如在4'和2'核糖基环碳原子之间包含桥,例如-L<sup>b</sup>-L<sup>b</sup>-、-L-等。在一些实施例中,桥是4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2'(例如,LNA糖)、4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'、4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2'(例如,ENA糖)、4'-CH(R')-O-2'(例如,4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2'、4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2'和US 7399845中的实例等)、4'-CH(R')<sub>2</sub>-O-2'(例如,4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2'和WO 2009006478中的实例等)、4'-CH<sub>2</sub>-N(OR')-2'(例如,4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2'、WO 2008150729中的实例等)、4'-CH<sub>2</sub>-O-N(R')-2'(例如,4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2'、US 20040171570中的实例等)、4'-CH<sub>2</sub>-N(R')-O-2'[例如,其中R是-H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、或保护基(例如,参见US 7427672)]、4'-C(R')<sub>2</sub>-C(H)(R')-2'(例如,4'-CH<sub>2</sub>-C(H)(CH<sub>3</sub>)-2'、Chattopadhyaya等人, J. Org. Chem. [有机化学杂志], 2009, 74, 118-134等)或4'-C(R')<sub>2</sub>-C(=C(R')<sub>2</sub>)-2'(例如,

4'-CH<sub>2</sub>-C(=CH<sub>2</sub>)-2'、WO 2008154401中的实例等)。

[0793] 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(anitol)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。

[0794] 在一些实施例中,糖包含具有多于5个原子和/或多于一个杂原子的环,例如吗啉代糖,其在以下文献中描述:例如Braasch等人,Biochemistry[生物化学],2002,41,4503-4510;US 5698685;US 5166315;US 5185444;US 5034506;等等)。

[0795] 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。

[0796] 在一些实施例中,核苷具有代替天然存在的核苷中的呋喃戊糖基残基的六元环己烯基。示例环己烯基核苷及其制备和用途在以下文献中描述:例如WO 2010036696;Robeyns等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志],2008,130(6),1979-1984;Horvath等人,Tetrahedron Letters[四面体快报],2007,48,3621-3623;Nauwelaerts等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志],2007,129(30),9340-9348;Gu等人,Nucleosides,Nucleotides&Nucleic Acids[核苷、核苷酸与核酸],2005,24(5-7),993-998;Nauwelaerts等人,Nucleic Acids Research[核酸研究],2005,33(8),2452-2463;Robeyns等人,Acta Crystallographica,Section F:Structural Biology and Crystallization Communications[晶体学报,部分F:结构生物学与结晶通讯],2005,F61(6),585-586;Gu等人,Tetrahedron[四面体],2004,60(9),2111-2123;Gu等人,Oligonucleotides[寡核苷酸],2003,13(6),479-489;Wang等人,J.Org.Chem.[有机化学杂志],2003,68,4499-4505;Verbeure等人,Nucleic Acids Research[核酸研究],2001,29(24),4941-4947;Wang等人,J.Org.Chem.[有机化学杂志],2001,66,8478-82;Wang等人,Nucleosides,Nucleotides&Nucleic Acids[核苷、核苷酸与核酸],2001,20(4-7),785-788;Wang等人,J.Am.Chem.[美国化学杂志],2000,122,8595-8602;WO 2006047842;WO 2001049687;等等。

[0797] 许多单环、双环和三环环系适合作为糖代替物(经修饰的糖),并且可以根据本披露使用。参见例如Leumann,Christian J.Bioorg.&Med.Chem.[生物有机化学与医药化学杂志],2002,10,841-854。这样的环系可以进行多种另外的取代以进一步增强其特性和/或活性。

[0798] 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')<sub>2</sub>、任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>、任选地经取代的烯基或任选地经取代的炔基。在一些实施例中,2'-修饰选自-O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>F、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>C(=O)N(H)CH<sub>3</sub>和-O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>,其中每个n和m独立地是1至约10。在一些实施例中,2'-修饰是任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>烷基、任选地经取代的烯基、任选地经取代的炔基、任选地经取代的烷芳基、任选地经取代的芳烷基、任选地经取代的-O-烷芳基、任选地经取代的-O-芳烷基、-SH、-SCH<sub>3</sub>、-OCN、-Cl、-Br、-CN、-F、-CF<sub>3</sub>、-OCF<sub>3</sub>、-SOCH<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、-ONO<sub>2</sub>、-NO<sub>2</sub>、-N<sub>3</sub>、-NH<sub>2</sub>、任选地经取代的杂环烷基、任选地经取代的杂环烷芳基、任选地经取代的氨基烷基氨基、任选地

经取代的聚烷基氨基、经取代的甲硅烷基、报告基团、嵌入剂、用于改善药代动力学特性的基团、用于改善药效学特性的基团和其他取代基。在一些实施例中,2'-修饰是2'-MOE修饰(例如,参见Baker等人,J.Biol.Chem.[生物化学杂志],1997,272,11944-12000)。在一些情况下,据报道,与未修饰的糖和一些其他经修饰的核苷(诸如2'-O-甲基,2'-O-丙基和2'-O-氨基丙基)相比,2'-MOE修饰具有改善的结合亲和力。还报道了具有2'-MOE修饰的寡核苷酸能够抑制基因表达,具有体内应用前景(参见,例如Martin,Helv.Chim.Acta[瑞士化学学报],1995,78,486-504;Altmann等人,Chimia[化学],1996,50,168-176;Altmann等人,Biochem.Soc.Trans.[生物化学学会会刊],1996,24,630-637;以及Altmann等人,Nucleosides Nucleotides[核苷与核苷酸],1997,16,917-926;等等)。

[0799] 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-C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基、-OCF<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>、2'-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ON(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>)或-OCH<sub>2</sub>C(=O)N(R<sub>m</sub>)(R<sub>n</sub>),其中每个R<sub>m</sub>和R<sub>n</sub>独立地是-H或任选地经取代的C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>烷基。

[0800] 某些经修饰的糖、其制备和用途在US 4981957、US 5118800、US 5319080、US 5359044、US 5393878、US 5446137、US 5466786、US 5514785、US 5519134、US 5567811、US 5576427、US 5591722、US 5597909、US 5610300、US 5627053、US 5639873、US 5646265、US 5670633、US 5700920、US 5792847、US 6600032和WO 2005121371中描述。

[0801] 在一些实施例中,糖是N-甲醇卡巴(N-methanocarba)、LNA、cMOE BNA、cEt BNA、 $\alpha$ -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2014Nucleic Acids Res.[核酸研究]2014年6月1日;42(10):6542-6551),甲缩醛,硫代甲缩醛,MMI[例如,亚甲基(甲基亚氨基),Peoc'h等人2006Nucleosides and Nucleotides[核苷与核苷酸]16(7-9)],PMO(二氨基磷酸酯连接的吗啉代)键联(其连接两个糖)或PNA(肽核酸)键联。在一些实施例中,核苷酸间键联和/或糖的实例在以下文献中描述:Allerson等人.2005J.Med.Chem.[医药化学杂志]48:901-4;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]2011 21:1122;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]2011 21:588;BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]201222:296;Chattopadhyaya等人2007J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]129:8362;Chem.Bio.Chem.[有机化学杂志]2013 14:58;Curr.Prot.Nucl.Acids Chem.[核酸化学当前方案]2011 1.24.1;Egli等人2011J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]133:16642;Hendrix等人1997Chem.Eur.J.[欧洲化学杂志]3:110;Hyrup等人1996Bioorg.Med.Chem.[生物有机化学与医药化学]4:5;Imanishi 1997Tet.Lett.[四面体快报]38:8735;J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]1994,116,3143;J.Med.Chem.[药物化学杂志]2009 52:10;J.Org.Chem.[有机化学杂志]2010 75:1589;Jepsen等人2004Oligo.[寡核苷酸]14:130-146;Jones等人J.Org.Chem.[有机化学杂志]1993,58,2983;Jung等人2014ACIEE 53:9893;Kodama等人2014AGDS;Koizumi 2003BMC 11:2211;Koizumi等人2003Nuc.Acids Res.[核酸研究]12:3267-3273;Koshkin等人1998Tetrahedron[四面体]54:3607-3630;Kumar等人1998Bioorg.Med.Chem.Let.[生物有

机化学与医药化学快报]8:2219-2222;Lauritsen等人2002Chem.Comm.[化学通讯]5:530-531;Lauritsen等人2003Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]13:253-256;Lima等人2012Cell[细胞]150:883-894;Mesmaeker等人Angew.Chem.,Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]1994,33,226;Migawa等人2013Org.Lett.[有机快报]15:4316;Mol.Ther.Nucl.Acids[分子疗法-核酸]2012 1:e47;Morita等人2001Nucl.Acids Res.[核酸研究]增刊1:241-242;Morita等人2002Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]12:73-76;Morita等人2003Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]2211-2226;Murray等人2012Nucl.Acids Res.[核酸研究]40:6135;Nielsen等人1997Chem.Soc.Rev.[化学学会评论]73;Nielsen等人1997J.Chem.Soc.Perkins Transl.[化学学会杂志珀金学报I]1: 3423-3433; Obika等人 1997Tetrahedron Lett.[四面体快报]38 (50): 8735-8; Obika等人 1998Tetrahedron Lett.[四面体快报]39:5401-5404; Obika等人2008J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志] 130: 4886; Obika等人2011Org.Lett.[有机快报]13: 6050;Oestergaard等人 2014 JOC 79: 8877;Pallan等人2012Biochem.[生物化学]51:7;Pallan等人2012Chem.Comm.[化学通讯]48:8195-8197;Petersen等人2003TRENDS Biotech.[生物技术趋势]21:74-81;Prakash等人2010J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:1636;Prakash等人2015Nucl.Acids Res.[核酸研究]43:2993-3011;Prakash等人2016Bioorg.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]26:2817-2820;Rajwanshi等人1999Chem.Commun.[化学通讯]1395-1396;Schultz等人1996Nucleic Acids Res.[核酸研究]24:2966;Seth等人2008Nucl.Acid Sym.Ser.[核酸研讨会丛刊]52:553;Seth等人2009J.Med.Chem.[药物化学杂志]52:10-13;Seth等人2010J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]132:14942;Seth等人2010J.Med.Chem.[药物化学杂志]53:8309-8318;Seth等人2010J.Org.Chem.[有机化学杂志]75:1569-1581;Seth等人2011BMCL[生物有机化学与医药化学通讯]21:4690;Seth等人2012Bioo.Med.Chem.Lett.[生物有机化学与医药化学快报]22:296-299;Seth等人2012Mol.Ther-Nuc.Acids.[分子疗法-核酸]1,e47;Seth等人,Nucleic Acids Symposium Series[核酸研讨会丛刊](2008), 52(1), 553-554;Singh等人1998Chem.Comm.[化学通讯]1247-1248;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:10035-39;Singh等人1998J.Org.Chem.[有机化学杂志]63:6078-6079;Sorensen 2003Chem.Comm.[化学通讯]2130-2131;Starrup等人2010Nucl.Acids Res.[核酸研究]38:7100;Swayze等人2007Nucl.Acids Res.[核酸研究]35:687;Ts'o等人Ann.N.Y.Acad.Sci.[纽约科学院年刊]1988,507,220;Van Aerschot等人1995Angew.Chem.Int.Ed.Engl.[应用化学英文国际版]34:1338;Vasseur等人J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志]1992,114,4006;WO 2007090071;WO 2016079181;US 6326199;US 6066500;或US 6440739。

[0802] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)包含高水平的2'-F修饰的糖,例如,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中约10%-100%(例如,约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多,或约100%)的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约50%或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约60%或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约70%或更多的糖包含2'-F。在一些实施例

中,寡核苷酸或其部分中约80%或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中约90%或更多的糖包含2'-F。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分还包含一个或多个不含2'-F的糖(例如,不含修饰的糖和/或包含其他修饰的糖)。

[0803] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不超过约50%的糖包含2'-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中没有糖包含2'-MOE。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不超过1、2、3、4或5个糖包含2'-MOE。

[0804] 可用于制备寡核苷酸或其类似物的多种另外的糖是本领域已知的,并且可以根据本披露使用。

#### 核苷酸间键联

[0805] 尤其是,本披露提供了各种核苷酸间键联,包括各种经修饰的核苷酸间键联,其可以与其他结构元件(例如本文所述的各种糖)一起使用以提供寡核苷酸及其组合物。

[0806] 在一些实施例中,寡核苷酸包含碱基修饰、糖修饰和/或核苷酸间键联修饰。根据本披露,可以利用多种核苷酸间键联来连接包含核碱基的单元,例如核苷。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联和一个或多个天然磷酸酯键联两者。如本领域技术人员所公知的,天然磷酸酯键联广泛存在于天然DNA和RNA分子中;它们具有-OP(O)(OH)O-的结构,连接DNA和RNA的核苷中的糖,并且可呈多种盐形式,例如在生理pH值(约7.4)下,天然磷酸酯键联主要是以具有-OP(O)(O<sup>-</sup>)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-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<sup>-</sup>)O-。

[0807] 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、氨基膦酸酯、硫代磷酸盐、3'-硫代磷酸盐或5'-硫代磷酸盐。

[0808] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是包含手性键联磷的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是手性受控的。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<sub>p</sub>或S<sub>p</sub>)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。

[0809] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含P-修饰,其中P-修饰是键联磷处的修饰。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不含磷但用于例如在肽核酸(PNA)中连接两个糖或两个各自独立地包含核碱基的部分的部分。

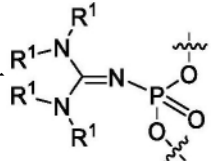
[0810] 在一些实施例中,寡核苷酸包含经修饰的核苷酸间键联,例如本文和/或在以下文

献中描述的具有式I、I-a、I-b或I-c的结构的那些:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的核苷酸间键联(例如,具有式I、I-a、I-b、I-c等的那些)独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

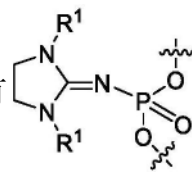
[0811] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等或其盐形式的结构,如本文和/或以下文献中所述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的不带负电荷的核苷酸间键联(例如,具有式I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等的那些或其合适的盐形式)独立地通过援引并入本文。

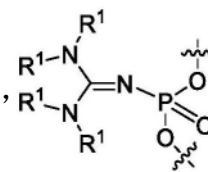
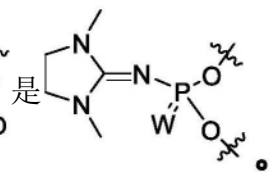
[0812] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联可以改善递送和/或活性(例如,腺苷编辑活性)。

[0813] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑或炔烃部分。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是任选地经取代的。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是经取代的。在一些实施例中,三唑部分是未取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,经修

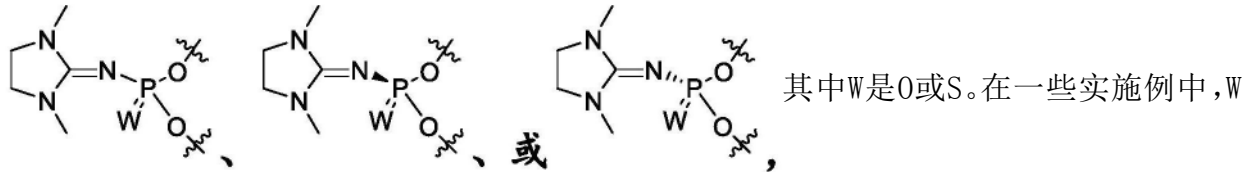
饰的核苷酸间键联具有  的结构并且任选地是手性受控的,其中R<sup>1</sup>是-L-R',其

中L是如本文所述的L<sup>B</sup>,并且R'如本文所述。在一些实施例中,每个R<sup>1</sup>独立地是R'。在一些实施例中,每个R'独立地是R。在一些实施例中,两个R<sup>1</sup>是R并且合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,两个不同氮原子上的两个R<sup>1</sup>是R并且合在一起形成如本文所述的环。在一些实施例中,R<sup>1</sup>独立地是如本文所述的任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R<sup>1</sup>是甲基。在一些实施例中,同一氮原子上的两个R'是R并且合在一起形成如本文所述

的环。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联具有  的结构并且任选地是手

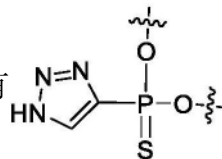
性受控的。在一些实施例中,  是  在一些实施例中,经修饰的

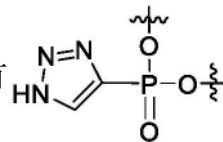
核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分,并且具有以下结构:

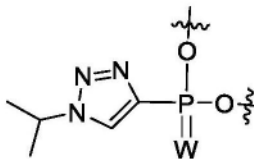


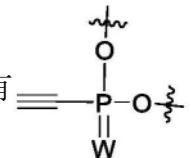
是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是立体化学控制的。

[0814] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是包含三唑部分的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,包含三唑部分(例如,任选地经取代

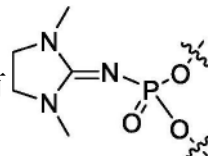
的三唑基)的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的

核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的核苷酸间键

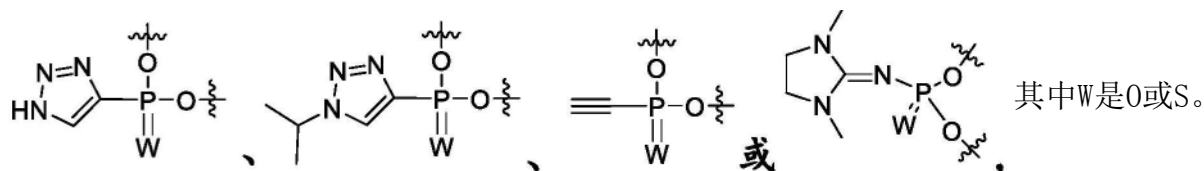
联具有  的式,其中W是O或S。在一些实施例中,包含炔基部分(例如,任选

地经取代的炔基)的核苷酸间键联具有  的式,其中W是O或S。在一些实施例中,

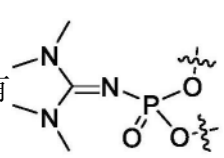
核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联)包含环状胍部分。在

一些实施例中,包含环状胍部分的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,

不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是或包含选自以下的结构:



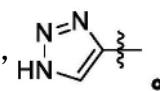
[0815] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含Tmg基团 ()。在一些实施例中,核苷

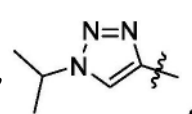
酸间键联包含Tmg基团并具有  的结构(“Tmg核苷酸间键联”)。在一些实施例

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。


[0816] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2等或其盐形式的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,这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。


[0817] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,杂芳基直接键合至键联磷。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例

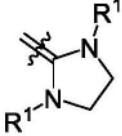
中,不带负电荷的核苷酸间键联包含未取代的三唑基,例如, 。在一些实施例中,

不带负电荷的核苷酸间键联包含经取代的三唑基,例如, 。

[0818] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,至少两个杂原子是氮。在一些实施例中,杂环基直接键合至键联磷。在一些实施例中,当杂环基是经由其=N-直接与键联磷键合的胍部分的一部分时,该杂环基经由接头(例如,=N-)与键联磷键合。在一些实施

例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的  基团。在一些实施例中,不带

负电荷的核苷酸间键联包含经取代的  基团。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸

间键联包含  基团,其中每个R<sup>1</sup>独立地是-L-R。在一些实施例中,每个R<sup>1</sup>独立地是任

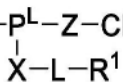
选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,每个R<sup>1</sup>独立地是甲基。

[0819] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含三唑或炔烃部分,其各自是任选地经取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含未取代的三唑部分。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,炔基直接键合至键联磷。

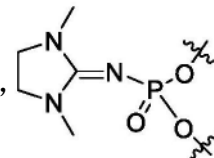
[0820] 在一些实施例中,寡核苷酸包含不同类型的核苷酸间磷键联。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个经修饰的(非天然)核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个硫代磷酸酯。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个天然磷酸酯键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键联、至少一个天然磷酸酯键联和至少一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-20、1-15、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个)不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含不超过一定数量的不带负电荷的核苷酸间键联,例如,不超过1个、不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个、不超过6个、不超过7个、不超过8个、不超过9个、不超过10个、不超过11个、不超过12个、不超过13个、不超过14个、不超过15个、不超过16个、不超过17个、不超过18个、不超过19个、不超过20个、不超过21个、不超过22个、不超过23个、不超过24个、不超过25个、不超过26个、不超过27个、不超过28个、不超过29或不超过30个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸不包含不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是不带负电的,因为在给定pH下在水溶液中,少于50%、40%、40%、30%、20%、10%、5%或1%的核苷酸间键联以带负电的盐形式存在。在一些实施例中,pH为约pH 7.4。在一些实施例中,pH为约4-9。在一些实施例中,百分比小于10%。在一些实施例中,百分比小于5%。在一些实施例中,百分比小于1%。在一些实施例中,核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联,因为核苷酸间键联的中性形式于水中不具有不超过约1、2、3、4、5、6或7的pKa。在一些实施例中,没有pKa为7或更小。在一些实施例中,没有pKa为6或更小。在一些实施例中,没有pKa为5或更小。在一些实施例中,没有pKa为4或更小。在一些实

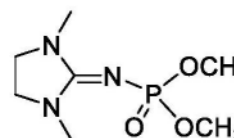
施例中,没有pKa为3或更小。在一些实施例中,没有pKa为2或更小。在一些实施例中,没有pKa为1或更小。在一些实施例中,核苷酸间键联的中性形式的pKa可表示为具有结构CH<sub>3</sub>-核苷酸间键联-CH<sub>3</sub>的化合物的中性形式的pKa。例如,具有式I的结构核苷酸间键联的中性形式的pKa可由具有

具有  $\text{H}_3\text{C}-\text{Y}-\text{P}^{\text{L}}-\text{Z}-\text{CH}_3$  的结构化合物的中性形式的pKa表示(其中X、Y、Z



各自独立地是-O-、-S-、-N(R')-;L是L<sup>B</sup>,并且R<sup>1</sup>是-L-R')

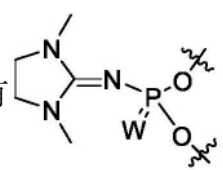


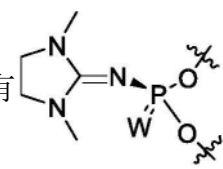
的pKa可以由  的pKa表示。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸

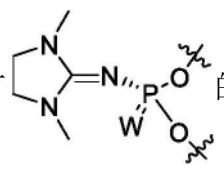
间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是带正电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含胍部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含杂芳基碱基部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含三唑部分。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含炔基部分。

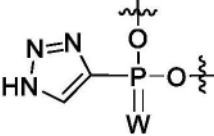
[0821] 在一些实施例中,中性或不带负电荷的核苷酸间键联具有以下任一文献中描述的任何中性或不带负电荷的核苷酸间键联的结构:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的每个中性或不带负电荷的核苷酸间键联通过引用并入本文。

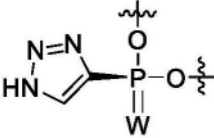
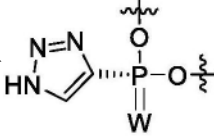
[0822] 在一些实施例中,每个R'独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,各R'独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,每个R'独立地是-CH<sub>3</sub>。在一些实施例中,各R<sup>S</sup>是-H。

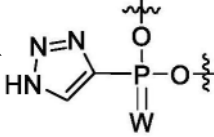
[0823] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有  的结构。在一些

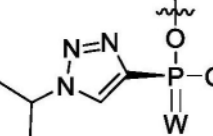
实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,不带

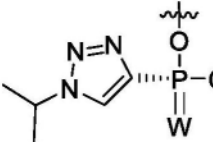
负电荷的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸

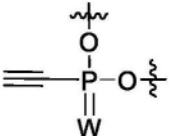
间键联具有  的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有

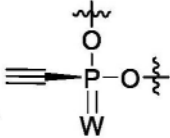
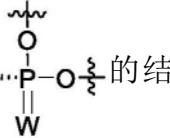
 的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有 

的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有 

实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有 

带负电荷的核苷酸间键联具有 

核苷酸间键联具有 

 的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有 

构。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是上述不带负电荷的核苷酸间键联。

[0824] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1个或多个具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1或II-d-2的核苷酸间键联,其在以下文献中描述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858(式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1或II-d-2或其盐形式),其各自独立地通过援引并入本文。

[0825] 在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和不是中性核苷酸间键联的手性受控的

核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含中性核苷酸间键联和手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联和一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,本披露提供了包含一个或多个中性核苷酸间键联和一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸,其中该寡核苷酸中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性受控的和/或一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)非手性受控的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性受控的和/或一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)非手性受控的不带负电荷的核苷酸间键联(在一些实施例中,每个独立地是n001)。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,中性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)手性受控的和/或一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)非手性受控的中性核苷酸间键联(在一些实施例中,每个独立地是n001)。

[0826] 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。

[0827] 不希望受任何特定理论的束缚,本披露指出,将一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联(例如,中性核苷酸间键联)并入寡核苷酸中可能能够增加寡核苷酸介导诸如靶腺苷编辑的功能的能力。

[0828] 如本领域技术人员所理解的,核苷酸间键联诸如天然磷酸酯键联和具有式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2的那些或其盐形式通常连接两个核苷(其可以是天然的或经修饰的),如下文献中所述:US 9394333、US 9744183、US 9605019、US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858(式I、I-a、I-b、I-c、I-n-1、I-n-2、I-n-3、I-n-4、II、II-a-1、II-a-2、II-b-1、II-b-2、II-c-1、II-c-2、II-d-1、II-d-2或其盐形式),其各自独立地通过援引并入本文。如天然DNA和RNA中的典型连接是核苷酸间键联与两个糖

(其可以是未修饰的或如本文所述的经修饰的)形成键。在许多实施例中,如本文所例示的,核苷酸间键联通过其氧原子或杂原子(例如,在各式中的Y和Z)与在其5'碳处的一个任选地经修饰的核糖或脱氧核糖和在其3'碳处的另一个任选地经修饰的核糖或脱氧核糖形成键。在一些实施例中,通过核苷酸间键联连接的每个核苷单元独立地包含独立地是任选地经取代的A、T、C、G或U或A、T、C、G或U的经取代的互变异构体的核碱基,或包含具有至少一个氮原子的任选地经取代的杂环基和/或杂芳基环的核碱基。

[0829] 在一些实施例中,键联具有或包含 $-Y-P^L(-X-R^L)-Z-$ 的结构或其盐形式,其中:

$P^L$ 是 $P$ 、 $P(=W)$ 、 $P->B(-L^L-R^L)_3$ 、或 $P^N$ ;

$W$ 是 $O$ 、 $N(-L^L-R^L)$ 、 $S$ 或 $Se$ ;

$P^N$ 是 $P=N-C(-L^L-R')$  ( $=L^N-R'$ ) 或 $P=N-L^L-R^L$ ;

$L^N$ 是 $=N-L^{L1}$ 、 $=CH-L^{L1}$  (其中 $CH$ 是任选地经取代的)、或 $=N^+(R')(Q^-)-L^{L1}$ ;

$Q^-$ 是阴离子;

$X$ 、 $Y$ 和 $Z$ 中的每一个独立地是 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-$ 、 $-L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L-$ 、或 $L^L$ ;

每个 $R^L$ 独立地是 $-L^L-N(R')_2$ 、 $-L^L-R'$ 、 $-N=C(-L^L-R')_2$ 、 $-L^L-N(R')C(NR')N(R')_2$ 、 $-L^L-N(R')C(O)N(R')_2$ 、碳水化合物、或一个或多个任选地通过接头连接的另外的化学部分;

$L^{L1}$ 和 $L^L$ 各自独立地是 $L$ ;

$-Cy^{L1}$ 是 $-Cy-$ ;

每个 $L$ 独立地是共价键,或选自 $C_{1-30}$ 脂肪族基团和具有1-10个杂原子的 $C_{1-30}$ 杂脂肪族基团的二价、任选地取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地取代的基团替代: $C_{1-6}$ 亚烷基、 $C_{1-6}$ 亚烯基、 $-C\equiv C-$ 、具有1-5个杂原子的二价 $C1-C6$ 杂脂肪族基团、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(NR')N(R')$ 、 $-N(R')C(NR')N(R')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 、 $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ 、和 $-[C(R')_2C(R')_2]_n-$ ,其中 $n$ 是1-50,并且一个或多个碳原子任选地且独立地被 $Cy^L$ 替代;

每个 $-Cy-$ 独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的二价3-30元单环、双环或多环;

每个 $Cy^L$ 独立地是具有0-10个杂原子的任选地经取代的三价或四价3-30元单环、双环或多环;

每个 $R'$ 独立地是 $-R$ 、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、或 $-S(O)_2R$ ;

每个 $R$ 独立地是 $-H$ ,或选自以下的任选地经取代的基团: $C_{1-30}$ 脂肪族基团、具有1-10个杂原子的 $C_{1-30}$ 杂脂肪族基团、 $C_{6-30}$ 芳基、 $C_{6-30}$ 芳基脂肪族基团、具有1-10个杂原子的 $C_{6-30}$ 芳基杂脂肪族基团、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基、以及具有1-10个杂原子的3-30元杂环基,或

两个 $R$ 基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或:

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环；或

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

[0830] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P^L(-X-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)(-X-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)[-N(-L^L-R^L)-R^L]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $O-P(=W)(-NH-L^L-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)[-N(R')_2]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)(-NHR')-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)(-NHSO_2R)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,核苷酸间键联是 $-O-P(=O)(-NHSO_2CH_3)-O-$ 。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)[-N=C(-L^L-R')_2]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-O-P(=W)[-N=C[N(R')_2]_2]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=W)(-N=C(R'')_2)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=W)(-N(R'')_2)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,这种核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

[0831] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P^L(-X-R^L)-Z-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P^L(-X-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-X-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)[-N(-L^L-R^L)-R^L]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-NH-L^L-R^L)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)[-N(R')_2]-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-NHR')-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-NHSO_2R)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,核苷酸间键联是 $-P(=O)(-NHSO_2CH_3)-O-$ 。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)[-N=C(-L^L-R')_2]-O-$ 的结构,其中每个变量是独立的,如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)[-N=C[N(R')_2]_2]-O-$ 的结构,其中每个变量是独立的,如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-N=C(R'')_2)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=W)(-N(R'')_2)-O-$ 的结构,其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,中性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,这种核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,这种核苷酸间键联的P键合至糖的N。

[0832] 在一些实施例中,键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,键联是硫代磷酸基胍核苷酸间键联。

[0833] 在一些实施例中,一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被如本文所述的部分替换。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-SO<sub>2</sub>-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-SO<sub>2</sub>N(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-C(O)-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-C(O)O-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-C(O)N(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=W)(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=O)(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=S)(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(R')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=W)(OR')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=O)(OR')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(=S)(OR')-。在一些实施例中,L或L<sup>L</sup>是或包含-P(OR')-。

[0834] 在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')SO<sub>2</sub>R<sup>L</sup>。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')C(O)R<sup>L</sup>。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')P(=O)(R')R<sup>L</sup>。

[0835] 在一些实施例中,键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联,具有以下结构或包含以下:-P(=W)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)-、-P(=W)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')、-P(=W)(-N(R')C(O)R'')-、-P(=W)(-N(R'')<sub>2</sub>)-、-P(=W)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)-、-OP(=W)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)O-、-OP(=W)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-OP(=W)(-N(R')C(O)R'')O-、-OP(=W)(-N(R'')<sub>2</sub>)O-、-OP(=W)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-、-P(=W)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)O-、-P(=W)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-P(=W)(-N(R')C(O)R'')O-、-P(=W)(-N(R'')<sub>2</sub>)O-、或P(=W)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-、或其盐形式,其中:

W是O或S;

每个R''独立地是R'、OR'、-P(=W)(R')<sub>2</sub>、或N(R')<sub>2</sub>;

每个R'独立地是-R、-C(O)R、-C(O)N(R)<sub>2</sub>、-C(O)OR、或-S(O)<sub>2</sub>R;

每个R独立地是-H,或选自以下的任选地经取代的基团:C<sub>1-30</sub>脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C<sub>1-30</sub>杂脂肪族基团、C<sub>6-30</sub>芳基、C<sub>6-30</sub>芳基脂肪族基团、具有1-10个杂原子的C<sub>6-30</sub>芳基杂脂肪族基团、具有1-10个杂原子的5-30元杂芳基、以及具有1-10个杂原子的3-30元杂环基,或

两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键,或:

同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环;或

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

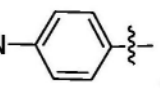
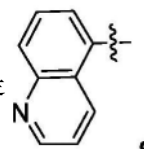
[0836] 在一些实施例中,W是O。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)-、-P(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')-、-P(=O)(-N(R')C(O)R'')-、-P(=O)(-N(R'')<sub>2</sub>)-、-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)-、-OP(=O)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)O-、-OP(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O-、-OP(=O)(-N(R'')<sub>2</sub>)O-、-OP(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-、-P(=O)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)O-、-P(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-P(=O)(-N(R')C(O)R'')O-、-P(=O)(-N(R'')<sub>2</sub>)O-或-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-的结构,或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)-P(=O)(-N(R'')<sub>2</sub>)-、-OP(=O)(-N=C(R'')<sub>2</sub>)O-、-OP(=O)

$(-N(R''))_2$ )-O-、-P(=O)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-或-P(=O)(-N(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-或-OP(=O)(-N(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')P(O)(R''))<sub>2</sub>O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联是n001。

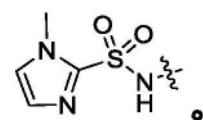
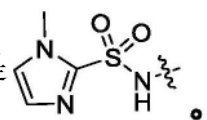
[0837] 在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-、-P(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')-、-P(=S)(-N(R')C(O)R'')-、-P(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>)-、-P(=S)(-N(R')P(O)(R''))<sub>2</sub>)-、-OP(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>O-、-OP(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-OP(=S)(-N(R')C(O)R'')O-、-OP(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>O-、-OP(=S)(-N(R')P(O)(R''))<sub>2</sub>O-、-P(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>O-、-P(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-、-P(=S)(-N(R')C(O)R'')O-、-P(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>O-、或-P(=S)(-N(R')P(O)(R''))<sub>2</sub>O-的结构,或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-、-P(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>)-、-OP(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-、-OP(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>)-O-、-P(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-或-P(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-或-OP(=S)(-N(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构,或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N=C(R''))<sub>2</sub>)-O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')C(O)R'')O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')P(O)(R''))<sub>2</sub>O-的结构或其盐形式。在一些实施例中,核苷酸间键联是\*n001。

[0838] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,例如-N(R')-的R'是氢或任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族。在一些实施例中,R'是C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R'是氢。在一些实施例中,R''(例如,在-SO<sub>2</sub>R''中)是如本文所述的R'。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHSO<sub>2</sub>R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHSO<sub>2</sub>R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHSO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHSO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-NHSO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-NHSO<sub>2</sub>R'')O-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')SO<sub>2</sub>R<sup>L</sup>,其中R'和R<sup>L</sup>中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中,R<sup>L</sup>是R''。在一些实施例中,R<sup>L</sup>是R'。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')SO<sub>2</sub>R'',其中

R' 如本文所述。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-N(R')SO_2R'$ , 其中 R' 如本文所述。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-NHSO_2R'$ , 其中 R' 如本文所述。在一些实施例中, R' 是如本文所述的 R。在一些实施例中, R' 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。在一些实施例中, R' 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基。在一些实施例中, R' 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, R' 是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中, R'' (例如, 在  $-SO_2R''$  中) 是 R。在一些实施例中, R 是任选地经取代的选自  $C_{1-6}$  脂肪族、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烯基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  炔基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-NHSO_2CH_3$ 。在一些实施例中, R 是  $-CF_3$ 。在一些实施例中, R 是甲基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的乙基。在一些实施例中, R 是乙基。在一些实施例中, R 是  $-CH_2CHF_2$ 。在一些实施例中, R 是  $-CH_2CH_2OCH_3$ 。在一些实施例中, R 是任选地经取代的丙基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的丁基。在一些实施例中, R 是正丁基。在一些实施例中, R 是  $-(CH_2)_6NH_2$ 。在一些实施例中, R 是任选地经取代的直链  $C_{2-20}$  脂肪族。在一些实施例中, R 是任选地经取代的直链  $C_{2-20}$  烷基。在一些实施例中, R 是直链  $C_{2-20}$  烷基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, C_{16}, C_{17}, C_{18}, C_{19}$ 、或  $C_{20}$  脂肪族。在一些实施例中, R 是任选地经取代的  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, C_{16}, C_{17}, C_{18}, C_{19}$ 、或  $C_{20}$  烷基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的直链  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, C_{16}, C_{17}, C_{18}, C_{19}$ 、或  $C_{20}$  烷基。在一些实施例中, R 是直链  $C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7, C_8, C_9, C_{10}, C_{11}, C_{12}, C_{13}, C_{14}, C_{15}, C_{16}, C_{17}, C_{18}, C_{19}$ 、或  $C_{20}$  烷基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, R 是苯基。在一些实施例中, R 是对甲基苯基。在一些实施例中, R 是 4-二甲基氨基苯基。在一些实施例中, R 是 3-吡啶基。在一些

实施例中, R 是  在一些实施例中, R 是  在一些实施例中, R 是苯

基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的 1, 3-二唑基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的 2-(1, 3)-二唑基。在一些实施例中, R 是任选地经取代的 1-甲基-2-(1, 3)-二唑基。在一些实施例中, R 是异丙基。在一些实施例中, R'' 是  $-N(R')_2$ 。在一些实施例中, R'' 是  $-N(CH_3)_2$ 。在一些实施例中, R'' (例如, 在  $-SO_2R''$  中), 是  $-OR'$ , 其中 R' 如本文所述。在一些实施例中, R' 是如本文所述的 R。在一些实施例中, R'' 是  $-OCH_3$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2R)O-$ , 其中 R 如本文所述。在一些实施例中, R 是如本文所述的任选地经取代的直链烷基。在一些实施例中, R 是如本文所述的直链烷基。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH_3)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH_2CH_3)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH_2CH_2OCH_3)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH_2Ph)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH_2CHF_2)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2(4-甲基苯基))O-$ 。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是

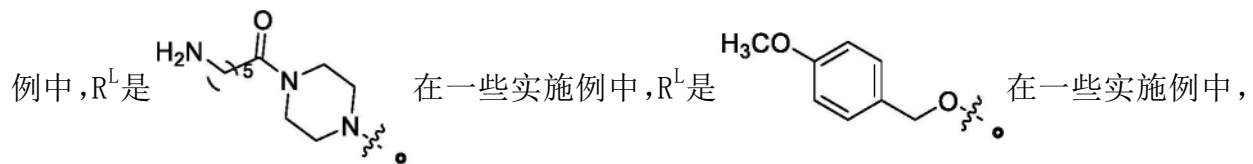
 在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-X-R^L)O-$ , 其中  $-X-R^L$  是  在

一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-NHSO_2CH(CH_3)_2)O-$ 。在一些实施例中, 键联是  $-OP(=O)(-$

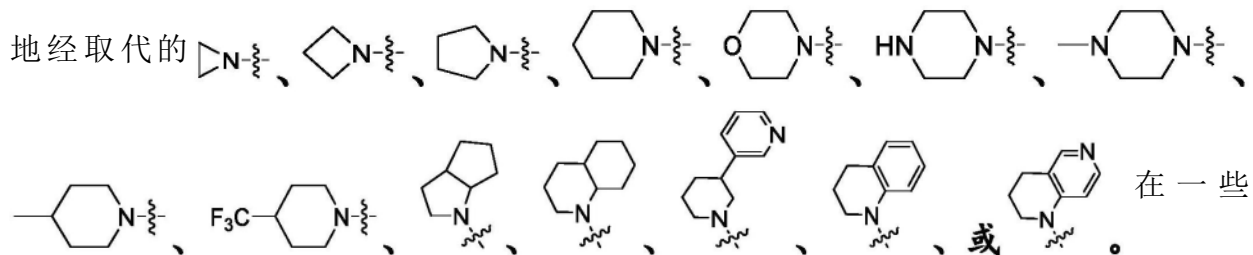
NHSO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>O<sup>-</sup>。在一些实施例中,键联是n002。在一些实施例中,键联是n006。在一些实施例中,键联是n020。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联可用于代替键联如n001。

[0839] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')C(O)R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')C(O)R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')C(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')C(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-N(R')C(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,例如-N(R')-的R'是氢或任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族。在一些实施例中,R'是C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R'是氢。在一些实施例中,R''(例如,在-C(O)R''中)是如本文所述的R'。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHC(O)R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHC(O)R'')-的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-NHC(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-NHC(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-NHC(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=S)(-NHC(O)R'')O<sup>-</sup>的结构,其中R''如本文所述。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')COR<sup>L</sup>,其中R<sup>L</sup>如本文所述。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')COR'',其中R''如本文所述。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-N(R')COR',其中R'如本文所述。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-NHCOR',其中R'如本文所述。在一些实施例中,R'是如本文所述的R。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R''(例如,在-C(O)R''中)是R。在一些实施例中,R是任选地经取代的选自C<sub>1-6</sub>脂肪族、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>炔基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)CH<sub>3</sub>。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是-CF<sub>3</sub>。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是-CH<sub>2</sub>CHF<sub>2</sub>。在一些实施例中,R是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>(例如,C<sub>1-6</sub>、C<sub>2-6</sub>、C<sub>3-6</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>2-10</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>2-20</sub>、C<sub>3-20</sub>、C<sub>10-20</sub>、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20、等)脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>(例如,C<sub>1-6</sub>、C<sub>2-6</sub>、C<sub>3-6</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>2-10</sub>、C<sub>3-10</sub>、C<sub>2-20</sub>、C<sub>3-20</sub>、C<sub>10-20</sub>、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20、等)烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C<sub>2-20</sub>脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的直链C<sub>2-20</sub>烷基。在一些实施例中,R是直链C<sub>2-20</sub>烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>13</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>15</sub>、C<sub>16</sub>、C<sub>17</sub>、C<sub>18</sub>、C<sub>19</sub>、或C<sub>20</sub>脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>13</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>15</sub>、C<sub>16</sub>、C<sub>17</sub>、C<sub>18</sub>、C<sub>19</sub>、或C<sub>20</sub>烷基。在一些实施例中,R是直链C<sub>1</sub>、C<sub>2</sub>、C<sub>3</sub>、C<sub>4</sub>、C<sub>5</sub>、C<sub>6</sub>、C<sub>7</sub>、C<sub>8</sub>、C<sub>9</sub>、C<sub>10</sub>、C<sub>11</sub>、C<sub>12</sub>、C<sub>13</sub>、C<sub>14</sub>、C<sub>15</sub>、C<sub>16</sub>、C<sub>17</sub>、C<sub>18</sub>、C<sub>19</sub>、或C<sub>20</sub>烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的芳基。在一

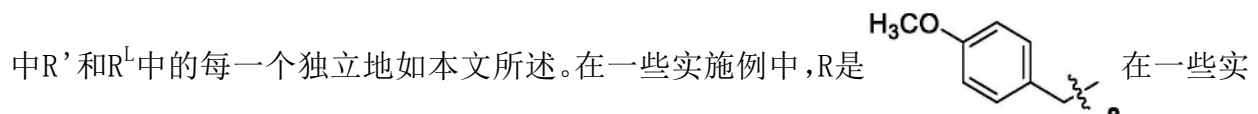
些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是对甲基苯基。在一些实施例中,R是苜基。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1,3-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中,R是任选地经取代的1-甲基-2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-(CH_2)_5NH_2$ 。在一些实施



$R''$ 是 $-N(R')_2$ 。在一些实施例中, $R''$ 是 $-N(CH_3)_2$ 。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-N(R')CON(R^L)_2$ ,其中 $R'$ 和 $R^L$ 独立地如本文所述。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHCON(R^L)_2$ ,其中 $R^L$ 如本文所述。在一些实施例中,两个 $R'$ 或两个 $R^L$ 与它们连接的氮原子一起形成如本文所述的环,例如任选



实施例中, $R''$ (例如,在 $-C(O)R''$ 中),是 $-OR'$ ,其中 $R'$ 如本文所述。在一些实施例中, $R'$ 是如本文所述的R。在一些实施例中,是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中,是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R''$ 是 $-OCH_3$ 。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-N(R')C(O)OR^L$ ,其中



施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHC(O)OCH_3$ 。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHC(O)N(CH_3)_2$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHC(O)CH_3)O-$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHC(O)OCH_3)O-$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHC(O)(对甲基苯基))O-$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHC(O)N(CH_3)_2)O-$ 。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-N(R')R^L$ ,其中 $R'$ 和 $R^L$ 中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-N(R')R^L$ ,其中 $R'$ 和 $R^L$ 中的每一个独立地不是氢。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHR^L$ ,其中 $R^L$ 如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 不是氢。在一些实施例中, $R^L$ 是任选地经取代的芳基或杂芳基。在一些实施例中, $R^L$ 是任选地经取代的芳基。在一些实施例中, $R^L$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-N(R')_2$ ,其中每个 $R'$ 独立地如本文所述。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHR'$ ,其中 $R'$ 如本文所述。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $-NHR$ ,其中R如本文所述。在一些实施例中, $-X-R^L$ 是 $R^L$ ,其中 $R^L$ 如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')_2$ ,其中每个 $R'$ 独立地如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-NHR'$ ,其中 $R'$ 如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-NHR$ ,其中R如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')_2$ ,其中每个 $R'$ 独立地如本文所述。在一些实施例中, $-N(R')_2$ 中的 $R'$ 都不是氢。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')_2$ ,其中每个 $R'$ 独立地是 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-L-R'$ ,其中L和 $R'$ 中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-L-R$ ,其中L和R中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')-Cy-N(R')-R'$ 。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')-Cy-C(O)-R'$ 。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')-Cy-O-R'$ 。在一些实施例中, $R^L$ 是 $-N(R')-Cy-SO_2-R'$ 。在一些实施

例中,  $R^L$  是  $-N(R')-Cy-SO_2-N(R')_2$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是  $-N(R')-Cy-C(O)-N(R')_2$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是  $-N(R')-Cy-OP(O)(R'')$ 。在一些实施例中,  $-Cy-$  是任选地经取代的二价芳基基团。在一些实施例中,  $-Cy-$  是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中,  $-Cy-$  是任选地经取代的1,4-亚苯基。在一些实施例中,  $-Cy-$  是1,4-亚苯基。在一些实施例中,  $R^L$  是  $-N(CH_3)_2$ 。

在一些实施例中,  $R^L$  是  $-N(i-Pr)_2$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是  $H_3CO-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,

$R^L$  是  $H_3CO-C_6H_3(H_3CO)-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $H_3C-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是

$(CH_3)_2N-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $H_2N-SO_2-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是

$-NH-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $H_2N-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是

$H_3CH_2CHN-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $CH_3OCH_2CH_2NH-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例

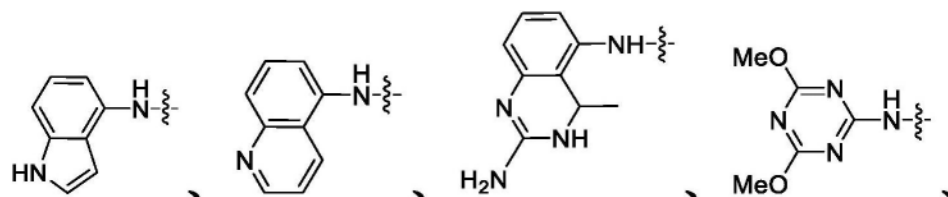
中,  $R^L$  是  $HOCH_2CH_2NH-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $HO-SO_2-CH_2CH_2NH-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一

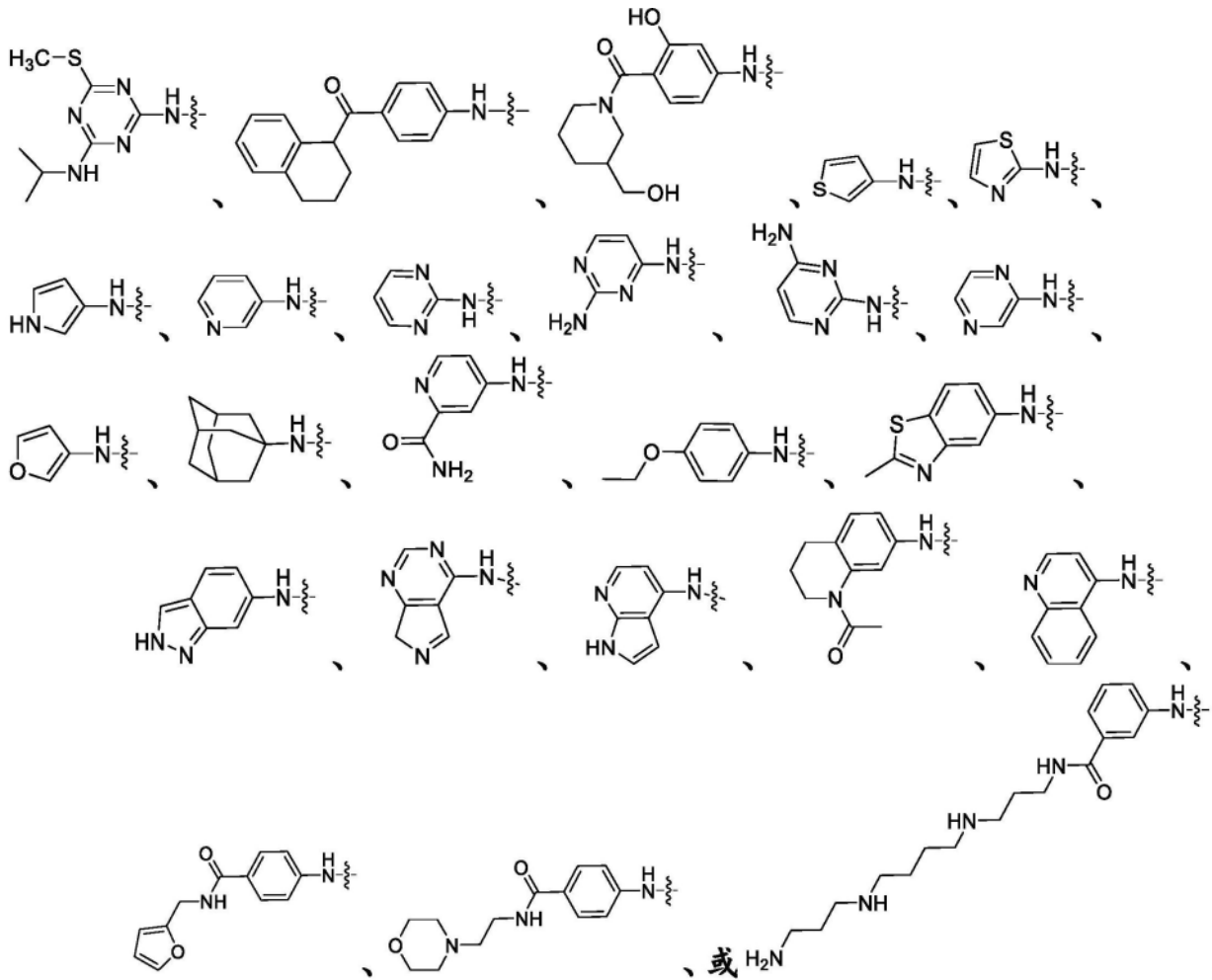
些实施例中,  $R^L$  是  $CH_3CH_2-SO_2-NH-C(=O)-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $H_2N-CH_2-C_6H_4-NH-$  在一

些实施例中,  $R^L$  是  $H_3CO-P(=O)(OCH_3)-O-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是

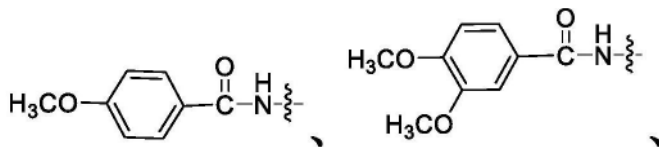
$HO-P(=O)(OH)-O-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $C_6H_{10}N-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是

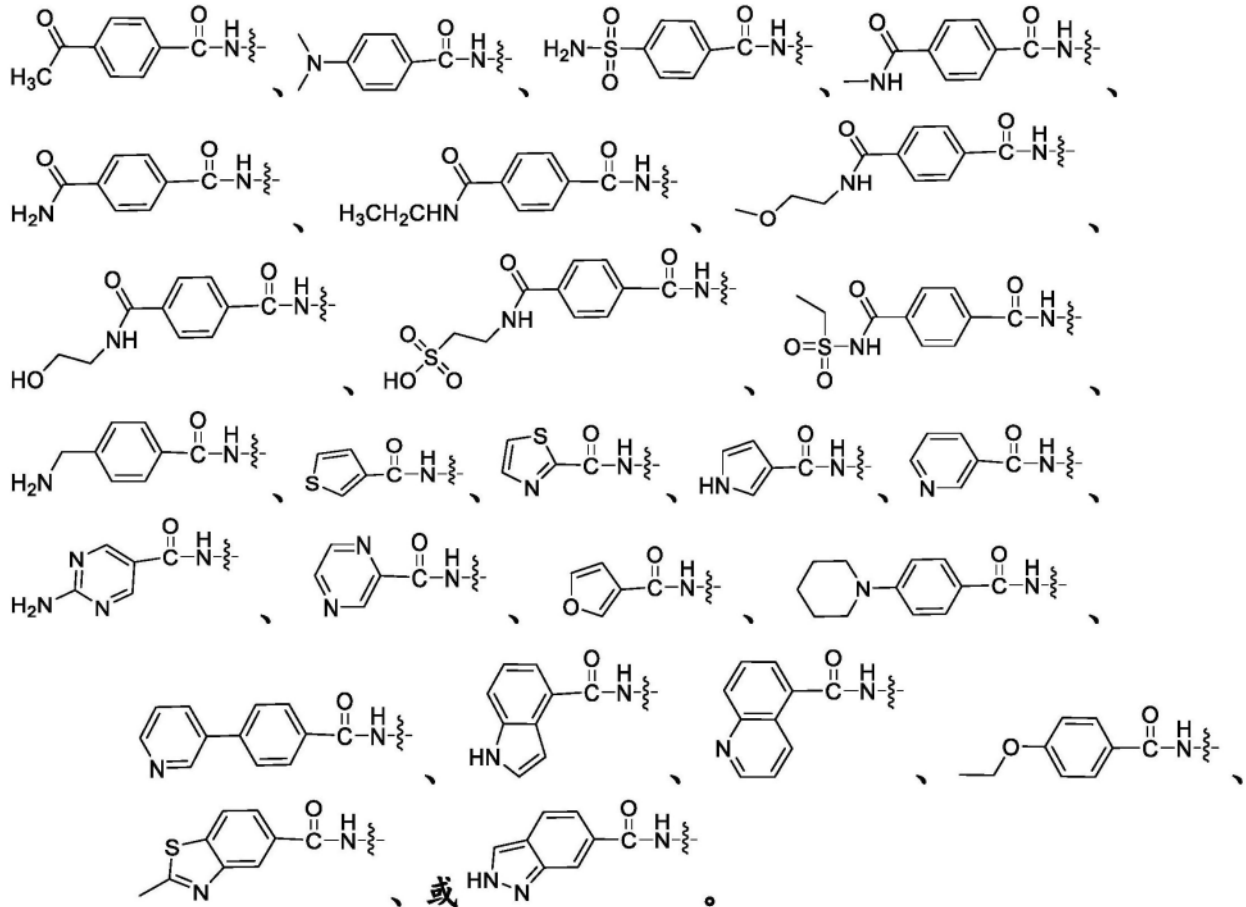
$C_5H_4N-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是  $HN-C_6H_{10}-C_6H_4-NH-$  在一些实施例中,  $R^L$  是





在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-R^L$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $R^L$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-O-R'$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-R'$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-R'$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-N(R')_2$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-SO_2-N(R')_2$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-N(R')_2$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-N(R')-SO_2-R'$ 。在一些实施例中， $R'$ 是如本文所述的R。在一些实施例中， $R^L$ 是





[0840] 如本文所述,在一些实施例中,L的一个或多个亚甲基单元或包含L或为L的变量独立地被-O-、-N(R')-、-C(O)-、-C(O)N(R')-、-SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>N(R')-、或-Cy-替代。在一些实施例中,亚甲基单元被-Cy-替代。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的二价芳基基团。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的1,4-亚苯基。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的具有1-10个(例如1、2、3、4、5、6、7、8、9、或10个)杂原子的二价5-20(例如5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元杂芳基基团。在一些实施例中,-Cy-是单环的。在一些实施例中,-Cy-是双环的。在一些实施例中,-Cy-是多环的。在一些实施例中,-Cy-中的每个单环单元独立地为3-10(例如,3、4、5、6、7、8、9或10)元,并且独立地为饱和的、部分饱和的或芳香族的。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的3-20(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元单环、双环或多环脂肪族基团。在一些实施例中,-Cy-是任选地经取代的具有1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10)个杂原子的3-20(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20)元单环、双环或多环杂脂肪族基团。

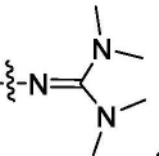
[0841] 在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)-的结构,其中每个R''独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)-的结构,其中每个R''独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-的结构,其中每个R''独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-P(=S)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-的结构,其中每个R''独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-OP(=O)(-N(R')P(O)(R'')<sub>2</sub>)O-的结构,其中每个R''独立地如本文所

述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=S)(-N(R'))P(O)(R'')_2O-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,例如 $-N(R')$ 的 $R'$ 是氢或任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中, $R'$ 是 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R'$ 是氢。在一些实施例中, $R''$ (例如,在 $-P(O)(R'')_2$ 中)是如本文所述的 $R'$ 。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=O)(-NHP(O)(R'')_2)-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=S)(-NHP(O)(R'')_2)-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-P(=O)(-NHP(O)(R'')_2)O-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=S)(-NHP(O)(R'')_2)O-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=O)(-NHP(O)(R'')_2)O-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有 $-OP(=S)(-NHP(O)(R'')_2)O-$ 的结构,其中每个 $R''$ 独立地如本文所述。在一些实施例中, $R''$ 的出现(例如,在 $-P(O)(R'')_2$ 中)是 $R$ 。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的选自 $C_{1-6}$ 脂肪族、芳基、杂环基和杂芳基的基团。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烯基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 炔基。在一些实施例中, $R$ 是甲基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的甲基。在一些实施例中, $R$ 是 $-CF_3$ 。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的乙基。在一些实施例中, $R$ 是乙基。在一些实施例中, $R$ 是 $-CH_2CHF_2$ 。在一些实施例中, $R$ 是 $-CH_2CH_2OCH_3$ 。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-20}$ (例如, $C_{1-6}$ 、 $C_{2-6}$ 、 $C_{3-6}$ 、 $C_{1-10}$ 、 $C_{2-10}$ 、 $C_{3-10}$ 、 $C_{2-20}$ 、 $C_{3-20}$ 、 $C_{10-20}$ 、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20、等)脂肪族。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-20}$ (例如, $C_{1-6}$ 、 $C_{2-6}$ 、 $C_{3-6}$ 、 $C_{1-10}$ 、 $C_{2-10}$ 、 $C_{3-10}$ 、 $C_{2-20}$ 、 $C_{3-20}$ 、 $C_{10-20}$ 、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、或20、等)烷基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的直链 $C_{2-20}$ 脂肪族。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的直链 $C_{2-20}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是直链 $C_{2-20}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是异丙基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$ 、 $C_{18}$ 、 $C_{19}$ 、或 $C_{20}$ 脂肪族。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$ 、 $C_{18}$ 、 $C_{19}$ 、或 $C_{20}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的直链 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$ 、 $C_{18}$ 、 $C_{19}$ 、或 $C_{20}$ 烷基。在一些实施例中, $R$ 是直链 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 、 $C_4$ 、 $C_5$ 、 $C_6$ 、 $C_7$ 、 $C_8$ 、 $C_9$ 、 $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$ 、 $C_{14}$ 、 $C_{15}$ 、 $C_{16}$ 、 $C_{17}$ 、 $C_{18}$ 、 $C_{19}$ 、或 $C_{20}$ 烷基。在一些实施例中,每个 $R''$ 独立地是如本文所述的 $R$ ,例如,在一些实施例中,每个 $R''$ 是甲基。在一些实施例中, $R''$ 是任选地经取代的芳基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, $R$ 是对甲基苯基。在一些实施例中, $R$ 是苜基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的1,3-二唑基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中, $R$ 是任选地经取代的1-甲基-2-(1,3)-二唑基。在一些实施例中, $R''$ 的出现是 $-N(R'')_2$ 。在一些实施例中, $R''$ 是 $-N(CH_3)_2$ 。在一些实施例中, $R''$ (例如,在 $-P(O)(R'')_2$ 中)的出现是 $-OR'$ ,其中 $R'$ 如本文所述。在一些实施例中, $R'$ 是如本文所述的 $R$ 。在一些实施例中,是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中,是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中, $R''$ 是 $-OCH_3$ 。在一些实施例中,每个 $R''$ 是如本文所述的 $-OR'$ 。在一些实施例中,每个 $R''$ 是 $-OCH_3$ 。在一些实施例中,每个 $R''$ 是 $-OH$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHP(O)(OH)_2)O-$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHP(O)(OCH_3)_2)O-$ 。在一些实施例中,键联是 $-OP(O)(NHP(O)(CH_3)_2)O-$ 。

O-。

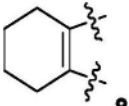
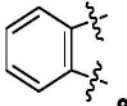
[0842] 在一些实施例中， $-N(R'')_2$ 是 $-N(R')_2$ 。在一些实施例中， $-N(R'')_2$ 是 $-NHR$ 。在一些实施例中， $-N(R'')_2$ 是 $-NHC(O)R$ 。在一些实施例中， $-N(R'')_2$ 是 $-NHC(O)OR$ 。在一些实施例中， $-N(R'')_2$ 是 $-NHS(O)_2R$ 。

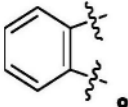
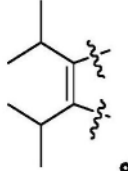
[0843] 在一些实施例中，核苷酸间键联是磷酰基核苷酸间键联。在一些实施例中，核苷酸间键联包含如本文所述的 $-X-R^L$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(-L^L-R^L)_2$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R^L)]_2$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[NR'R^L]_2$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R')_2]_2$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R^L)]_2(CHR^{L1}R^{L2})$ ，其中 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^L)(CHR^{L1}R^{L2})$ ，其中 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ ，其中 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 中的每一个独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R')_2](CHR'R^{L2})$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R^L)]_2(R^L)$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^L)(R^L)$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^L)(R')$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C[N(R')_2](R')$ 。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ ，其中每个 $R^{L1}$ 和 $R^{L2}$ 独立地是 $R^L$ ，并且每个 $R'$ 和 $R^L$ 独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ ，其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^{L1})(CHR'R^{L2})$ ，其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是 $-N=C(NR'R^{L1})(R')$ ，其中变量独立地如本文所述。在一些实施例中，每个 $R'$ 独立地是 $R$ 。在一些实施例中， $R$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中，

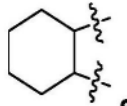
$R$ 是甲基。在一些实施例中， $-X-R^L$ 是  在一些实施例中，选自 $R'$ 、 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 、 $R^{L2}$ 等

的两个基团(在一些实施例中，在同一原子上(例如 $-N(R')_2$ 、或 $NR'R^L$ 、或 $-N(R^L)_2$ ，其中 $R'$ 和 $R^L$ 可以独立地是如本文所述的 $R$ )等)，或在不同的原子上(例如， $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ 或 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ 中的两个 $R'$ ；也可以是其他两个可以是 $R$ 的变量，例如 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 、 $R^{L2}$ 等))独立地是 $R$ 并取与它们的插入原子一起形成本文所述的环。在一些实施例中，例如 $-N(R')_2$ 、 $-N(R^L)_2$ 、 $-NR'R^L$ 、 $-NR'R^{L1}$ 、 $-NR'R^{L2}$ 、 $-CR'R^{L1}R^{L2}$ 等的同一原子上的 $R$ 、 $R'$ 、 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 或 $R^{L2}$ 中两个一起形成本文所述的环。在一些实施例中，在两个不同的原子上的两个 $R'$ 、 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 或 $R^{L2}$ ，例如在 $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ 、 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ 等中的两个 $R'$ 一起形成本文所述的环。在一些实施例中，形成的环是任选地经取代的具有0-5个另外的杂原子的3-20(例如，3-15、3-12、3-10、3-9、3-8、3-7、3-6、4-15、4-12、4-10、4-9、4-8、4-7、4-6、5-15、5-12、5-10、5-9、5-8、5-7、5-6、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、等)单环、双环或三环。在一些实施例中，形成的环是如本文所述的单环。在一些实施例中，形成的环是任选地经取代的5-10元单环。在一些实施例中，所形成的环是双环的。在一些实施例中，所形成的环是多环的。在一些实施例中，是或可以是 $R$ 的两个基团(例如 $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ 或 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ 中的两个 $R'$ ， $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ 、 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ 中的两个 $R'$ ，等)一起形成任选地经取代的二价烃链，例如任选地经取代的 $C_{1-20}$ 脂肪族链，任选地经取代的 $-(CH_2)_n-$ ，其中 $n$ 是1-20(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20)。在一些实施例中，烃链是饱和的。在一些实施例中，烃链是部分不饱和的。在一

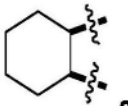
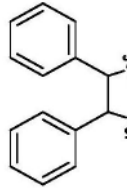
些实施例中, 烃链是不饱和的。在一些实施例中, 是或可以是R的两个基团 (例如  $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$  或  $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$  中的两个R',  $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ 、 $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$  中的两个R', 等) 一起形成任选地经取代的二价杂脂肪族链, 例如任选地经取代的具有1-10个杂原子的 $C_{1-20}$ 杂脂肪族链。在一些实施例中, 杂脂肪族链是饱和的。在一些实施例中, 杂脂肪族链是部分不饱和的。在一些实施例中, 杂脂肪族链是不饱和的。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)_2-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)_3-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)_4-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)_5-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-(CH_2)_6-$ 。在一些实施例中, 链是任选地经取代的 $-CH=CH-$ 。在一些实施例中,

链是任选地经取代的  在一些实施例中, 链是任选地经取代的  在一些实

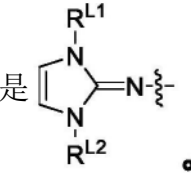
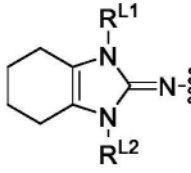
施例中, 链是任选地经取代的  在一些实施例中, 链是任选地经取代的  在

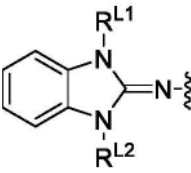
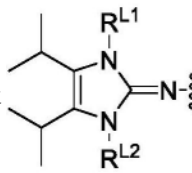
一些实施例中, 链是任选地经取代的  在一些实施例中, 链是任选地经取代的

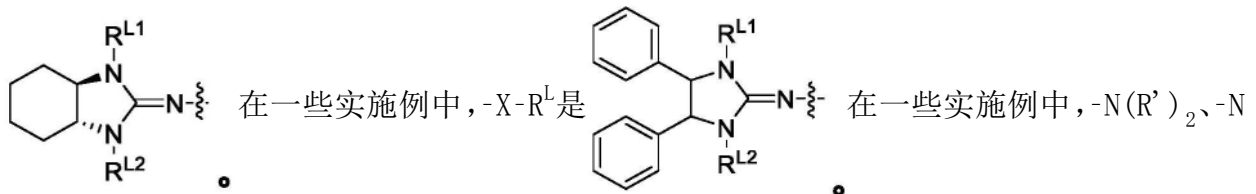
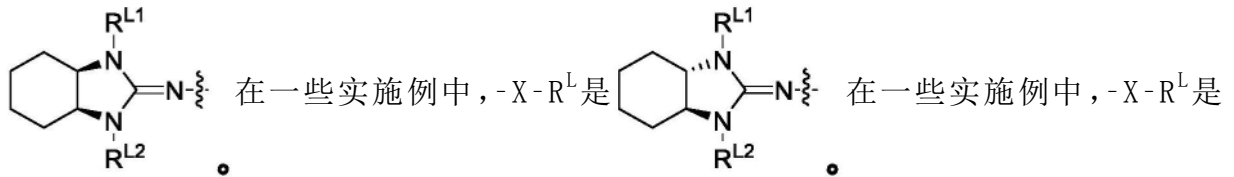
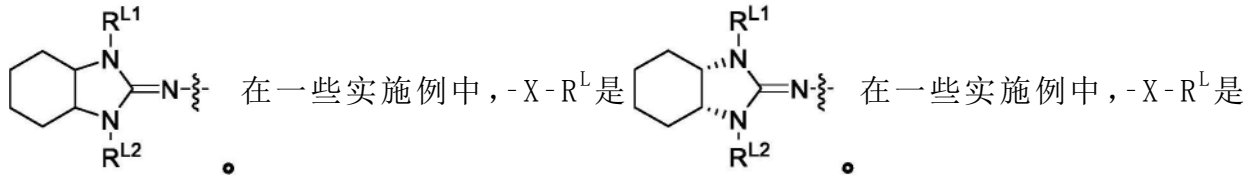
 在一些实施例中, 链是任选地经取代的  在一些实施例中, 链是任选地经


取代的  在一些实施例中, 链是任选地经取代的  在一些实施例中, 不同


原子上的R、R'、 $R^L$ 、 $R^{L1}$ 、 $R^{L2}$ 等中两个一起形成如本文所述的环。例如, 在一些实施例中,  $-X-R^L$


是  在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是

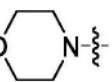
 在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是

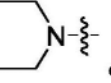


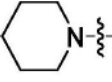
$(R)_2$ 、 $-N(R^L)_2$ 、 $-NR^L R^L$ 、 $-NR^L R^{L1}$ 、 $-NR^L R^{L2}$ 、 $-NR^{L1} R^{L2}$  等是所形成的环。在一些实施例中, 环是任
 选地经取代的 。

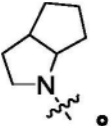
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

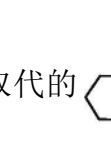
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

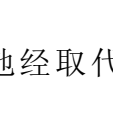
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

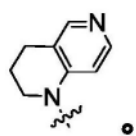
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

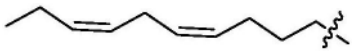
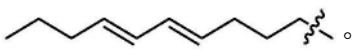
环是任选地经取代的 。

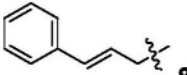
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。

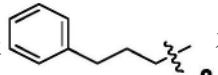
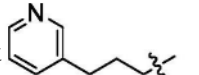
在一些实施例中, 环是任选地经取代的 。



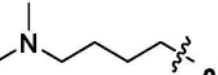
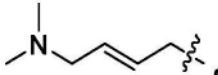
[0844] 在一些实施例中,  $R^{L1}$  和  $R^{L2}$  相同。在一些实施例中,  $R^{L1}$  和  $R^{L2}$  不同。在一些实施例中,  $R^{L1}$  和  $R^{L2}$  中的每一个独立地是  $R^L$ , 如本文所述, 例如以下所述。

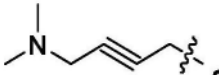
[0845] 在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的  $C_{1-30}$  脂肪族。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的  $C_{1-30}$  烷基。在一些实施例中,  $R^L$  是直链的。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的直链  $C_{1-30}$  烷基。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基。在一些实施例中,  $R^L$  是甲基。在一些实施例中,  $R^L$  是乙基。在一些实施例中,  $R^L$  是正丙基。在一些实施例中,  $R^L$  是异丙基。在一些实施例中,  $R^L$  是正丁基。在一些实施例中,  $R^L$  是叔丁基。在一些实施例中,  $R^L$  是 (E) -  $CH_2-CH=CH-CH_2-CH_3$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是 (Z) -  $CH_2-CH=CH-CH_2-CH_3$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$  是  $CH_3(CH_2)_2C\equiv CC\equiv C(CH_2)_3-$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是  $CH_3(CH_2)_5C\equiv C-$ 。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的芳基。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,  $R^L$  是被一个或多个卤素取代的苯基。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地被卤素、-N(R')、或 -N(R')C(O)R' 取代的苯基。在一些实施例中,  $R^L$  是任选地被 -Cl、-Br、-F、-N(Me)<sub>2</sub>、或 -NHCOCH<sub>3</sub> 取代的苯基。在一些实施例中,  $R^L$  是 -L<sup>L</sup>-R', 其中 L<sup>L</sup> 是任选地经取代的  $C_{1-20}$  饱和、部分不饱和或不饱和烃链。在一些实施例中, 这样的烃链是直链。在一些实施例中, 这样的烃链是未经取代的。在一些实施例中, L<sup>L</sup> 是 (E) -  $CH_2-CH=CH-$ 。在一些实施例中, L<sup>L</sup> 是 - $CH_2-C\equiv C-CH_2-$ 。在一些实施例中, L<sup>L</sup> 是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-。在一些实施例中, L<sup>L</sup> 是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-。在一些实施例中, L<sup>L</sup> 是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-, 其中 n 是 1-30 (例如 1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 等)。在一些实施例中, R' 是如本文所述的任选地经取代的芳基。在一些实施例中, R' 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, R' 是苯基。在一些实施例中, R' 是如本文所述的任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中, R' 是 2'-吡啶基。

在一些实施例中, R' 是 3'-吡啶基。在一些实施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$

是 。在一些实施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$  是 -L<sup>L</sup>-N(R')<sub>2</sub>, 其

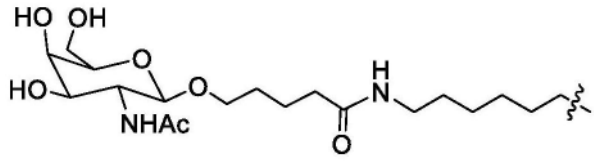
中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中, 每个 R' 独立地是如本文所述的  $C_{1-6}$  脂肪族。在一些实施例中, -N(R')<sub>2</sub> 是 -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。在一些实施例中, -N(R')<sub>2</sub> 是 -NH<sub>2</sub>。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-N(R')<sub>2</sub>, 其中 n 是 1-30 (例如, 1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 等)。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-N(R')<sub>2</sub>, 其中 n 是 1-30 (例如, 1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 等)。在一些实

施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$  是 。在一些实施例中,  $R^L$  是

。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-NH<sub>2</sub>。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-

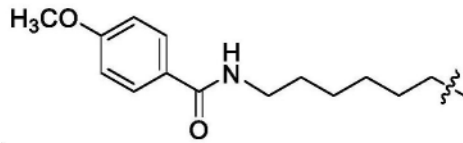
CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-R', 其中 n 是 1-30 (例如, 1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 等)。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 其中 n 是 1-30 (例如, 1-20、5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 等)。在一些实施例中,  $R^L$  是 -(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, 其中 n 是 1-30 (例如, 1-20、

5-30、6-30、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30等)。在一些实施例中， $R^L$ 是或包含碳水化合物部分，例如GalNAc。在一些实施例中， $R^L$ 是 $-L^L-GalNAc$ 。在一些实施例中， $R^L$ 是

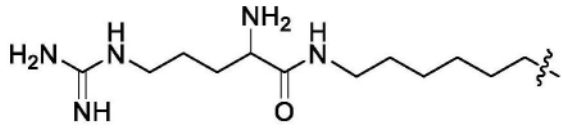


在一些实施例中， $L^L$ 的一个或多个亚甲基单元

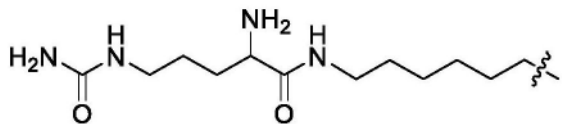
独立地被-Cy-替代(例如，任选地经取代的1,4-亚苯基、任选地经取代的3-30元二价单环、双环或多环脂肪族环等)、-O-、-N(R')-(例如-NH)、-C(O)-、-C(O)N(R')-(例如-C(O)NH-)、-C(NR')-(例如-C(NH)-)、-N(R')C(O)N(R')-(例如-NHC(O)NH-)、-N(R')C(NR')(R')-(例如-NHC(NH)NH-)、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 等。例如，在一些实施例中， $R^L$ 是



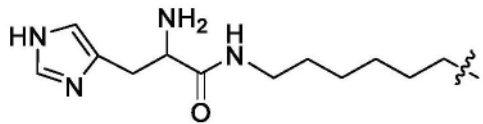
在一些实施例中， $R^L$ 是



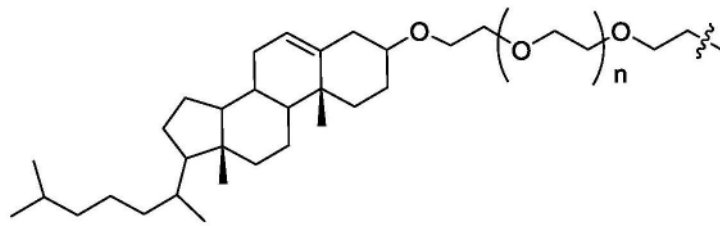
在一些实施例中， $R^L$ 是



在一些实施例中， $R^L$ 是

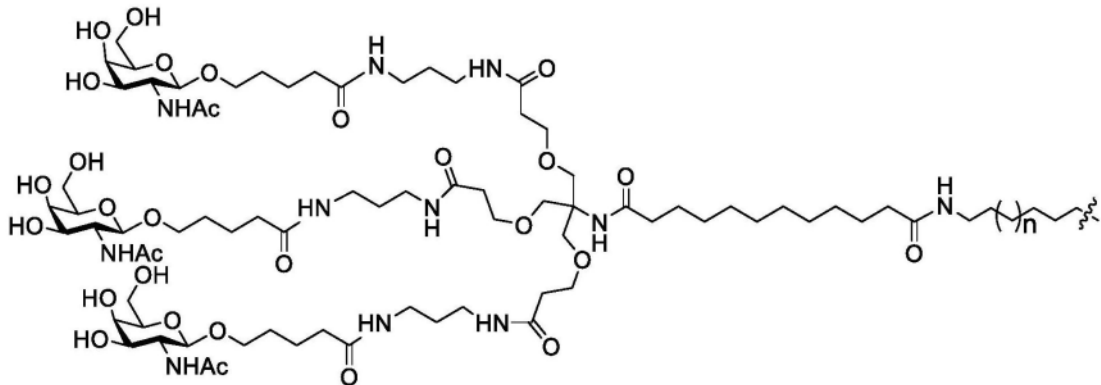


在一些实施例中， $R^L$ 是



其中n是0-20。在一些实施例中， $R^L$ 是

或包含一个或多个另外的化学部分(例如碳水化合物部分、GalNAc部分等)，其任选地经取代并经由接头(接头可以是二价或多价)连接。例如，在一些实施例中， $R^L$ 是



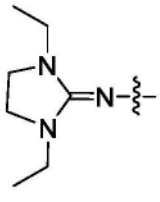
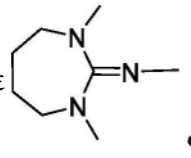
其中n是

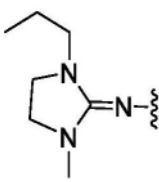
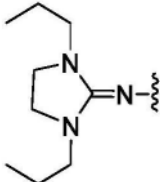
0-20。在一些实施例中， $R^L$ 是  $H_2N(CH_2)_nN$ ，其中  $n$  是 0-20。在一些实施例中， $R^L$  是如本文所述的  $R'$ 。如本文所述，许多变量可以独立地是  $R'$ 。在一些实施例中， $R'$  是如本文所述的  $R$ 。如本文所述，各种变量可以独立地是  $R$ 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基。在一些实施例中， $R$  是甲基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的环脂肪族基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的环烷基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的芳基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的苯基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的杂芳基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的杂环基。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的具有 1-5 个杂原子的  $C_{1-20}$  杂环基，例如，杂原子中一个是氮。

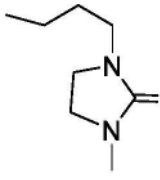
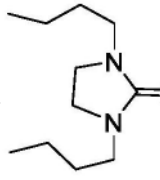
在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。

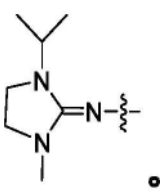
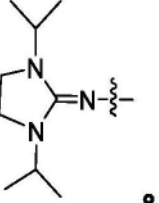
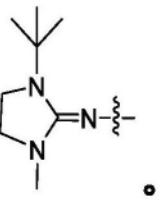
在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。在一些实施例中， $R$  是任选地经取代的 。

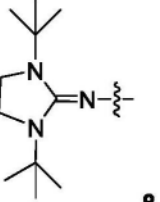
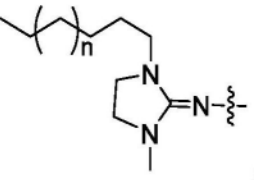
[0846] 在一些实施例中， $-X-R^L$  是 。在一些实施例中， $-X-R^L$  是 。在

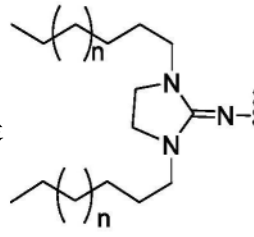
一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例

中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>

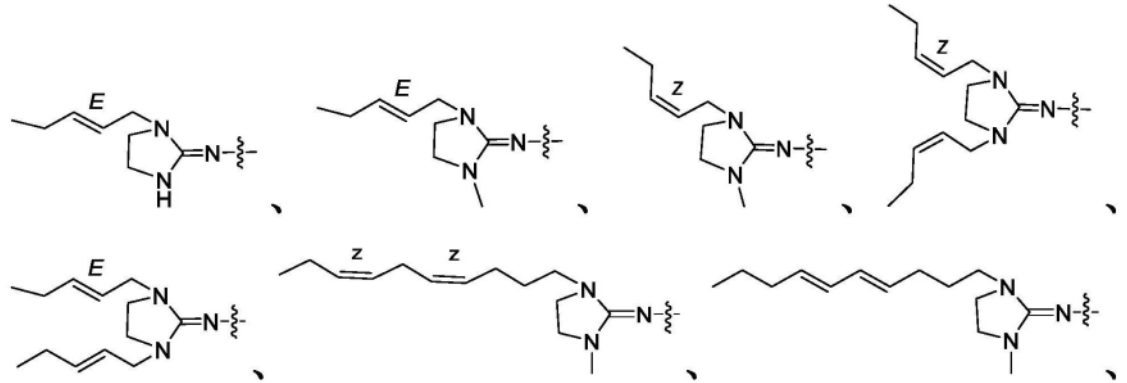
是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是

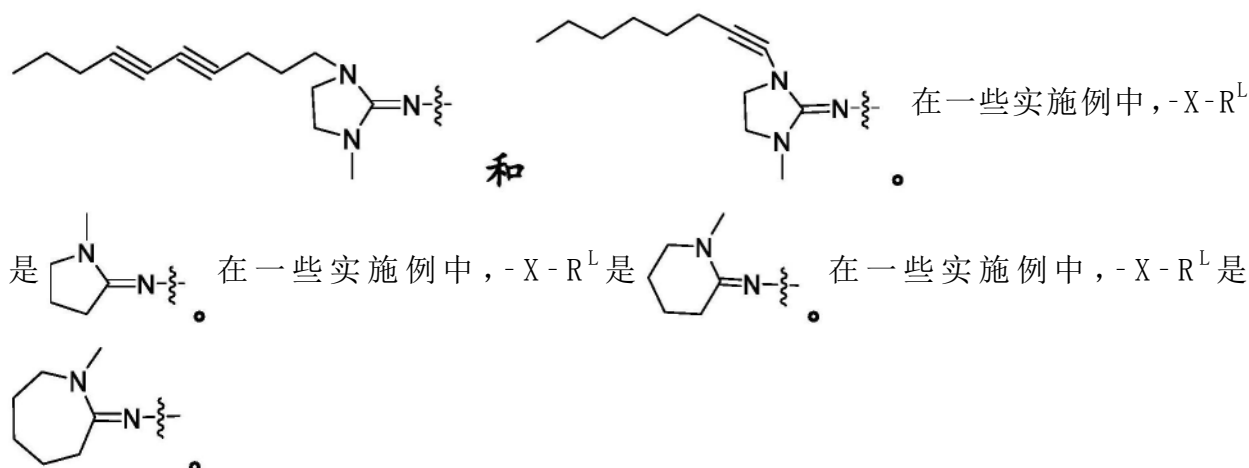
 在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在

一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  其中n是

1-20。在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是  其中n是1-20。在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>

选自：





[0847] 在一些实施例中,  $R^L$  是如本文所述的“R”。在一些实施例中,  $R^L$  是如本文所述的R。

[0848] 在一些实施例中,  $R''$  或  $R^L$  是或包含另外的化学部分。在一些实施例中,  $R''$  或  $R^L$  是或包含另外的化学部分, 其中另外的化学部分是或包含碳水化合物部分。在一些实施例中,  $R''$  或  $R^L$  是或包含GalNAc。在一些实施例中,  $R^L$  或  $R''$  被替换为或用于连接到另外的化学部分。

[0849] 在一些实施例中, X是-O-。在一些实施例中, X是-S-。在一些实施例中, X是  $-L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-$ 。在一些实施例中, X是  $-N(-L^L-R^L)-L^L-$ 。在一些实施例中, X是  $-L^L-N(-L^L-R^L)-$ 。在一些实施例中, X是  $-N(-L^L-R^L)-$ 。在一些实施例中, X是  $-L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L-$ 。在一些实施例中, X是  $-N=C(-L^L-R^L)-L^L-$ 。在一些实施例中, X是  $-L^L-N=C(-L^L-R^L)-$ 。在一些实施例中, X是  $-N=C(-L^L-R^L)-$ 。在一些实施例中, X是  $L^L$ 。在一些实施例中, X是共价键。

[0850] 在一些实施例中, Y是共价键。在一些实施例中, Y是-O-。在一些实施例中, Y是  $-N(R')$ 。在一些实施例中, Z是共价键。在一些实施例中, Z是-O-。在一些实施例中, Z是  $-N(R')$ 。在一些实施例中,  $R'$  是R。在一些实施例中, R是-H。在一些实施例中, R是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族。在一些实施例中, R是甲基。在一些实施例中, R是乙基。在一些实施例中, R是丙基。在一些实施例中, R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中, R是苯基。

[0851] 如本文所述, 本披露中结构中的各种变量可以是或包含R。R的合适的实施例在本披露中被广泛描述。如本领域技术人员所理解的, 针对可为R的变量描述的R实施例也可适用于可为R的另一变量。类似地, 针对变量的组分/部分(例如, L)描述的实施例也可适用于可以是或包含该组分/部分的其他变量。

[0852] 在一些实施例中,  $R''$  是  $R'$ 。在一些实施例中,  $R''$  是  $-N(R')_2$ 。

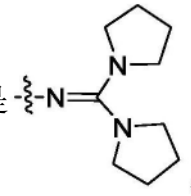
[0853] 在一些实施例中,  $-X-R^L$  是-SH。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是-OH。

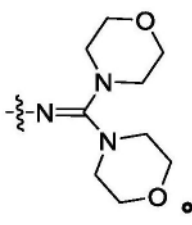
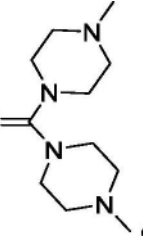
[0854] 在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-N(R')_2$ 。在一些实施例中, 每个  $R'$  独立地是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。在一些实施例中, 每个  $R'$  独立地是甲基。

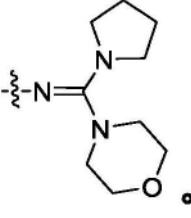
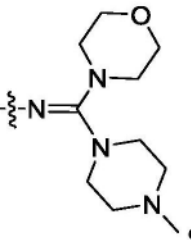
[0855] 在一些实施例中, 不带负电荷的核苷酸间键联具有  $-OP(=O)(-N=C((N(R'))_2)_2-O-$  的结构。在一些实施例中, 一个  $N(R')_2$  的  $R'$  基团是R, 另一个  $N(R')_2$  的  $R'$  基团是R, 并且两个R基团与居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的环, 例如n001中的5元环。在一些实施例中, 每个  $R'$  独立地是R, 其中每个R独立地是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族。

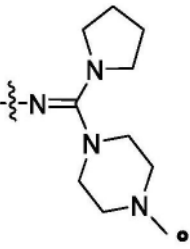
[0856] 在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-N=C(-L^L-R')$ 。在一些实施例中,  $-X-R^L$  是  $-N=C(-L^{L1}-L^{L2}-L^{L3}-R')$ , 其中每个  $L^{L1}$ 、 $L^{L2}$  和  $L^{L3}$  独立地是  $L''$ , 其中每个  $L''$  独立地是共价键, 或选自  $C_{1-10}$  脂肪族基团和具有1-5个杂原子的  $C_{1-10}$  杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基

团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团替代:  
 $C_{1-6}$ 亚烷基、 $C_{1-6}$ 亚烯基、 $-C\equiv C-$ 、具有1-5个杂原子的二价 $C_1-C_6$ 杂脂肪族基团、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP(NR')O-$ 、 $-OP(R')O-$ 或 $-OP(OR')[B(R')_3]O-$ ,并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被 $Cy^L$ 替代。在一些实施例中, $L^2$ 是 $-Cy-$ 。在一些实施例中, $L^1$ 是共价键。在一些实施例中, $L^3$ 是共价键。

一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  $-N=C(-L^1-Cy-L^3-R')$ 。 $_2$ 。在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在

一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施

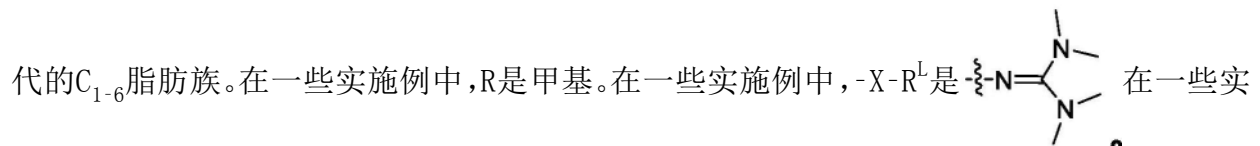
例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施例中,  $-X-R^L$ 是  在一些实施例中,  $-X-$

$R^L$ 是 

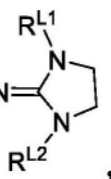
[0857] 在一些实施例中,如在本披露中使用的, $L$ 是共价键。在一些实施例中, $L$ 是选自 $C_{1-30}$ 脂肪族基团和具有1-10个杂原子的 $C_{1-30}$ 杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团,其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团替代:  
 $C_{1-6}$ 亚烷基、 $C_{1-6}$ 亚烯基、 $-C\equiv C-$ 、具有1-5个杂原子的二价 $C_1-C_6$ 杂脂肪族基团、 $-C(R')_2-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-S-S-$ 、 $-N(R')$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(NR')$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)O-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S(O)_2N(R')$ 、 $-C(O)S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')$ 、 $-P(O)(SR')$ 、 $-P(O)(R')$ 、 $-P(O)(NR')$ 、 $-P(S)(OR')$ 、 $-P(S)(SR')$ 、 $-P(S)(R')$ 、 $-P(S)(NR')$ 、 $-P(R')$ 、 $-P(OR')$ 、 $-P(SR')$ 、 $-P(NR')$ 、 $-P(OR')[B(R')_3]$ 、 $-OP(O)(OR')O-$ 、 $-OP(O)(SR')O-$ 、 $-OP(O)(R')O-$ 、 $-OP(O)(NR')O-$ 、 $-OP(OR')O-$ 、 $-OP(SR')O-$ 、 $-OP$

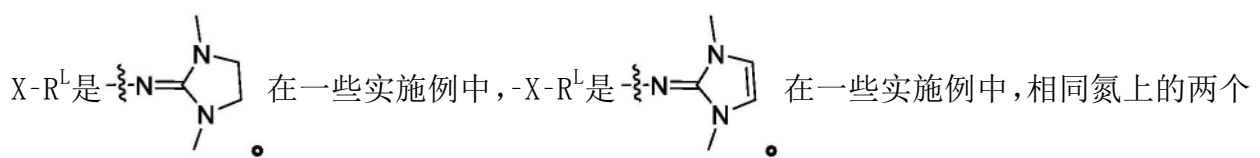
(NR')O-、-OP(R')O-或OP(OR')[B(R')<sub>3</sub>]O-，并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy<sup>L</sup>替代。在一些实施例中，L是选自C<sub>1-30</sub>脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C<sub>1-30</sub>杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团，其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团替代：-C≡C-、-C(R')<sub>2</sub>-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')<sub>3</sub>]O-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-或-OP(OR')[B(R')<sub>3</sub>]O-，并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy<sup>L</sup>替代。在一些实施例中，L是选自C<sub>1-10</sub>脂肪族基团和具有1-10个杂原子的C<sub>1-10</sub>杂脂肪族基团的二价的任选地经取代的直链或支链基团，其中一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被选自以下的任选地经取代的基团替代：-C≡C-、-C(R')<sub>2</sub>-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>N(R')-、-C(O)S-、-C(O)O-、-P(O)(OR')-、-P(O)(SR')-、-P(O)(R')-、-P(O)(NR')-、-P(S)(OR')-、-P(S)(SR')-、-P(S)(R')-、-P(S)(NR')-、-P(R')-、-P(OR')-、-P(SR')-、-P(NR')-、-P(OR')[B(R')<sub>3</sub>]O-、-OP(O)(OR')O-、-OP(O)(SR')O-、-OP(O)(R')O-、-OP(O)(NR')O-、-OP(OR')O-、-OP(SR')O-、-OP(NR')O-、-OP(R')O-或-OP(OR')[B(R')<sub>3</sub>]O-，并且一个或多个氮或碳原子任选地且独立地被Cy<sup>L</sup>替代。在一些实施例中，一个或多个亚甲基单元任选地且独立地被任选地经取代的基团取代，所述基团选自-C≡C-、-C(R')<sub>2</sub>-、-Cy-、-O-、-S-、-S-S-、-N(R')-、-C(O)-、-C(S)-、-C(NR')-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)N(R')-、-N(R')C(O)O-、-S(O)-、-S(O)<sub>2</sub>-、-S(O)<sub>2</sub>N(R')-、-C(O)S-或-C(O)O-。

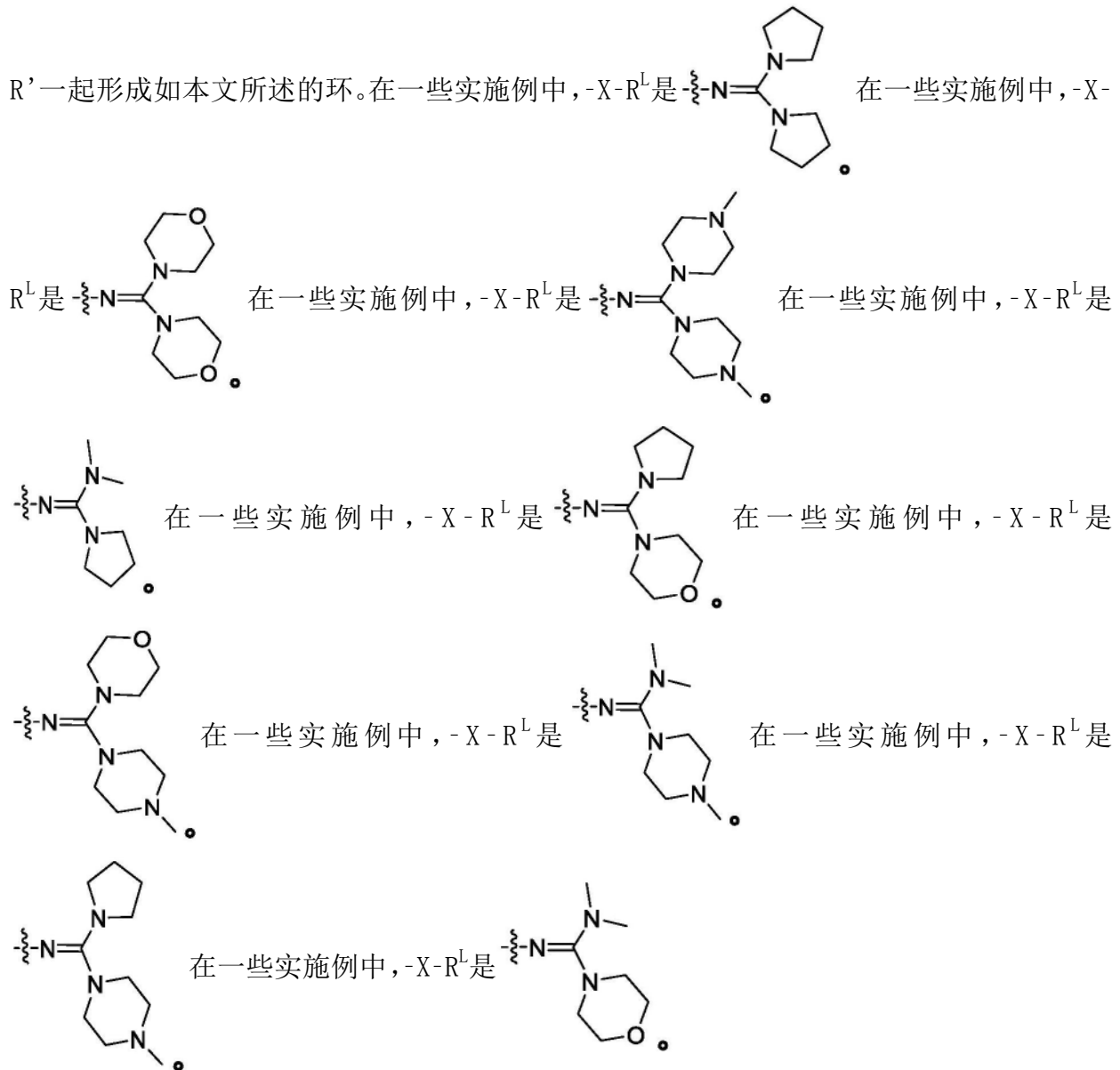
[0858] 在一些实施例中，核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是-N=C[N(R')<sub>2</sub>]<sub>2</sub>。在一些实施例中，每个R'独立地是R。在一些实施例中，R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族。在一些实施例中，R是甲基。在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是



[0859] 在一些实施例中，-X-R<sup>L</sup>是


 ，其中R<sup>1</sup>和R<sup>2</sup>独立地是R'。在一些实施例中，-



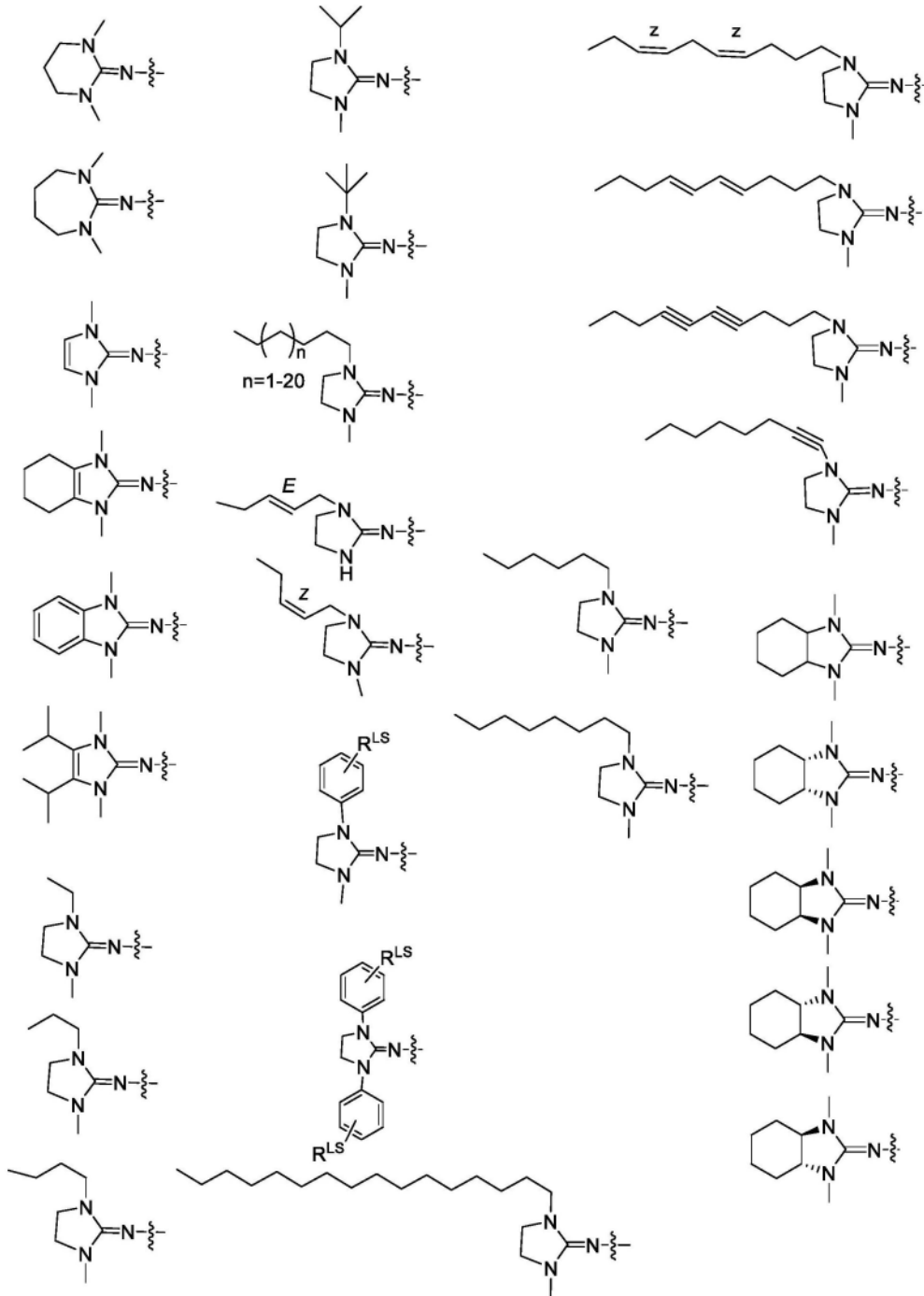


[0860] 在一些实施例中， $-X-R^L$  是如本文所述的 R。在一些实施例中，R 不是氢。在一些实施例中，R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。在一些实施例中，R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  烷基。在一些实施例中，R 是甲基。

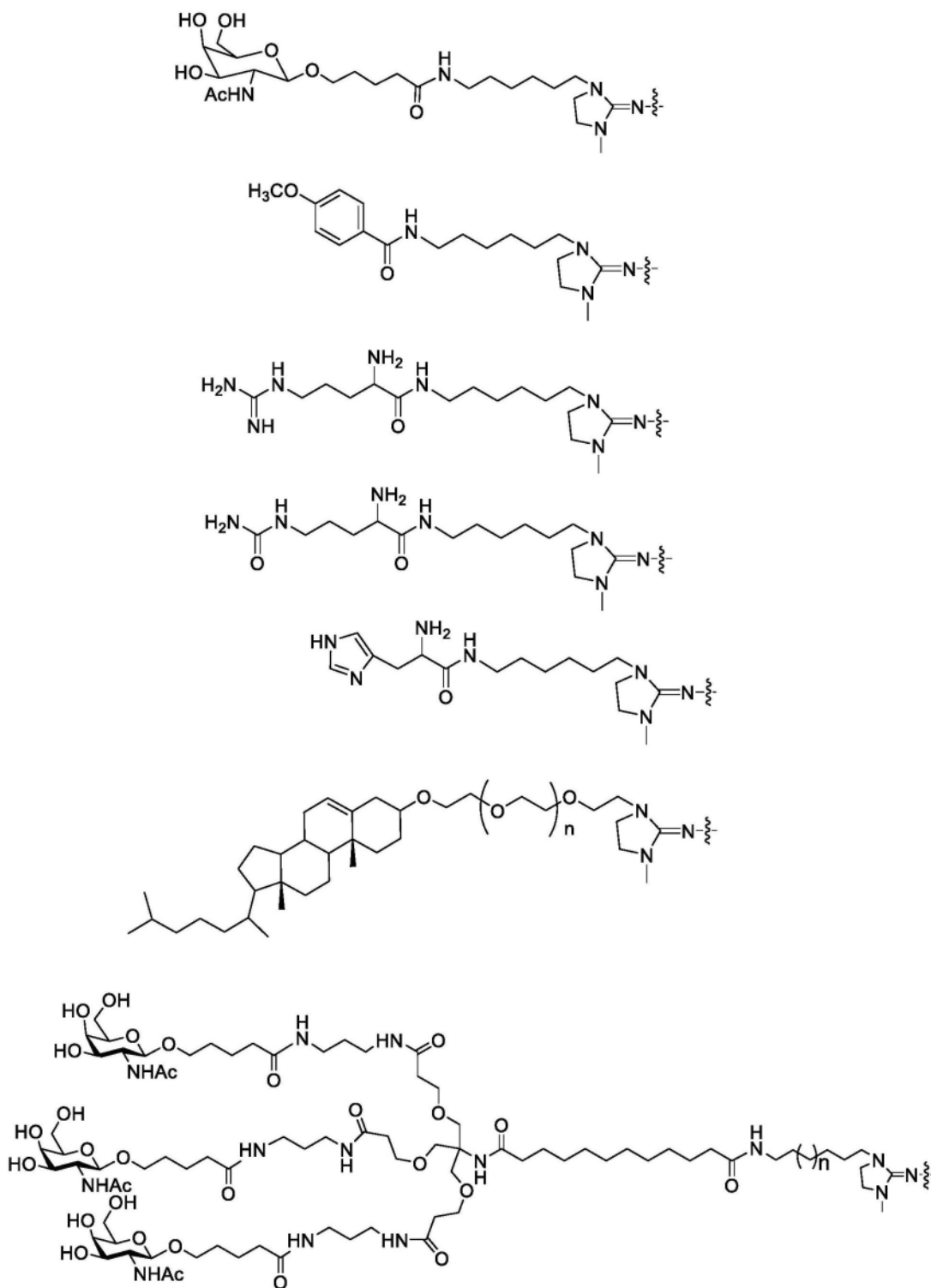
[0861] 在一些实施例中， $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，X 如本文所述。在一些实施例中， $R^L$  如本文所述。在一些实施例中，键联具有  $-Y-P^L(-X-R^L)-Z-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表，并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(O)(-X-R^L)-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(S)(-X-R^L)-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(-X-R^L)-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(O)(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(S)(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含  $-P(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有  $-P(O)(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有  $-P(S)(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。在一些实施例中，键联具有  $-P(-X-R^L)-O-$  的结构，其中  $-X-R^L$  选自下表。

自下表。在一些实施例中，P键合至氮原子（例如sm01、sm18等中的氮原子）。在一些实施例中，键联具有或包含 $-O-P(O)(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含 $-O-P(S)(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在一些实施例中，键联具有或包含 $-O-P(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在一些实施例中，键联具有 $-O-P(O)(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在一些实施例中，键联具有 $-O-P(S)(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在一些实施例中，键联具有 $-O-P(-X-R^L)-O-$ 的结构，其中 $-X-R^L$ 选自下表。在下表中，n是0-20或如本文所述。正如本领域技术人员理解的，键联可以以盐的形式存在。

表L-1. 某些有用的部分与键联磷键合（例如， $-X-R^L$ ）。

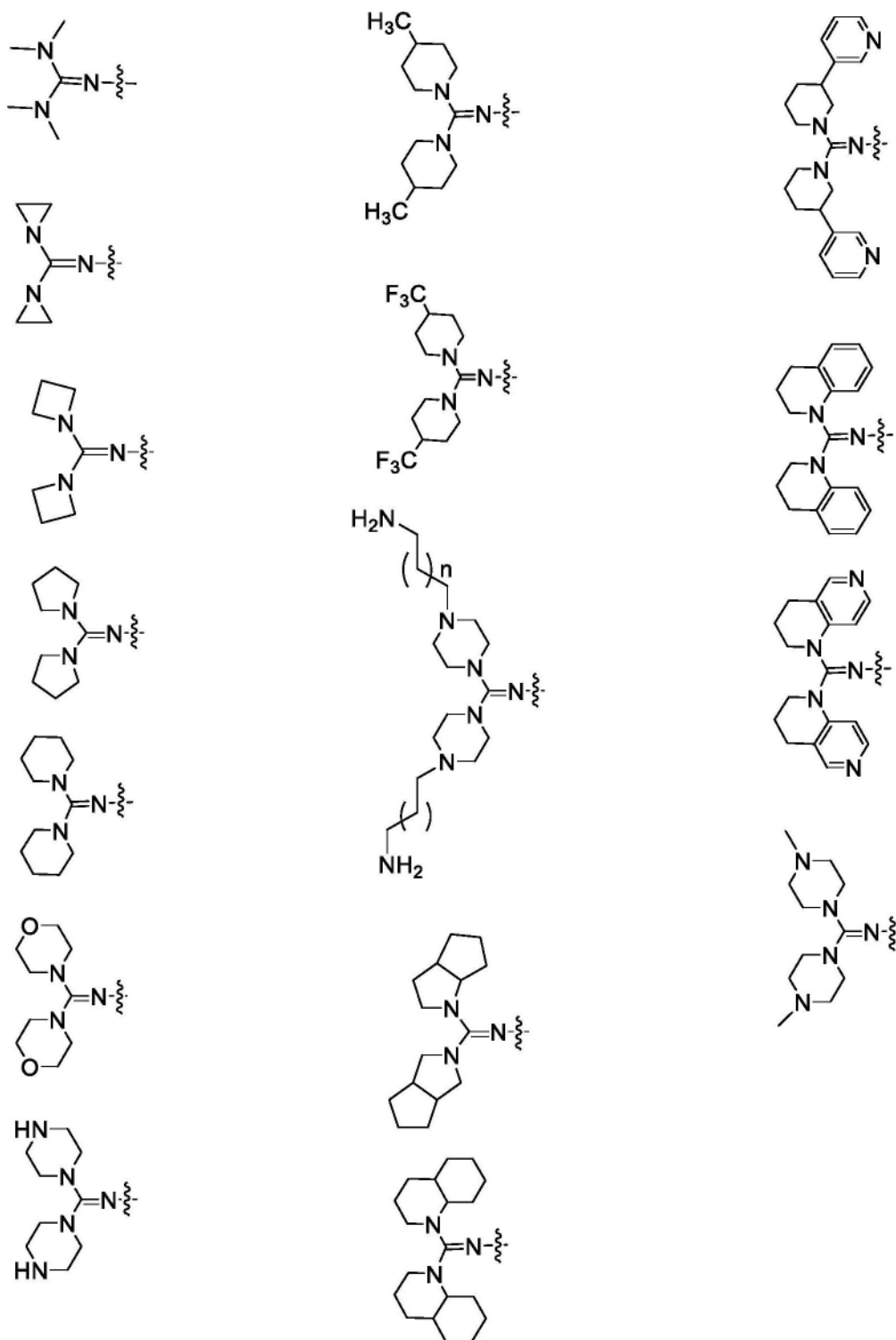
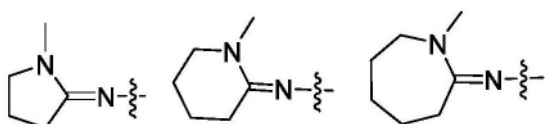


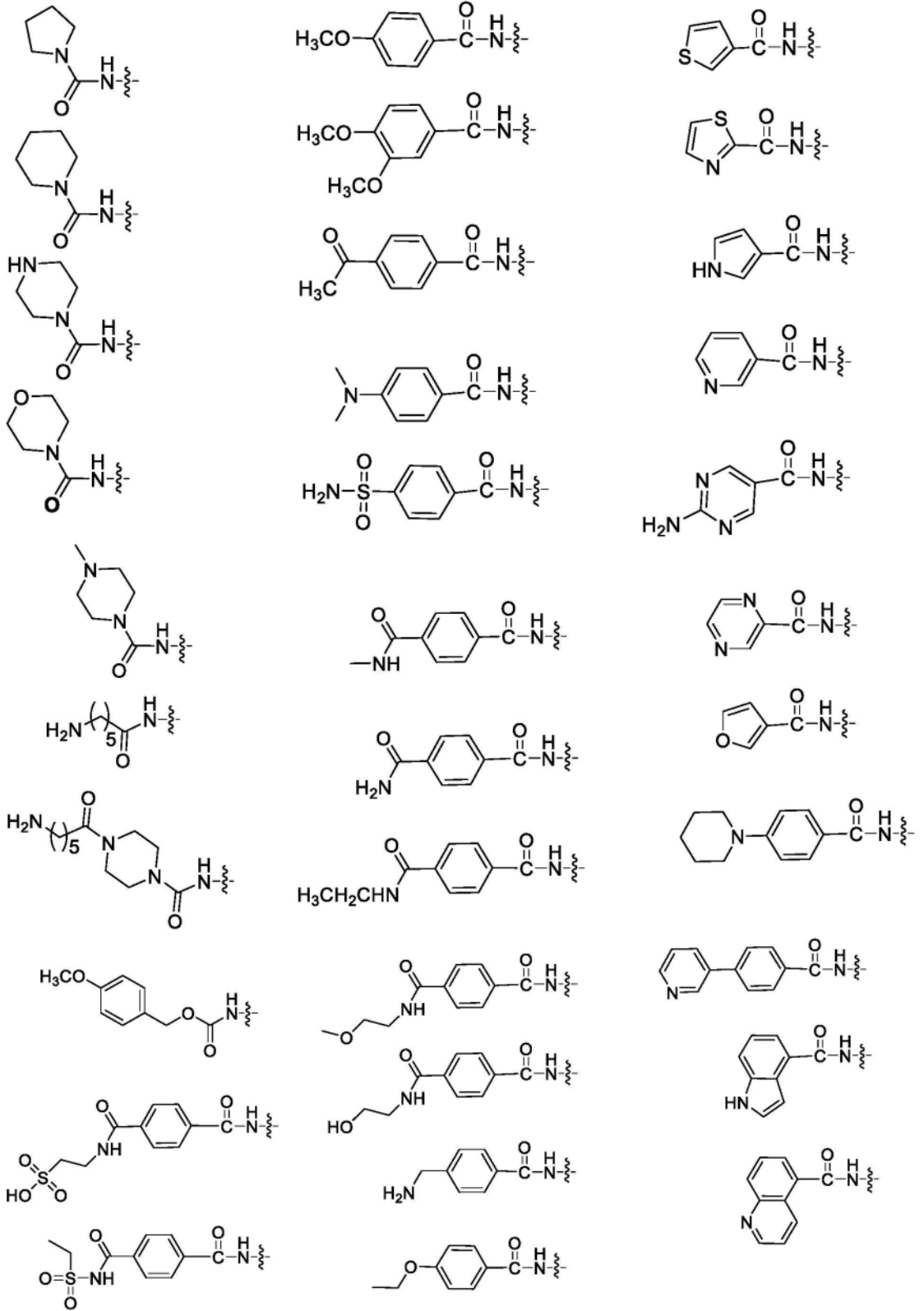


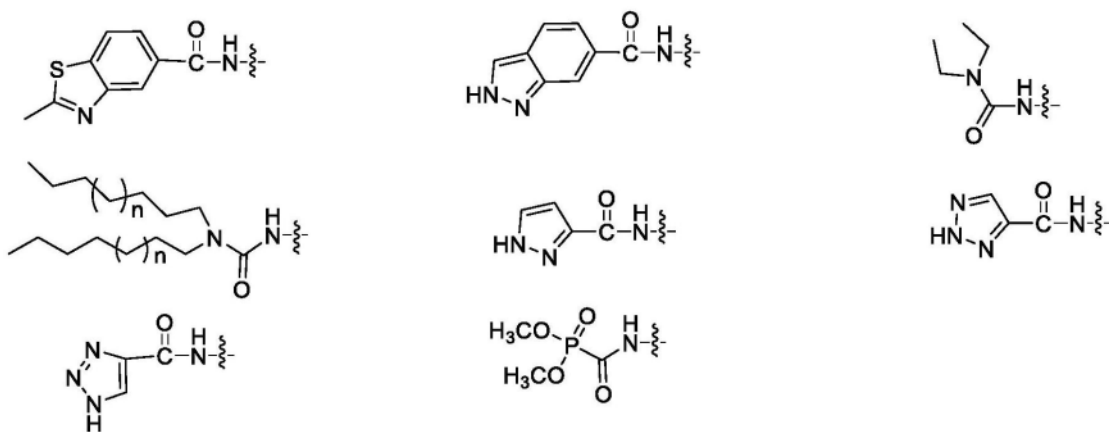


其中每个 $R^{LS}$ 独立地是 $R^S$ 。在一些实施例中,每个 $R^{LS}$ 独立地是 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-F$ 、 $-N(Me)_2$ 、或 $-NHC(O)CH_3$ 。

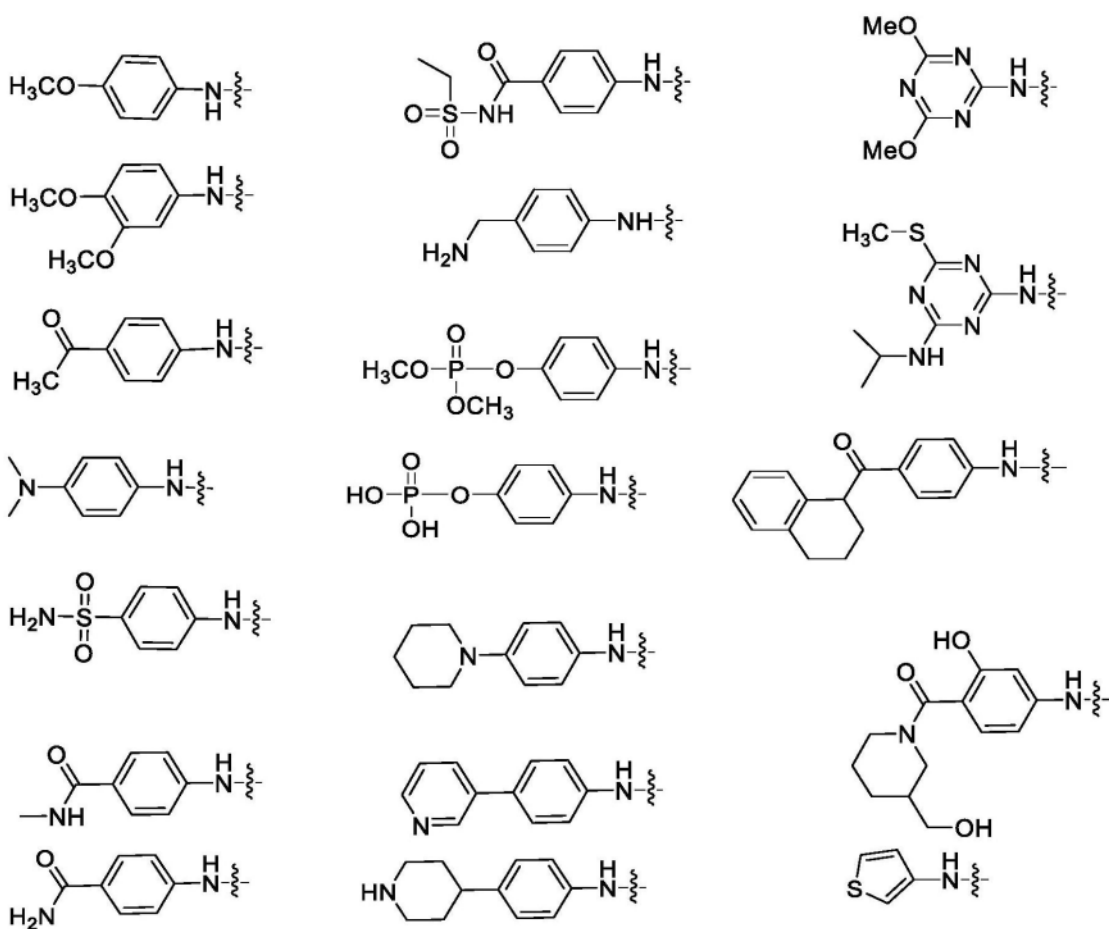
表L-2. 某些有用的部分与键联磷键合(例如,  $-X-R^L$ )。

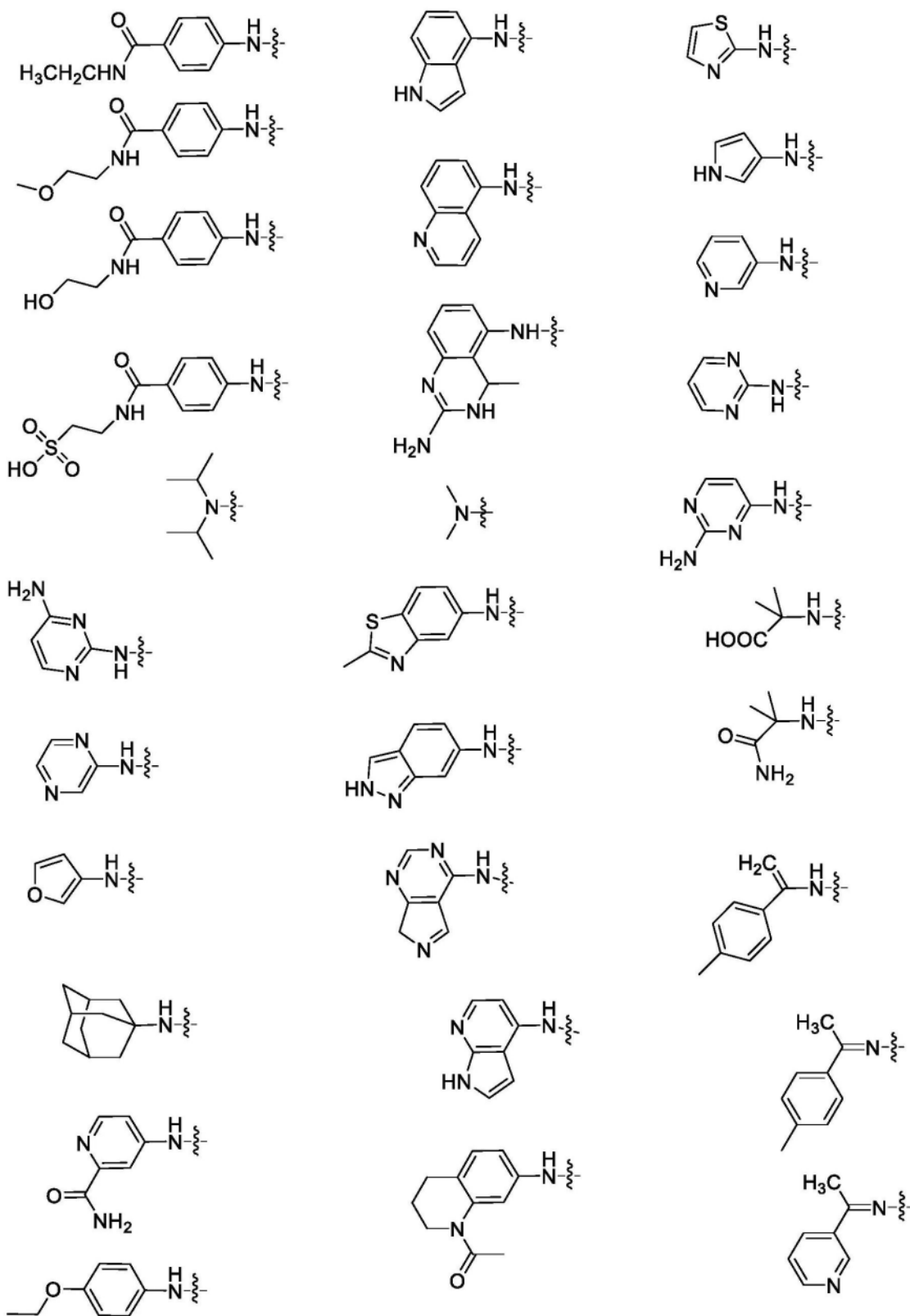
表L-3. 某些有用的部分与键联磷键合(例如,  $-X-R^L$ )。表L-4. 某些有用的部分与键联磷键合(例如,  $-X-R^L$ )。

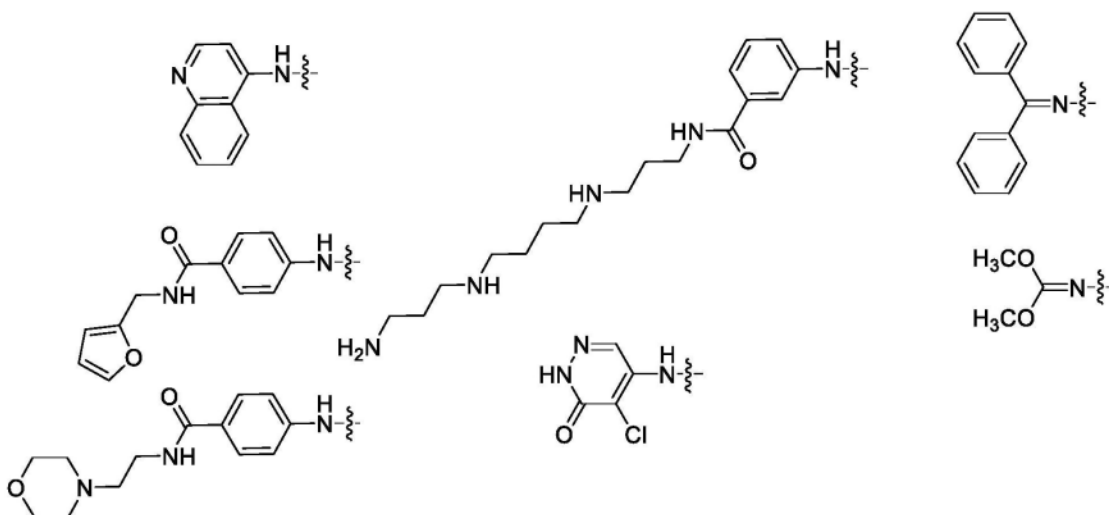




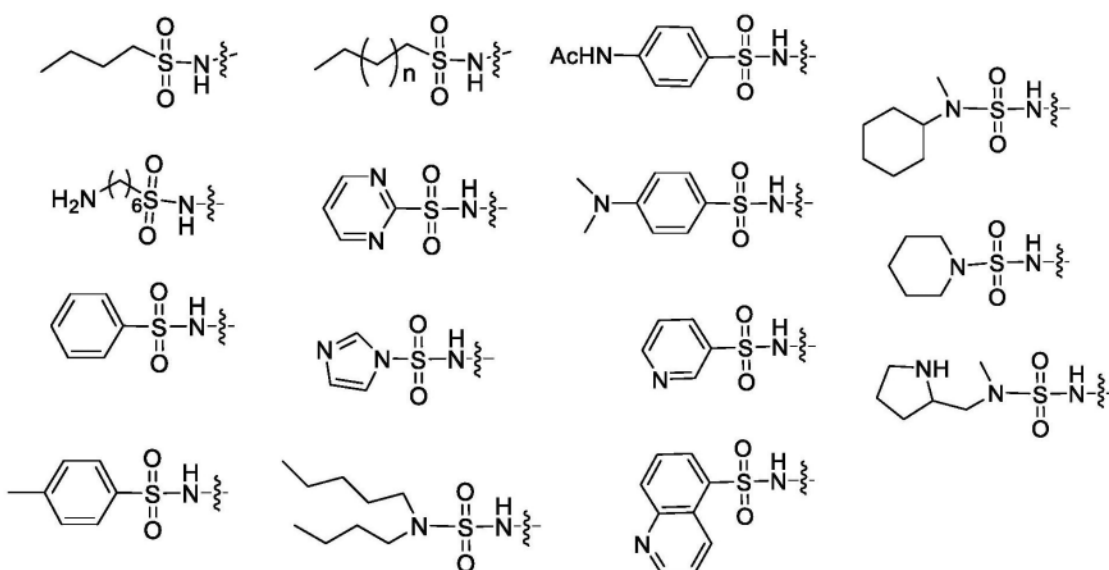
表L-5.某些有用的部分与键联磷键合(例如, -X-R<sup>L</sup>)。

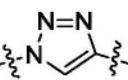
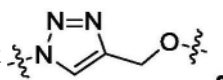






表L-6. 某些有用的部分与键联磷键合(例如,  $-X-R^L$ )。



[0862] 在一些实施例中,核苷酸间键联,例如不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联,具有 $-L^{L1}-Cy^{II}-L^{L2}-$ 的结构。在一些实施例中, $L^{L1}$ 键合至糖的3'-碳。在一些实施例中, $L^{L2}$ 键合至糖的5'-碳。在一些实施例中, $L^{L1}$ 是 $-O-CH_2-$ 。在一些实施例中, $L^{L2}$ 是共价键。在一些实施例中, $L^{L2}$ 是 $-N(R')$ 。在一些实施例中, $L^{L2}$ 是 $-NH-$ 。在一些实施例中, $L^{L2}$ 与糖的5'-碳键合,该5'-碳被=O取代。在一些实施例中, $Cy^{II}$ 是任选地经取代的具有0-5个杂原子的3-10元饱和环、部分不饱和环或芳香族环。在一些实施例中, $Cy^{II}$ 是任选地经取代的三唑环。在一些实施例中, $Cy^{II}$ 是  在一些实施例中,键联是 。

[0863] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联具有 $-OP(=W)(-N(R'))_2-O-$ 的结构。

[0864] 在一些实施例中, $R'$ 是R。在一些实施例中, $R'$ 是H。在一些实施例中, $R'$ 是 $-C(O)R$ 。在一些实施例中, $R'$ 是 $-C(O)OR$ 。在一些实施例中, $R'$ 是 $-S(O)_2R$ 。

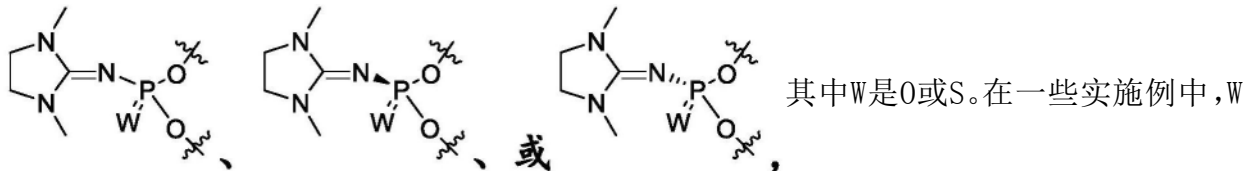
[0865] 在一些实施例中, $R''$ 是 $-NHR'$ 。在一些实施例中, $-N(R')_2$ 是 $-NHR'$ 。

[0866] 如本文所述,一些实施例,R是H。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。

在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是取代的甲基。在一些实施例中,R是乙基。在一些实施例中,R是取代的乙基。

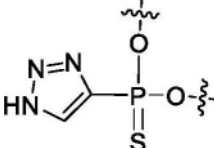
[0867] 在一些实施例中,如本文所述,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

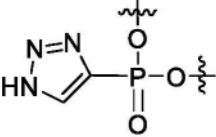
[0868] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,R'是或包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)包含任选地经取代的炔基。在一些实施例中,R'是任选地经取代的炔基。在一些实施例中,R'包含任选地经取代的三键。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含三唑或炔基部分。在一些实施例中,R'是或包含任选地经取代的三唑或炔基部分。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是任选地经取代的。在一些实施例中,三唑部分(例如,三唑基)是经取代的。在一些实施例中,三唑部分是未取代的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的胍部分。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,R'、R<sup>L</sup>、或-X-R<sup>L</sup>是或包含任选地经取代的胍部分。在一些实施例中,R'、R<sup>L</sup>、或-X-R<sup>L</sup>是或包含任选地经取代的环状胍部分。在一些实施例中,R'、R<sup>L</sup>、或-X-R<sup>L</sup>包含任选地经取代的环状胍部分并且核苷酸间键联具有以下结构:



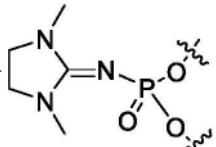
是O。在一些实施例中,W是S。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是立体化学控制的。

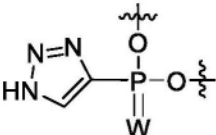
[0869] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联是包含三唑部分的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联包含任选地经取代的三唑基。在一些实施例中,包含三唑部分(例如,任选地经取代

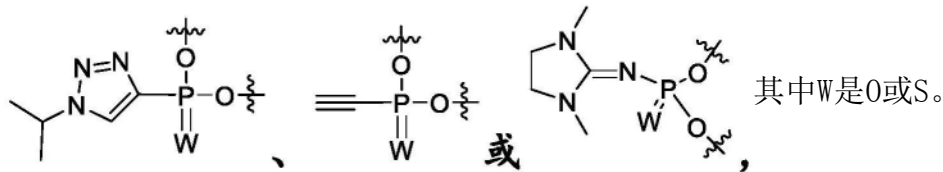
的三唑基)的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,包含三唑部分的

核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联,例如不带负电

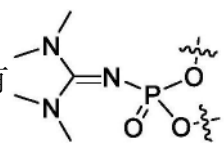
荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联,包含环状胍部分。在一些实施例中,包含环状胍部

分的核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键

联或中性核苷酸间键联是或包含选自以下的结构: 



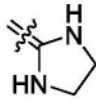
[0870] 在一些实施例中,核苷酸间键联包含Tmg基团 ()。在一些实施例中,核苷

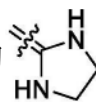
酸间键联包含Tmg基团并具有  的结构 (“Tmg核苷酸间键联”)。在一些实施例

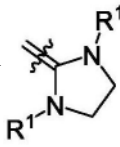
中,中性核苷酸间键联包括PNA和PMO的核苷酸间键联以及Tmg核苷酸间键联。

[0871] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-20元杂环基或杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,这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。

[0872] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,杂芳基直接键合至键联磷。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5-6元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联包含具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基,其中至少一个杂原子是氮。在一些实施例中,至少两个杂原子是氮。在一些实施例中,杂环基直接键合至键联磷。在一些实施例中,当杂环基是经由其=N-直接与键联磷键合的胍部分的一部分时,该杂环基经由接头(例如,=N-)与键联磷键合。在一些实施例中,

不带负电荷的核苷酸间键联包含任选地经取代的  基团。在一些实施例中,不带负电

荷的核苷酸间键联包含经取代的  基团。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键

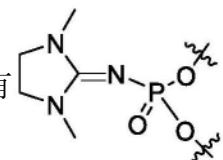
联包含  基团。在一些实施例中,每个R<sup>1</sup>独立地是任选经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实

施例中,每个R<sup>1</sup>独立地是甲基。

[0873] 在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联(例如,中性核苷酸间键联)不是手性受控的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的且其键联磷为R<sub>p</sub>。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的且其键联磷为S<sub>p</sub>。

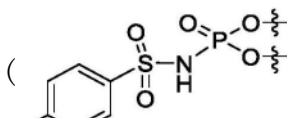
[0874] 在一些实施例中,核苷酸间键联不包含键联磷。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-(O)-或-C(O)-N(R')-的结构,其中R'如本文所述。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-(O)-的结构。在一些实施例中,核苷酸间键联具有-C(O)-N(R')-的结构,其中R'如本文所述。在各种实施例中,-C(O)-与氮键合。在一些实施例中,核苷酸间键联是或包含-C(O)-O-,其是氨基甲酸酯部分的一部分。在一些实施例中,核苷酸间键联是或包含-C(O)-O-,其是脲部分的一部分。

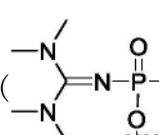
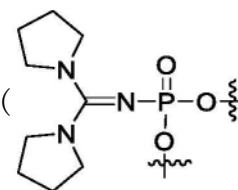
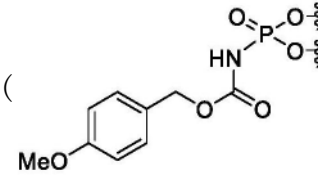
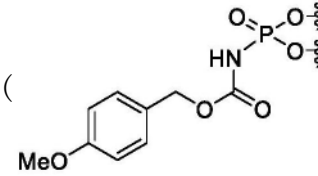
[0875] 在一些实施例中,寡核苷酸包含1-20、1-15、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含1-20、1-15、1-10、1-5、或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、或多个中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联和/或中性核苷酸间键联各自任选地且独立地是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个中性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。在一些

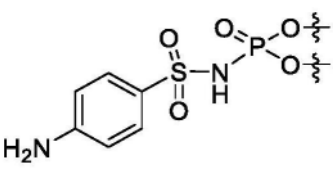
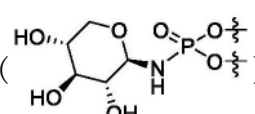
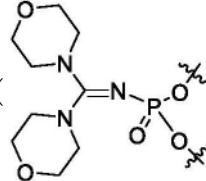
实施例中,至少一个不带负电荷的核苷酸间键联/中性核苷酸间键联具有的

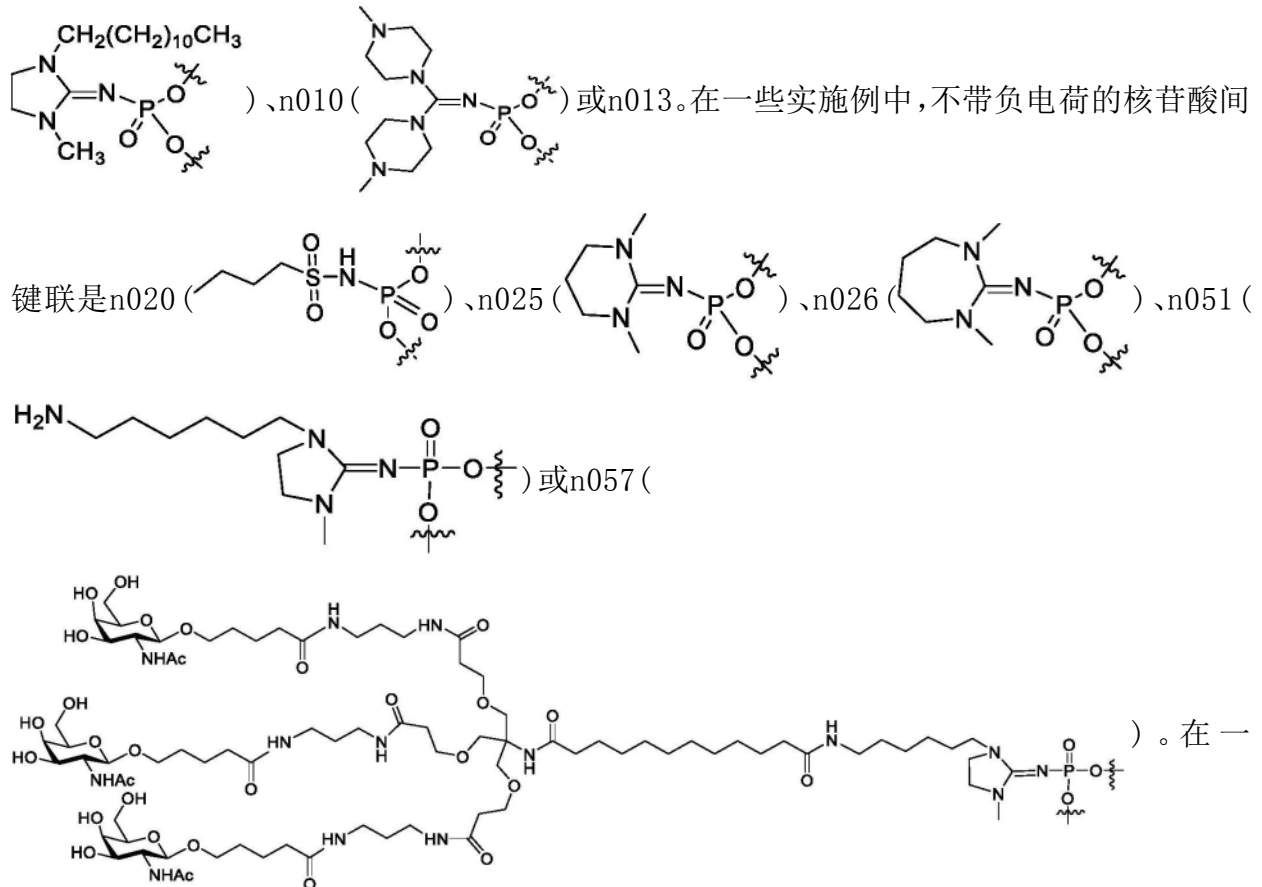
结构。在一些实施例中,寡核苷酸包含至少一个其中键联磷呈R<sub>p</sub>构型的不带负电荷的核苷酸间键联和至少一个其中键联磷呈S<sub>p</sub>构型的不带负电荷的核苷酸间键联。

[0876] 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/或不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联、和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸

间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001, n002 ()、

n003 ()、n004 ()、n005 ()、n006 ()、

n007 ()、n008 ()、n009 ()、



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

[0880] 如本文所述,各种变量可以是R,例如R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>等。R的各种实施例在本披露中描述(例如,当描述可以是R的变量时)。这样的实施例通常可用于可以是R的所有变量。在一些实施例中,R是氢。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-30</sub>(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R是任选地经取代的烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的甲基。在一些实施例中,R是甲基。在一些实施例中,R是任选地经取代的乙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丙基。在一些实施例中,R是异丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的丁基。在一些实施例中,R是任选地经取代的戊基。在一些实施例中,R是任选地经取代的己基。

[0881] 在一些实施例中,R任选地经取代的3-30元(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的环脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的环烷基。在一些实施例中,环脂肪族是单环、双环或多环,其中每个单环单元独立地是饱和的或部分饱和的。在一些实施例中,R是任选地经取代的环丙基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环丁基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环戊基。在一些实施例中,R是任选地经取代的环己基。在一些实施例中,R是任选地经取代的金刚烷基。

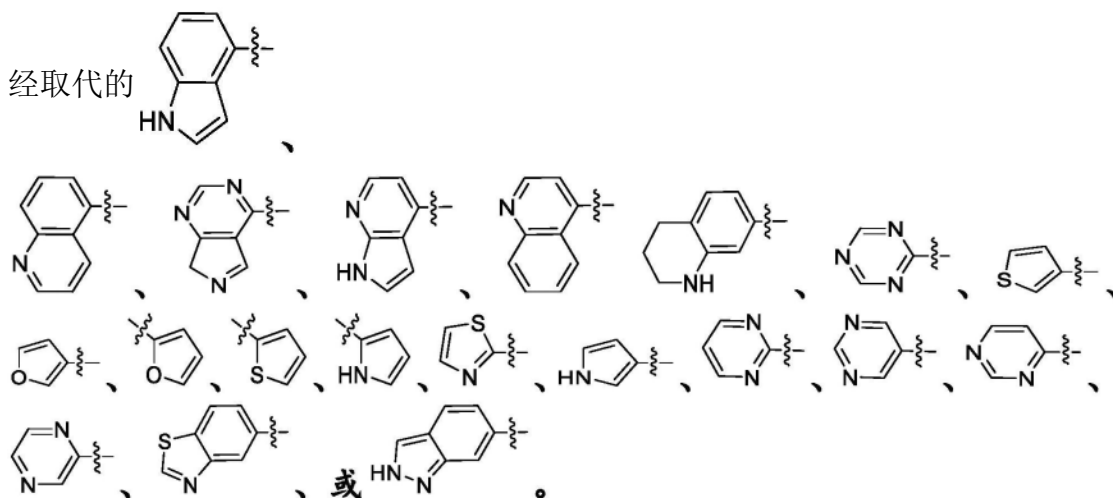
[0882] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C<sub>1-30</sub>(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的杂脂肪族。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C<sub>1-20</sub>脂肪族。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族。在一些实施例中,R是具有

1-3个杂原子的任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂烷基。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 杂烷基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-30元(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的杂环脂肪族。在一些实施例中,R是任选地经取代的杂环烷基。在一些实施例中,杂环脂肪族是单环、双环或多环,其中每个单环单元独立地是饱和的或部分饱和的。

[0883] 在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{6-30}$ 芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中,R是 $C_{6-14}$ 芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的 $C_{6-30}$ 芳基脂肪族。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的 $C_{6-30}$ 芳基杂脂肪族。

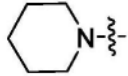
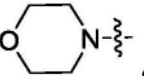
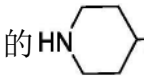
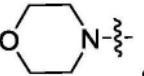
[0884] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代5-30(5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)的元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-10元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是有一个杂原子的任选地经取代的5元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是有一个杂原子的任选地经取代的6元杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的单环杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环杂芳基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环杂芳基。在一些实施例中,杂原子是氮。

[0885] 在一些实施例中,R是任选地经取代的2-吡啶基。在一些实施例中,R是任选地经取代的3-吡啶基。在一些实施例中,R是任选地经取代的4-吡啶基。在一些实施例中,R任选地



[0886] 在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的3-30(3、4、5、6、7、8、9、

10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)元的杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的3元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的4元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-20元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-10个杂原子的任选地经取代的5-10元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的5元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-5个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-4个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-3个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有1-2个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是具有一个杂原子的任选地经取代的6元杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的单环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的双环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的多环杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的饱和杂环基。在一些实施例中,R是任选地经取代的部分不饱和杂环基。在一些实施例中,杂原子

是氮。在一些实施例中,R是任选地经取代的  在一些实施例中,R是任选地经取代的  的  在一些实施例中,R是任选地经取代的 。

[0887] 在一些实施例中,两个R基团任选地且独立地合在一起形成共价键。在一些实施例中,同一个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与该原子合在一起形成除该原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。在一些实施例中,两个或更多个原子上的两个或更多个R基团任选地且独立地与居于它们之间的原子合在一起形成除居于它们之间的原子外还具有0-10个杂原子的任选地经取代的3-30元单环、双环或多环。

[0888] 各种变量可包含任选地经取代的环,或可与它们的一个或多个插入原子一起形成环。在一些实施例中,环是3-30(例如,3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30)元的。在一些实施例中,环是3-20元的。在一些实施例中,环是3-15元的。在一些实施例中,环是3-10元的。在一些实施例中,环是3-8元的。在一些实施例中,环是3-7元的。在一些实施例中,环是3-6元的。在一些实施例中,环是4-20元的。在一些实施例中,环是5-20元的。在一些实施例中,环是单环的。在一些实施例中,环是双环的。在一些实施例中,环是多环的。在一些实施例中,双环或多环中的每个单环或每个单环单元独立地是饱和的、部分饱和的或芳香族的。在一些实施例中,双环或多环中的每个单环或每个单环单元独立地为3-10元且具有0-5个杂原子。

[0889] 在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮、硫、硅和磷。在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮、硫和磷。在一些实施例中,每个杂原子独立地选自氧、氮和硫。在一些实施例中,杂原子呈氧化形式。

[0890] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露,可以利用许多其他类型的核苷酸间键联,例如,在以下中描述的那些:美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,177,195;

5,023,243;5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,188,897;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,423;5,264,564;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,938;5,405,939;5,434,257;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,466,677;5,470,967;5,476,925;5,489,677;5,519,126;5,536,821;5,541,307;5,541,316;5,550,111;5,561,225;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,625,050;5,633,360;5,64,562;5,663,312;5,677,437;5,677,439;6,160,109;6,239,265;6,028,188;6,124,445;6,169,170;6,172,209;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;或 RE39464。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联描述于以下中: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和/或WO 2019/032612,其各自的核碱基、糖、核苷酸间键联,手性助剂/试剂以及寡核苷酸合成技术(试剂、条件、循环等)通过引用独立地并入本文。

[0891] 在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯连接、硫代磷酸酯连接和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001、n002、n003、n004、n005、n006、n007、n008、n009、n010、n013等)。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯连接、硫代磷酸酯连接和中性核苷酸间键联(例如,n001、n002、n003、n004、n005、n006、n007、n008、n009、n010、n013等)。

[0892] 寡核苷酸可包含各种数量的天然磷酸酯键联,例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-10、1-5或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个。在一些实施例中,寡核苷酸中的天然磷酸酯键联中的一个或多个(例如,1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-10、1-5或1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个)是连续的。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1至30个或更多个天然磷酸酯键联。

[0893] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是包含手性键联磷的手性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是硫代磷酸酯键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,手性核苷酸间键联就其手性键联磷而言是手性受控的。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<sub>p</sub>或S<sub>p</sub>)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。

[0894] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含一个或多个中性核苷酸间键联。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含一个或多个磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,中性核苷酸

间键联或不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个中性核苷酸间键联和不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

[0895] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自硫代磷酸酯核苷酸间键联、磷酸基胍核苷酸间键联和天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自硫代磷酸酯核苷酸间键联、n001和天然磷酸酯键联。

[0896] 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,本披露在设计的寡核苷酸中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。

[0897] 在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸基胍、磷酸基脒、磷酸基异脒、磷酸基异硫脒、磷酸亚胺酸酯或磷酸基亚胺硫代酸酯核苷酸间键联,例如,如US 20170362270中所述的那些。

[0898] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露,可以利用许多其他类型的核苷酸间键联,例如,在以下中描述的那些:美国专利号3,687,808;4,469,863;4,476,301;5,177,195;5,023,243;5,034,506;5,166,315;5,185,444;5,188,897;5,214,134;5,216,141;5,235,033;5,264,423;5,264,564;5,276,019;5,278,302;5,286,717;5,321,131;5,399,676;5,405,938;5,405,939;5,434,257;5,453,496;5,455,233;5,466,677;5,466,677;5,470,967;5,476,925;5,489,677;5,519,126;5,536,821;5,541,307;5,541,316;5,550,111;5,561,225;5,563,253;5,571,799;5,587,361;5,596,086;5,602,240;5,608,046;5,610,289;5,618,704;5,623,070;5,625,050;5,633,360;5,64,562;5,663,312;5,677,437;5,677,439;6,160,109;6,239,265;6,028,188;6,124,445;6,169,170;6,172,209;6,277,603;6,326,199;6,346,614;6,444,423;6,531,590;6,534,639;6,608,035;6,683,167;6,858,715;6,867,294;6,878,805;7,015,315;7,041,816;7,273,933;7,321,029;或RE39464。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是在以下文献中描述的经修饰的核苷酸间键联:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、WO 2017192664、WO 2017015575、WO 2017062862、WO 2018067973、WO 2017160741、WO 2017192679、WO 2017210647、WO 2018098264、WO 2018223056、WO 2018237194或WO 2019055951,其各自的核碱基、糖、核苷酸间键联、手性助剂/试剂以及寡核苷酸合成技术(试剂、条件、循环等)独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,核苷酸间键联描述于WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2019112485、US 20170362270、WO 2018156056、WO 2018056871、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376,并且可以根据本披露使用。

[0899] 在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,寡核苷酸中的每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联和中性核苷酸间键联

(例如,n001)。

[0900] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个核苷酸,这些核苷酸独立地包含在某些条件下易于“自行释放”的磷修饰。即,在某些条件下,设计特定的磷修饰,以使其从寡核苷酸自切割以提供例如天然磷酸酯键联。在一些实施例中,这样的磷修饰具有-O-L-R<sup>1</sup>的结构,其中L是如本文所述的L<sup>B</sup>,并且R<sup>1</sup>是如本文所述的R<sup>'</sup>。在一些实施例中,磷修饰具有-S-L-R<sup>1</sup>的结构,其中L和R<sup>1</sup>各自独立地如本披露中所述。这样的磷修饰基团的某些实例可以在US 9982257中找到。在一些实施例中,自行释放基团包含吗啉基。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。

[0901] 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.[当前医学化学](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。

[0902] 寡核苷酸可以包含多种天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的5%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的10%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的15%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的20%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的25%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的30%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的35%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的40%或更多的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含4、5、6、7、8、9、10个或更多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为2。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为3。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为4。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为5。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为6。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为7。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为8。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为9。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为10。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为11。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为12。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为13。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为14。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为15。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为16。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为17。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为18。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为19。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为20。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为21。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为22。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为23。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为24。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为25。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为26。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为27。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为28。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为29。在一些实施例中,天然磷酸酯键联的数目为30。在一些实施例中,天然磷酸酯键联是连续的。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的不超过一定数目的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联,例如,不超过1个、不超过2个、不超过3个、不超过4个、不超过5个、不超过6个、不超过7个、不超过8个、不超过9个、不超过10个、不超过11个、不超过12个、不超过13个、不超过14个、不超过15个、不超过16个、不超过17个、不超过18个、不超过19个、不超过20个、不超过21个、不超过22个、不超过23个、不超过24个、不超过25个、不超过26个、不超过27个、不超过28个、不超过29或不超过30个中性磷酸酯键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸不包含天然磷酸酯键联。

[0903] 在一些实施例中,本披露展示,在至少一些情况下,尤其是在5'末端和/或3'末端的Sp核苷酸间键联可以改善寡核苷酸稳定性。在一些实施例中,本披露展示,尤其是,天然磷酸酯键联和/或Rp核苷酸间键联可以改善寡核苷酸从系统中移除。如本领域普通技术人员所理解的,根据本披露,可以利用本领域已知的多种测定法来评估这样的特性。

[0904] 在一些实施例中,寡核苷酸或其部分(例如,结构域、子结构域等)中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个独立地是Sp或Rp。在一些实施例中,高水平是如本文所述的Sp。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个,例如约1-5个(例如,约1、2、3、4或5个)是Rp。

[0905] 在一些实施例中,如在某些实例中所展示的,寡核苷酸或其部分包含一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联,其各自任选地并且独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联都不是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,每个手性不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中不带负电荷的核苷酸间键联的数目为约1-10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施例中,它是约1。在一些实施例中,它是约2。在一些实施例中,它是约3。在一些实施例中,它是约4。在一些实施例中,它是约5。在一些实施例中,它是约6。在一些实施例中,它是约7。在一些实施例中,它是约8。在一些实施例中,它是约9。在一些实施例中,它是约10。在一些实施例中,两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,没有两个不带负电荷的核苷酸间键联是连续的。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分中的所有不带负电荷的核苷酸间键联都是连续的(例如,3个连续的不带负电荷的核苷酸间键联)。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联,或两个或更多个(例如,约2个、约3个、约4个等)连续的不带负电荷的核苷酸间键联在寡核苷酸或其部分的3'末端。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸或其部分的最后两个或三个或四个核苷酸间键联包含至少一个不是n001的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的前两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的最后两个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的前两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp。在一些实施例中,连接寡核苷酸或其部分的最后两个核苷的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp。

[0906] 在一些实施例中,一个或多个手性核苷酸间键联是手性受控的,并且一个或多个手性核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的,并且一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的,并且每个不带负电荷的核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,寡核苷酸的前两个核苷之间的核苷酸间键联

是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,最后两个核苷之间的核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,两者独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个另外的核苷酸间键联,例如,其中一个位于相对于与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的位置-1和-2处的核苷之间(两个核苷紧邻与靶核苷相对的核苷的3' (例如,在 $\cdots N_0 N_{-1} N_{-2} \cdots$ 中, $N_0$ 是与靶核苷相对的核苷, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 分别在位置-1和-2处)。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

[0907] 如本文所展示,在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联诸如n001可以提供改善的特性和/或活性。在一些实施例中,在寡核苷酸中,各自独立地键合至包含如本文所述的核碱基的两个核苷的5'末端核苷酸间键联和/或3'末端核苷酸间键联是如本文所述的不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,前一个或多个(例如,前1、2和/或3个)和/或最后一个或多个(例如,最后1、2、3、4、5、6或7个)核苷酸间键联(其各自独立地键合至第一结构域中的两个核苷)独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,键合至第一结构域的两个核苷的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域中间的一个或多个核苷酸间键联(例如,第4、第5和第6核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合至第二结构域的两个核苷)独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,键合至第二结构域的两个核苷的第11个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不键合至与靶核苷相对的核苷但键合至其3'紧邻核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Rp。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,第一结构域的一个或多个核苷酸间键联(例如,第4、第5、第6、第7和第8核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合至第一结构域的两个核苷)独立地不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的一个或多个核苷酸间键联(例如,第1、第2、第3、第7、第8、第9、第12和第13核苷酸间键联中的一个或多个,其各自独立地键合至第一结构域的两个核苷)独立地不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第2和第3核苷酸间键联中的一个或两个不是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不是不带负电荷的核苷酸间键联的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Rp手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是Sp手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0908] 在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的位置+11、+9、+5、-2和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(“+”是从与靶腺苷相对的核苷向寡核苷酸的5'末端计数,其中+1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相对的核苷和其5'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,在 $5' - N_1 N_0 N_{-1} - 3'$ 的 $N_1$ 和 $N_0$ 之间,其中如本文所述, $N_0$ 是

与靶腺苷相对的核苷),并且“-”是从核苷向寡核苷酸的3'末端计数,其中-1位置处的核苷酸间键联是与靶腺苷相对的核苷和其3'侧相邻核苷之间的核苷酸间键联(例如,在5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'的N<sub>-1</sub>和N<sub>0</sub>之间,其中如本文所述,N<sub>0</sub>是与靶腺苷相对的核苷)。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,在位置+21,+20,+18,+17,+16,+15,+14,+13,+12,+11,+10,+6,+5,+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,在位置+24,+23,+22,+19,+16,+15,+14,+13,+12,+11,+10,+6,+5,+4,-2和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,在位置+23,+22,+19,+16,+15,+14,+13,+12,+11,+10,+6,+5,+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联和位置+23,+22,+19,+16,+15,+14,+13,+12,+11,+10,+6,+5,+4和-2处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸胍核苷酸间键联,如n001)。在一些实施例中,第一个和最后一个核苷酸间键联均为R<sub>p</sub>。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,位置-2处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-5处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-2和-5处的核苷酸间键联中的每个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5,-2和-5处的核苷酸间键联中的每个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11,+9,-2和-5处的核苷酸间键联中的每个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11,+9,+5,-2和-5处的核苷酸间键联中的每个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第1、14、16、20、26和29个(除非另有说明,从5'末端开始)核苷酸间键联中的一个或多个或每一个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸不包含到与靶腺苷相对的核苷的5'侧的不带负电荷的核苷酸间键联,除了寡核苷酸的第一核苷酸间键联可以任选地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸不包含除位置-2处以外的内部的不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联中的一个或两个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联中的一个或两个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联中的一个或两个独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第一结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联都独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,第二结构域的第一个和最后一个核苷酸间键联都独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸的第一个和最后一个核苷酸间键联都独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Rp、Sp,或非手性受控的。在一些实施例中,一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联独立地不是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地不是手性受控的。在一些实施例中,一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中,每个不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,在其3'位置键合至肌苷或脱氧肌苷或2'-修饰的肌苷(例如,用非H部分诸如-F、-OMe、-MOE等替代2'-OH)的核苷酸间键联(例如,n001)是非手性受控的或手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,它是手性受控的并且Sp。在一些实施例中,包含键合至包含次黄嘌呤的核苷的3'-位置的手性受控的Sp不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,诸如n001)的寡核苷酸及其组合物提供优于对应的立体随机或Rp核苷酸间键联的各种优势,例如,相同或更好的特性和/或活性、提高的制造效率和/或降低的制造成本等。在一些实施例中,据观察,用于构建键合至包含次黄嘌呤的核苷的3'-位置的手性受控的Sp不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,诸如n001)的过程可以更容易地进行(例如,更高的试剂浓度、更小的溶液体积、更短的反应时间等)和/或以更低的成本进行(例如,更容易获得的材料)。在一些实施例中,包含键合至包含次黄嘌呤的核苷的3'-位置的手性受控的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联的寡核苷酸及其组合物提供优于对应的立体随机或Sp核苷酸间键联的各种优势,例如,相同或更好的特性和/或活性、提高的制造效率和/或降低的制造成本等。在一些实施例中,用于构建键合至包含次黄嘌呤的核苷的3'-位置的手性受控的Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联的过程可以更容易地进行(例如,更高的试剂浓度、更小的溶液体积、更短的反应时间等)和/或以更低的成本进行(例如,更容易获得的材料)。

[0909] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-10个、1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个或更多个等)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与天然磷酸酯键联键合的两个核苷独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,与天然磷酸酯键联中的大多数(例如,至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)键合的两个核苷独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,与每个天然磷酸酯键联键合的两个核苷独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,2'-修饰的糖是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,天然磷酸酯键联与不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)一起使用。在一些实施例中,寡核苷酸包含交替的天然磷酸酯键联和不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)(例如,参见WV-43047)。

[0910] 在一些实施例中,位置-1和-2处的一个或多个核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在位置-3、-2、-1、+1、+3、+4、+5、+7、+8、+9、+10、+11、+12、+13、+16、+17和+18处的一个或多个核苷酸间键联独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-3处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-2处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+1处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+3处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+4处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+10处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+12处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+13处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+16处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+17处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+18处的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个且仅一个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它包含两个且不超过两个。在一些实施例中,它包含三个且不超过三个。在一些实施例中,它包含四个且不超过四个。在一些实施例中,它包含五个且不超过五个。

[0911] 在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的磷酰基胍核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的n001核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个中性核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个磷酰基胍核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中,与dI的3'-碳键合的每个n001独立地是Sp。

[0912] 在一些实施例中,组合物中控制水平的寡核苷酸是所需的寡核苷酸。在一些实施例中,在组合物中的共享共同碱基序列(例如,用于某目的的所需序列)的所有寡核苷酸中,或在组合物中的所有寡核苷酸中,所需寡核苷酸(其可以以多种形式(例如,盐形式)存在并且通常仅在非手性受控的核苷酸间键联处不同(对于该目的,相同立体异构体的各种形式可被认为是相同的))的水平为约5%-100%、10%-100%、20%-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、60%-100%、70%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、50%-90%、约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%,或至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%。在一些实施例中,水平为至少约50%。在一些实施例中,水平为至少约60%。在一些实施例中,水平为至少约70%。在一些实施例中,水平为至少约75%。在一些实施例中,水平为至少约80%。在一些实施例中,

水平为至少约85%。在一些实施例中,水平为至少约90%。在一些实施例中,水平为或至少为(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%,并且nc为如本披露所述的手性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,水平为或至少为(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为95%-100%。

[0913] 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。

[0914] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含多个天然RNA糖(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,它们中的两个或更多个或全部任选地是连续的)。在一些实施例中,这样的寡核苷酸包含经修饰的糖,例如2' 修饰糖(例如,2' -F等)和/或2' -OR修饰的糖,其中R在一端或两端不是-H(例如,2-OMe、2-MOE等),和/或多种经修饰的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联等)。在一些实施例中,在5' 末端存在一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个以上这样的2' -OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,在3' 末端存在一个或多个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个以上这样的2' -OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,每个2' -修饰的糖独立地是2' -OR修饰的糖,其中R不是-H。在一些实施例中,如本文所述,2' -OR是2' -OMe。在一些实施例中,2' -OR是2' -MOE。在一些实施例中,2' -OR中的每一个独立地是2' -OMe或2' -MOE。在一些实施例中,每个2' -OR是2' -OMe。

[0915] 在一些实施例中,评估各种核苷酸间键联的稳定性。在一些实施例中,将核苷酸间键联暴露于用于寡核苷酸制造(例如,固相寡核苷酸合成)的各种条件,包括试剂、溶剂、温度(在一些情况下,温度高于室温)、切割条件、脱保护条件、纯化条件等,并评估稳定性。在一些实施例中,选择稳定的核苷酸间键联(例如,当暴露于一种或多种条件和/或过程时,或在完整的寡核苷酸制造过程之后,具有不超过10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.9%、0.8%、0.7%、0.6%、0.5%、0.4%、0.3%、0.2%或0.1%的降解的那些),以便在各种寡核苷酸组合物和应用中利用。

#### 另外的化学部分

[0916] 在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个另外的化学部分。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内容用于调节所提供的寡核苷酸的特性和/或活性,例如稳定性、半衰期、活性、递送、药效动力学特性、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內化。在一些实施例中,某些另外的化学部分提高寡核苷酸稳定性。在一些实施例中,本披露提供用于将多种另外的化学部分并入寡核苷酸中的技术。

[0917] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含小分子部分。在一些实施例中,小分子

是蛋白质的配体(例如,受体)。在一些实施例中,小分子结合多肽。在一些实施例中,小分子是多肽的抑制剂。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含肽部分(例如,抗体)。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含核酸部分。在一些实施例中,核酸提供新的特性和/或活性。在一些实施例中,核酸部分与原始寡核苷酸链(缀合前)或其部分形成双链体或其他二级结构。在一些实施例中,核酸是或包含靶向相同或不同靶标的寡核苷酸,并且可以通过相同或不同的机制发挥其活性。在一些实施例中,核酸是或包含RNAi剂。在一些实施例中,核酸是或包含miRNA剂。在一些实施例中,核酸是或包含RNA酶H依赖性。在一些实施例中,核酸是或包含gRNA。在一些实施例中,核酸是或包含适体。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含如本文所述的碳水化合物部分。根据本披露,许多有用的药剂,例如小分子、肽、碳水化合物、核酸药剂等,可以与本文的寡核苷酸缀合。

[0918] 在一些实施例中,与参考寡核苷酸例如不具有另外的化学部分但在其他方面相同的参考寡核苷酸相比,包含另外的化学部分的寡核苷酸表现出增加的向组织中的递送和/或在组织中的活性。

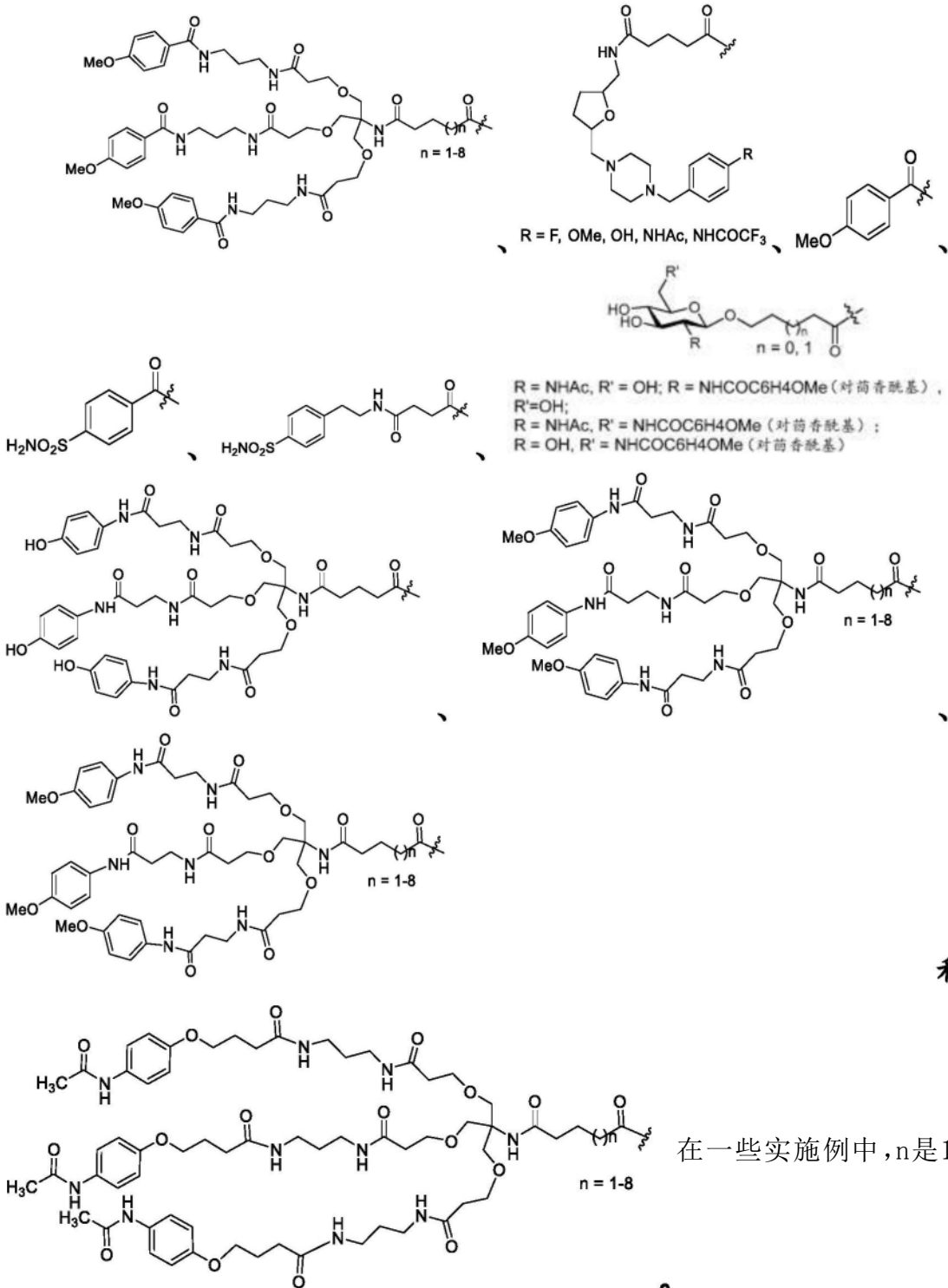
[0919] 在一些实施例中,另外的化学部分的非限制性实例包括碳水化合物部分、靶向部分等,其在并入寡核苷酸中时可以改善一种或多种特性。在一些实施例中,另外的化学部分选自:葡萄糖、GluNAc(N-乙酰葡糖胺)及茴香酰胺部分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可一包含两个或更多个另外的化学部分,其中这些另外的化学部分是相同或不相同的,或属于同一类别(例如,碳水化合物部分、糖部分、靶向部分等)或不属于同一类别。

[0920] 在一些实施例中,另外的化学部分是靶向部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含碳水化合物部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含脂质部分。在一些实施例中,另外的化学部分是或包含例如细胞受体(诸如 $\sigma$ 受体、脱唾液酸糖蛋白受体等)的配体部分。在一些实施例中,配体部分是或包含茴香酰胺部分,其可是 $\sigma$ 受体的配体部分。在一些实施例中,配体部分是或包含GalNAc部分,其可以是脱唾液酸糖蛋白受体的配体部分。在一些实施例中,另外的化学部分促进向肝的递送。

[0921] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以包含一个或多个接头和另外的化学部分(例如,靶向部分),和/或可以是手性受控的或不是手性受控的,和/或具有如本文所述的碱基序列和/或一个或多个修饰和/或形式。

[0922] 根据本披露可使用多种接头、碳水化合物部分和靶向部分(包括本领域中已知的许多者)。在一些实施例中,碳水化合物部分是靶向部分。在一些实施例中,靶向部分是碳水化合物部分。

[0923] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含适合递送的另外的化学部分,例如葡萄糖、GluNAc(N-乙酰基胺葡糖胺)、茴香胺或选自以下的结构:



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。

[0924] 在一些实施例中, 另外的化学部分是实例 (包括并入多种寡核苷酸中的多种另外的化学部分的实例) 中描述的任何化学部分。

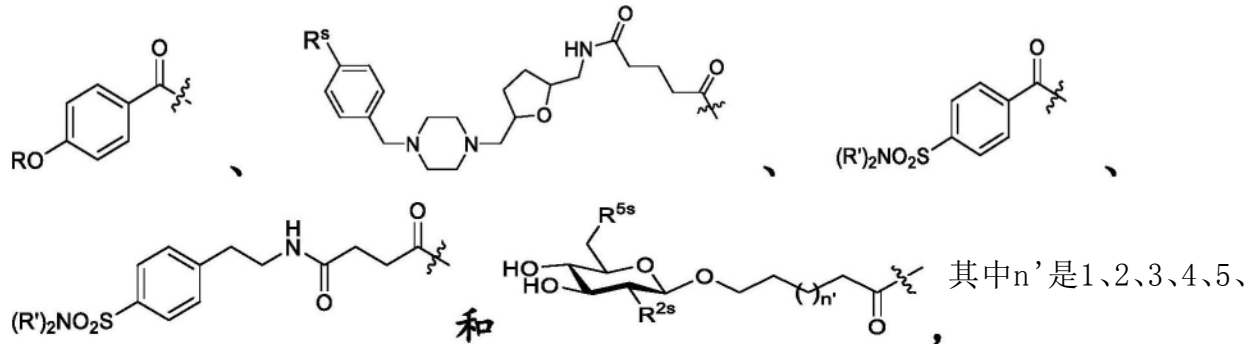
[0925] 在一些实施例中, 与寡核苷酸缀合的另外的化学部分能够将寡核苷酸靶向中枢神经系统中的细胞。

[0926] 在一些实施例中, 另外的化学部分包含或是细胞受体配体。在一些实施例中, 另外

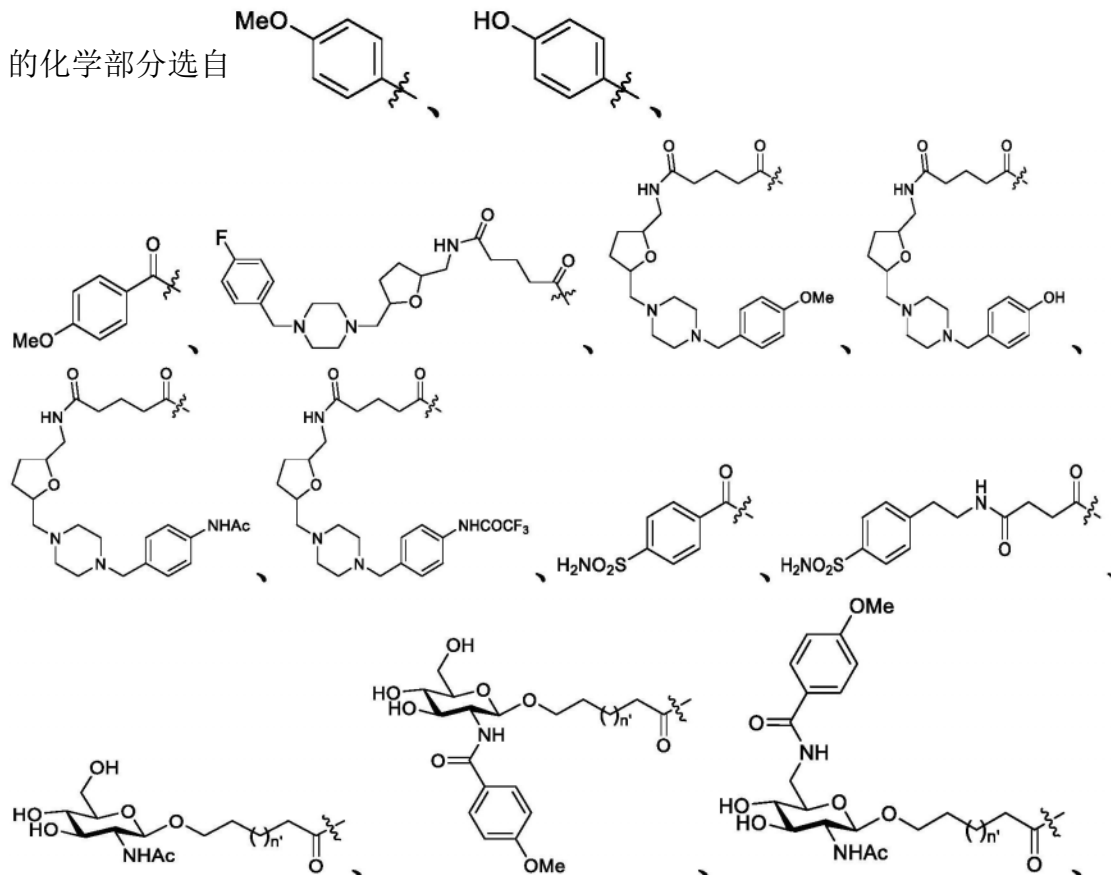
的化学部分包含或是蛋白结合剂,例如,与细胞表面蛋白结合的蛋白结合剂。这些部分尤其可用于将寡核苷酸靶向递送至表达相应受体或蛋白的细胞。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸的另外的化学部分包含茴香酰胺或其衍生物或类似物,并且能够使寡核苷酸靶向表达特定受体(诸如 $\sigma 1$ 受体)的细胞。

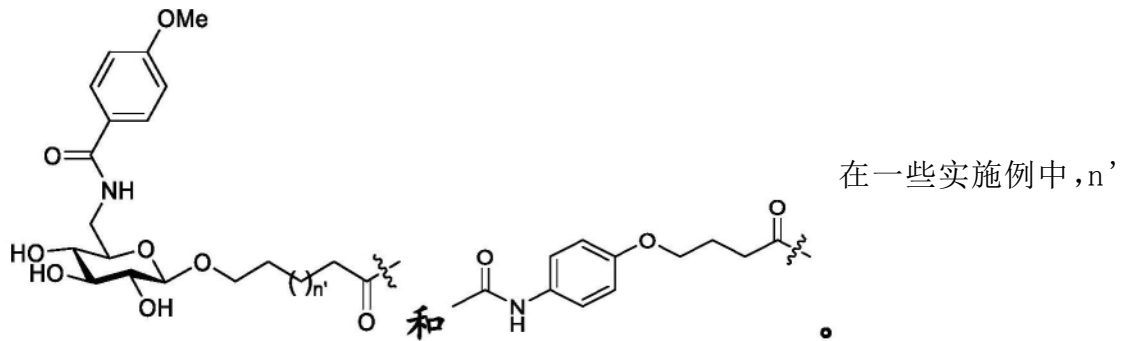
[0927] 在一些实施例中,对所提供的寡核苷酸进行配制以施用至表达其靶标的身体细胞和/或组织。在一些实施例中,与寡核苷酸缀合的另外的化学部分能够将寡核苷酸靶向细胞。

[0928] 在一些实施例中,另外的化学部分选自任选地经取代的苯基、



6、7、8、9或10,并且每个其他变量如本披露中所述。在一些实施例中, $R^S$ 是F。在一些实施例中, $R^S$ 是OMe。在一些实施例中, $R^S$ 是OH。在一些实施例中, $R^S$ 是NHAc。在一些实施例中, $R^S$ 是NHCOCF<sub>3</sub>。在一些实施例中, $R'$ 是H。在一些实施例中, $R$ 是H。在一些实施例中, $R^{2s}$ 是NHAc,并且 $R^{5s}$ 是OH。在一些实施例中, $R^{2s}$ 是对茴香酰基,并且 $R^{5s}$ 是OH。在一些实施例中, $R^{2s}$ 是NHAc,并且 $R^{5s}$ 是对茴香酰基。在一些实施例中, $R^{2s}$ 是OH,并且 $R^{5s}$ 是对茴香酰基。在一些实施例中,另外的



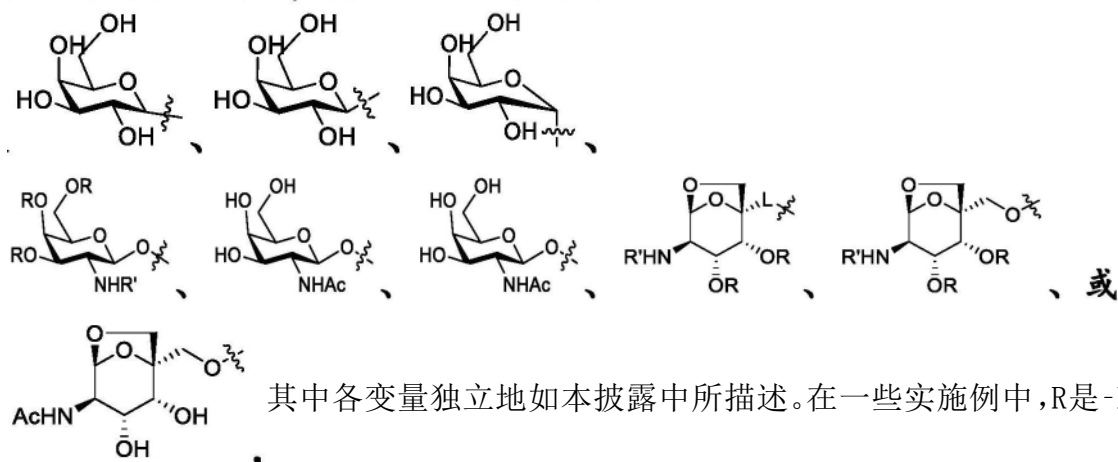


是1。在一些实施例中,  $n'$  是0。在一些实施例中,  $n'$  是1。在一些实施例中,  $n'$  是2。

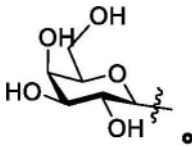
[0929] 在一些实施例中, 另外的化学部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体 (ASGPR) 配体。

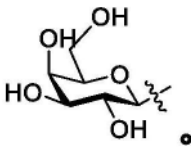
[0930] 不希望受任何特定理论的束缚, 本披露指出, 还已经报道了ASGPR1在小鼠的海马区和/或小脑浦肯野细胞层中表达。<http://mouse.brain-map.org/experiment/show/2048>

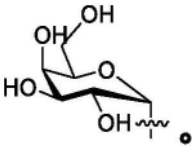
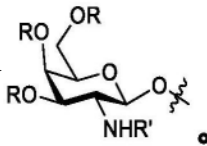
[0931] 多种其他ASGPR配体是本领域已知的, 并且可以根据本披露使用。在一些实施例中, ASGPR配体是碳水化合物。在一些实施例中, ASGPR配体是GalNAc或其衍生物或类似物。在一些实施例中, ASGPR配体是Sanhueza等人. J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志], 2017, 139 (9), 第3528-3536页中描述的ASGPR配体。在一些实施例中, ASGPR配体是Mamidyala等人. J. Am. Chem. Soc. [美国化学学会杂志], 2012, 134, 第1978-1981页中描述的ASGPR配体。在一些实施例中, ASGPR配体是US 20160207953中描述的ASGPR配体。在一些实施例中, ASGPR配体是例如在US 20160207953中披露的经取代的6,8-二氧杂双环[3.2.1]辛烷-2,3-二醇衍生物。在一些实施例中, ASGPR配体是例如在US 20150329555中描述的ASGPR配体。在一些实施例中, ASGPR配体是例如在US 20150329555中披露的经取代的6,8-二氧杂双环[3.2.1]辛烷-2,3-二醇衍生物。在一些实施例中, ASGPR配体是在US 8877917、US 20160376585、US 10086081或US 8106022中描述的ASGPR配体。这些文献中描述的ASGPR配体通过援引并入本文。本领域技术人员将理解, 包括本文件中描述的那些技术在内的多种技术是已知的, 用于评估化学部分与ASGPR的结合, 并且可以根据本披露来利用。在一些实施例中, 所提供的寡核苷酸与ASGPR配体缀合。在一些实施例中, 所提供的寡核苷酸包含ASGPR配体。在一些实施例中, 另外的化学部分包含ASGPR配体, 该ASGPR配体是

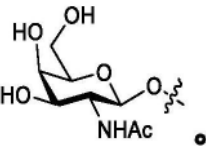


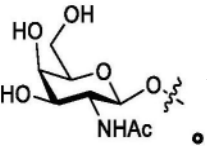
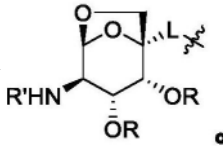
实施例中,  $R'$  是-C(O)R。

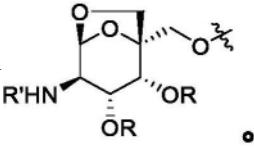
[0932] 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含  在一些实施例中,另外的

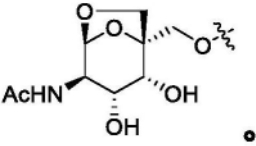
化学部分是或包含  在一些实施例中,另外的化学部分是或包含

 在一些实施例中,另外的化学部分是或包含  在一些实施例中,

另外的化学部分是或包含任选地经取代的  在一些实施例中,另外的化学部

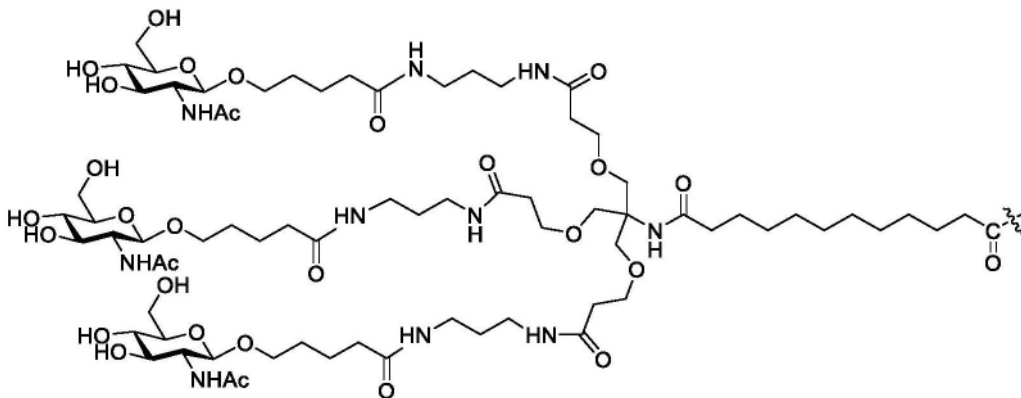
分是或包含  在一些实施例中,另外的化学部分是或包含  在

一些实施例中,另外的化学部分是或包含  在一些实施例中,另外的化学

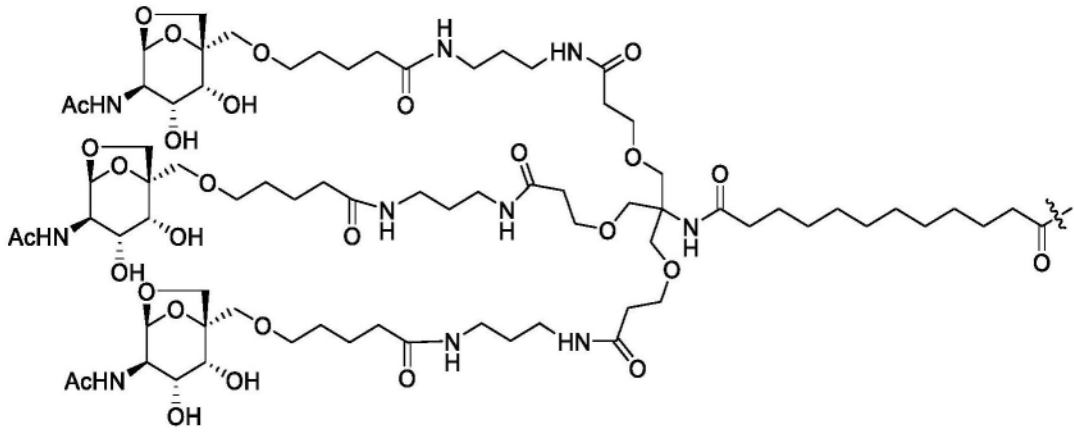
部分是或包含 

[0933] 在一些实施例中,另外的化学部分包含一个或多个可以与例如寡核苷酸靶细胞结合的部分。例如,在一些实施例中,另外的化学部分包含一个或多个蛋白配体部分,例如,在一些实施例中,另外的化学部分包含多个部分,其中每个独立地是ASGPR配体。在一些实施例中,如在Mod 001和Mod083中,另外的化学部分包含三个这样的配体。

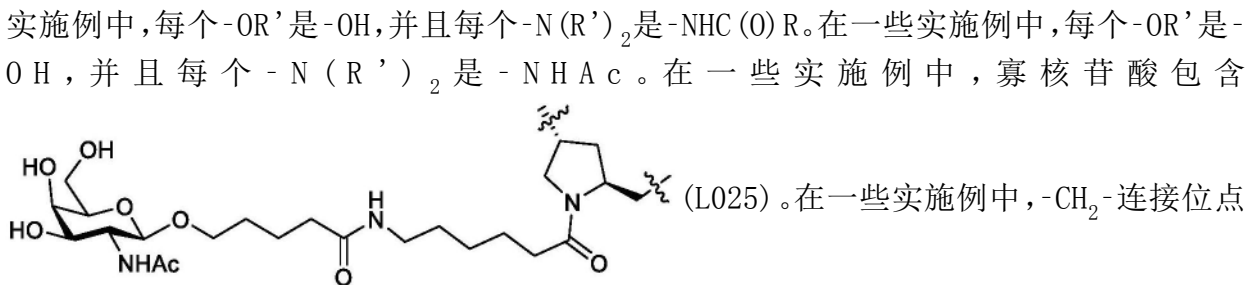
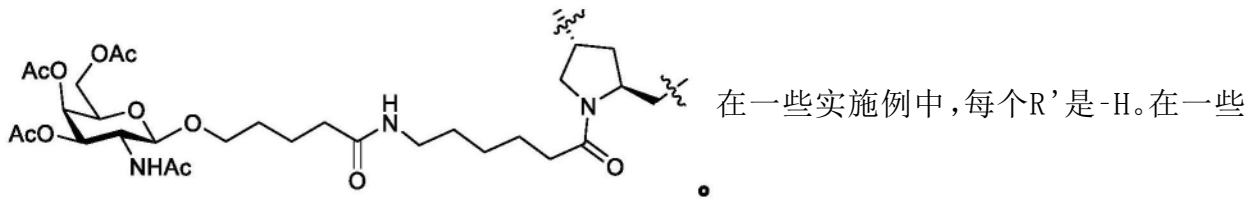
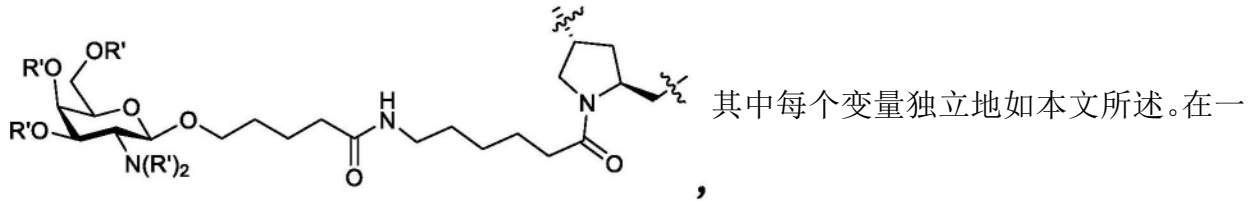
Mod001:



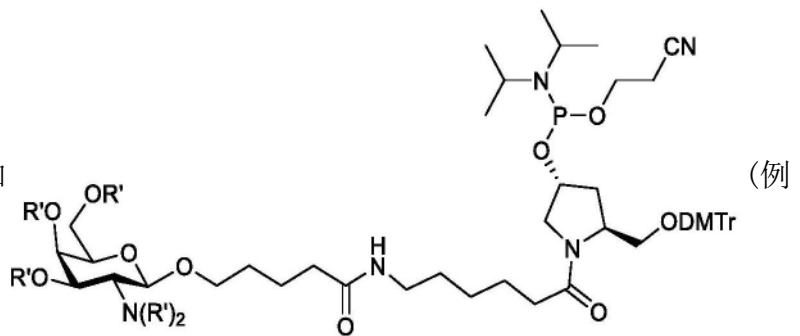
Mod083:



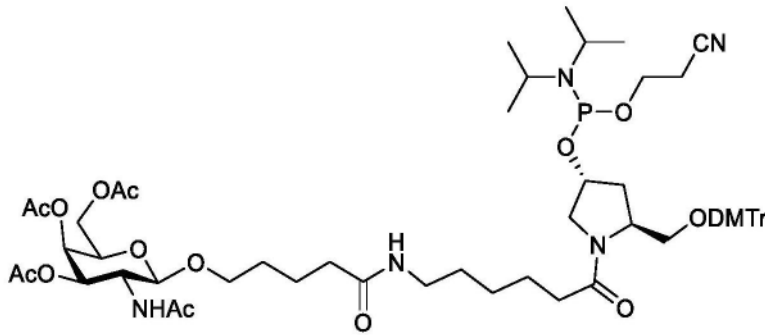
[0934] 在一些实施例中,寡核苷酸包含



部分可以利用例如亚磷酰胺诸如

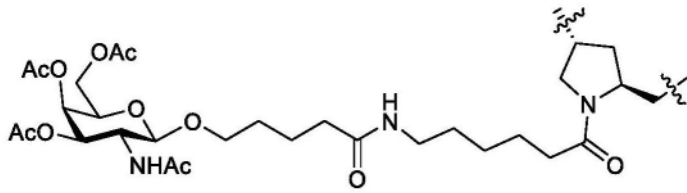


如，



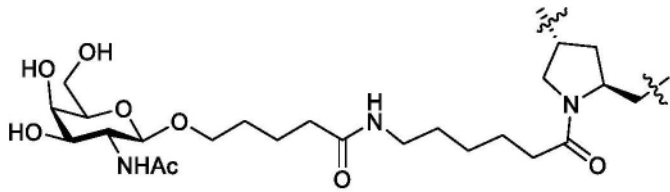
) 引入 (本领域技术人员理解，

可以替代性地利用一个或多个其他基团，诸如用于 -OH、-NH<sub>2</sub>、-N(i-Pr)<sub>2</sub>、-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN 等的保护基，并且保护基可以在多种合适的条件下移除，有时在寡核苷酸脱保护和/或切割步骤期间移除)。在一些实施例中，寡核苷酸包含 2 个、3 个或更多个 (例如，3 个且不多于 3 个)



在一些实施例中，寡核苷酸包含 2 个、3

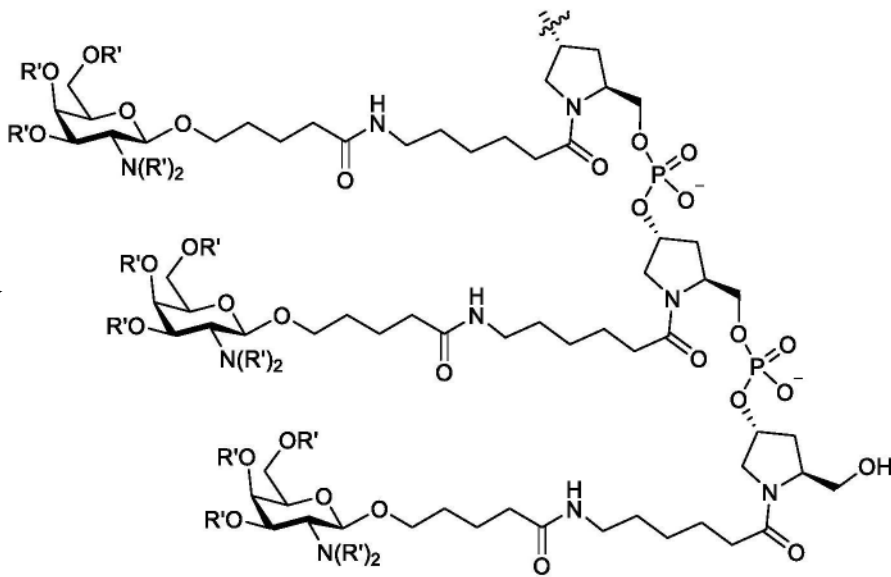
个或更多个 (例如，3 个且不多于 3 个)



在

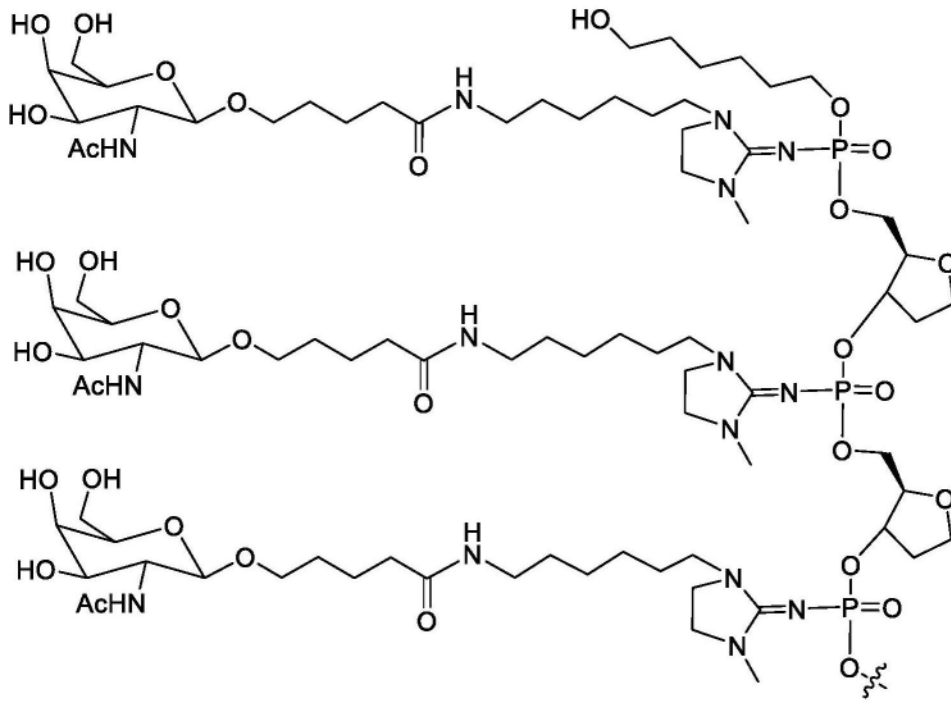
一些实施例中，这样的部分的拷贝通过如本文所述的核苷酸间键联 (例如，天然磷酸酯键联) 连接。在一些实施例中，当在 5' 末端时，-CH<sub>2</sub>- 连接位点键合至 -OH。在一些实施例中，寡

核苷酸包含



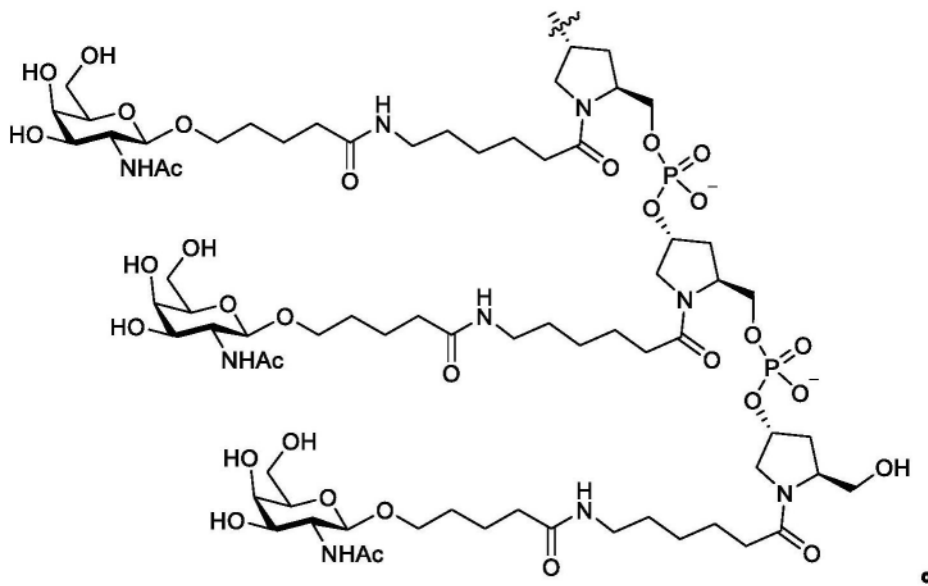
在一些实施

例中，寡核苷酸包含

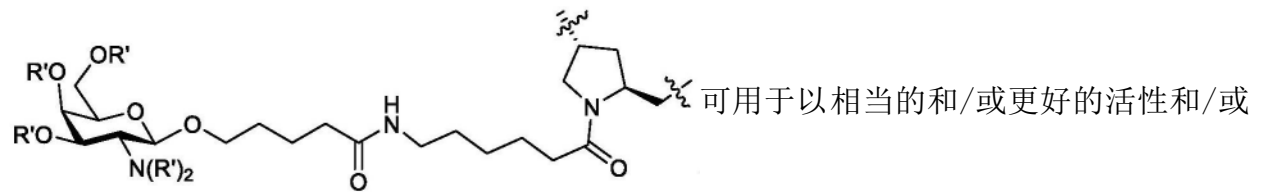


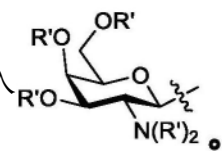
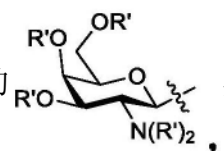
在一些实施例中，

每个 -OR' 是 -OAc, 并且 -N(R')<sub>2</sub> 是 -NHAc。在一些实施例中，寡核苷酸包含



尤其是，



可用于以相当的和/或更好的活性和/或特性引入  在一些实施例中，对于相同数量的  其提供改善的制

备效率和/或较低的成本(例如，当与Mod001相比时)。

[0935] 在一些实施例中，另外的化学部分是本文例如在表1中描述的Mod基团。

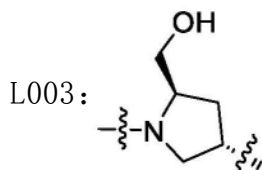
[0936] 在一些实施例中,另外的化学部分是Mod001。在一些实施例中,另外的化学部分是Mod083。在一些实施例中,另外的化学部分(例如,Mod基团)直接缀合(例如,没有接头)到寡核苷酸的其余部分。在一些实施例中,经由接头将另外的化学部分缀合到寡核苷酸的其余部分。在一些实施例中,另外的化学部分(例如,Mod基团)可以直接连接和/或经由接头连接到寡核苷酸的核碱基、糖和/或核苷酸间键联。在一些实施例中,Mod基团直接或经由接头连接到糖。在一些实施例中,Mod基团直接或经由接头连接到5'末端糖。在一些实施例中,Mod基团通过5'碳直接或经由接头连接到5'末端糖。有关实例,参见表1中的各种寡核苷酸。在一些实施例中,Mod基团直接或经由接头连接到3'末端糖。在一些实施例中,Mod基团通过3'碳直接或经由接头连接到3'末端糖。在一些实施例中,Mod基团直接或经由接头连接到核碱基。在一些实施例中,Mod基团直接或经由接头连接到核苷酸间键联。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含通过L001连接到寡核苷酸链的5'末端的Mod001。

[0937] 如本领域技术人员所理解的,另外的化学部分可以在多种位置连接到寡核苷酸链,例如5'末端、3'末端或中间位置(例如,在糖、碱基、核苷酸间键联等上)。在一些实施例中,其连接在5'末端。在一些实施例中,其连接在3'末端。在一些实施例中,其连接在中间的核苷酸处。

[0938] 某些另外的化学部分(例如,脂质部分、靶向部分、碳水化合物部分),包括但不限于Mod012、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086和Mod094,以及用于将另外的化学部分连接到寡核苷酸链的多种接头,包括但不限于L001、L003、L004、L008、L009和L010,在WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858中描述,其各自的另外的化学部分和接头独立地通过援引并入本文,并且可以根据本披露使用。在一些实施例中,另外的化学部分是洋地黄毒苷或生物素或其衍生物。

[0939] 在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,例如L001、L004、L008和/或另外的化学部分,例如Mod012、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086或Mod094。在一些实施例中,接头,例如L001、L003、L004、L008、L009、L110等连接到Mod,例如Mod012、Mod039、Mod062、Mod085、Mod086、Mod094等。

L001: -NH- (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>- 接头(也称为C6接头、C6胺接头或C6氨基接头),其通过-NH-连接到Mod(如果有的话),并且通过如在-CH<sub>2</sub>-连接位点处所示的磷酸酯键联(-O-P(O)(OH)-O-,其可以盐的形式存在,并且可表示为O或PO)或硫代磷酸酯键联(-O-P(O)(SH)-O-,其可以盐形式存在,并且可表示为\*(如果硫代磷酸酯不是手性受控的);或\*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Sp构型);或\*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Rp构型))连接到寡核苷酸链的5'末端或3'末端。如果不存在Mod,则L001通过-NH-连接到-H;



接头。在一些实施例中,它通过其氨基连接到Mod(如果有的话)

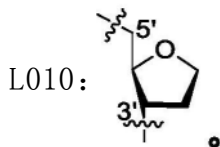
(如果没有Mod,则连接到-H),并且例如经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯

键联(可以不是手性受控的,或是手性受控的(Sp或Rp)))连接到寡核苷酸链的5'末端或3'末端;

L004:具有 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{CH}_2-$ 的结构接头,其中 $-\text{NH}-$ 连接到Mod(通过 $-\text{C}(\text{O})-$ 或 $-\text{H}$ ,并且 $-\text{CH}_2-$ 连接位点通过键联连接到寡核苷酸链(例如,在3'末端),该键联是例如磷酸二酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为O或PO)、硫代磷酸酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为\*(如果硫代磷酸酯不是手性受控的);或\*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Sp构型);或\*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Rp构型))、或二硫代磷酸酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{S})(\text{SH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为PS2或:或D)。例如,L004前面紧接星号(例如,\*L004)表示键联是硫代磷酸酯键联,而L004前面未紧接星号表示键联是磷酸二酯键联。例如,在终止于...mAL004的寡核苷酸中,接头L004通过磷酸二酯键联(经由 $-\text{CH}_2-$ 位点)连接到3'末端糖(其是2'-OMe修饰的并且连接到核碱基A)的3'位,并且L004接头经由 $-\text{NH}-$ 连接到 $-\text{H}$ 。类似地,在一个或多个寡核苷酸中,L004接头通过磷酸二酯键联(经由 $-\text{CH}_2-$ 位点)连接到3'末端糖的3'位,并且L004经由 $-\text{NH}-$ 连接到例如Mod012、Mod085、Mod086等;

L008:具有 $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_9-$ 的结构接头,其中 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接到Mod(通过 $-\text{NH}-$ )或 $-\text{OH}$ (如果未指示Mod),并且 $-\text{CH}_2-$ 连接位点通过键联连接到寡核苷酸链(例如,在5'末端),该键联是例如磷酸二酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为O或PO)、硫代磷酸酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为\*(如果硫代磷酸酯不是手性受控的);或\*S、S或Sp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Sp构型);或\*R、R或Rp(如果硫代磷酸酯是手性受控的并且具有Rp构型))、或二硫代磷酸酯键联( $-\text{O}-\text{P}(\text{S})(\text{SH})-\text{O}-$ ,其可以盐形式存在,并且可以表示为PS2或:或D)。例如,在具有5'-L008mN\*mN\*mN\*mN\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*mN\*mN\*mN\*mN-3'的序列并且具有OXXXXXXXX XXXXXXXX的立体化学/键联的示例性寡核苷酸(其中N是碱基,其中O是天然磷酸酯核苷酸间键联,并且其中X是立体随机硫代磷酸酯)中,L008通过 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接到 $-\text{OH}$ ,并且通过磷酸酯键联(在“立体化学/键联”中表示为“O”)连接到寡核苷酸链的5'末端;又如,在具有5'-Mod062L008mN\*mN\*mN\*mN\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*mN\*mN\*mN\*mN-3'的序列并且具有OXXXXXXXX XXXXXXXX的立体化学/键联的示例性寡核苷酸(其中N是碱基)中,L008通过 $-\text{C}(\text{O})-$ 连接到Mod062,并且通过磷酸酯键联(在“立体化学/键联”中表示为“O”)连接到寡核苷酸链的5'末端;

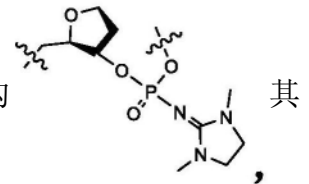
L009: $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 。在一些实施例中,当L009存在于没有Mod的寡核苷酸的5'末端时,L009的一端连接到 $-\text{OH}$ 并且另一端例如经由键联(例如,磷酸酯键联(O或PO)或硫代磷酸酯键联(可以不是手性受控的,或是手性受控的(Sp或Rp)))连接到寡核苷酸链的5'-碳;



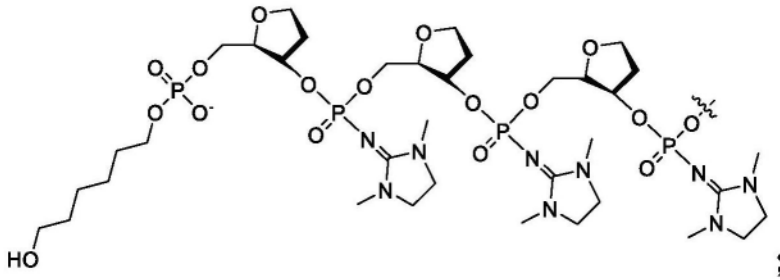
L010通过各种键联(例如,n001;如果没有指明,通常是磷酸酯)连

接到其他部分,例如,L023、L010、寡核苷酸链等。当不存在其他部分时,L010键合至 $-\text{OH}$ 。例

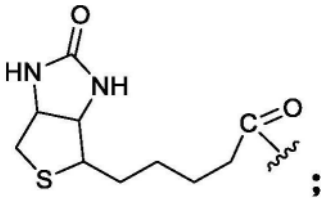
如在WV-39202中,L010与n001R一起利用形成L010n001R,其具有结构



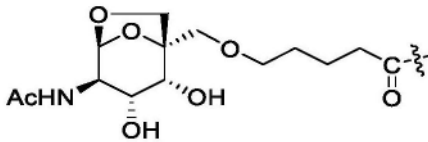
中键联磷的构型是 $R_p$ 。在一些实施例中,可以使用多个L010n001R。例如,WV-39202包含L023L010n001RL010n001RL010n001R,其结构如下(与寡核苷酸链5'端的5'-碳键结合,每个键联磷独立地是 $R_p$ ):



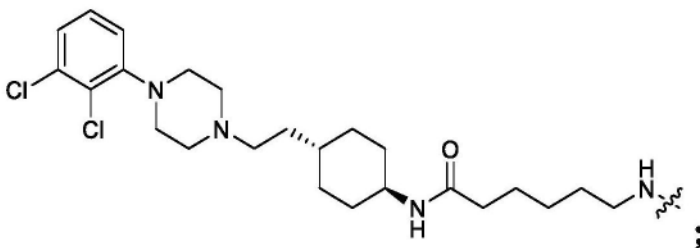
Mod012(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L004、L008等的-NH-):



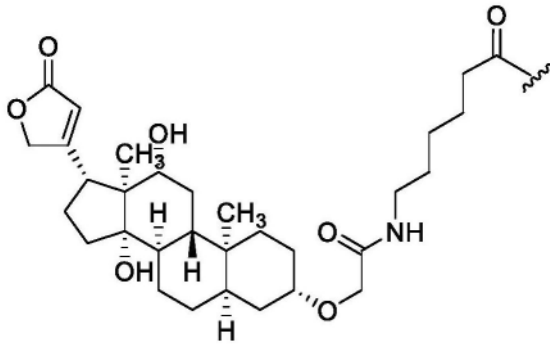
Mod039(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



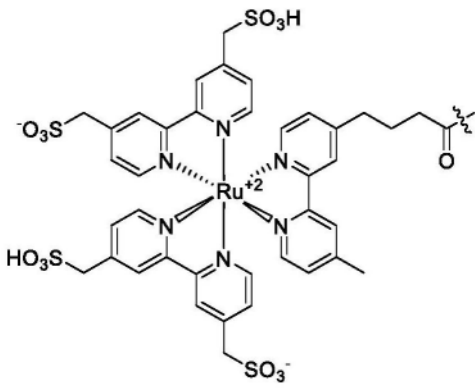
Mod062(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



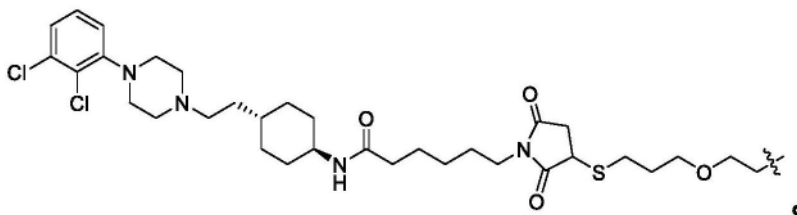
Mod085(在一些实施例中,-C(O)-连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



Mod086 (在一些实施例中, -C(O)- 连接到接头诸如L001、L003、L004、L008、L009、L110等的-NH-):



Mod094 (在一些实施例中, 经由例如磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联 (其任选地是手性受控的) 等键联连接到核苷酸间键联, 或连接到寡核苷酸的5' 末端或3' 末端。例如, 在具有5' -mN\*mN\*mN\*mN\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*N\*mN\*mN\*mN\*mNMod094-3' 的序列并且具有XXXXX XXXXX XXXXX XX0的立体化学/键联 (其中N是碱基) 的示例性寡核苷酸中, Mod094通过磷酸酯基团连接到寡核苷酸链的3' 末端 (3' 末端糖的3' -碳) (磷酸酯基团未在下面示出并且可以以盐形式存在; 并且在“立体化学/键联” (...XXXXX0) 中表示为“0”))):



[0940] 在一些实施例中, 另外的化学部分 (例如, 接头、脂质、增溶基团、缀合物基团、靶向基团和/或靶向配体) 是在WO 2012/030683或WO 2021/030778中描述的化学部分。在一些实施例中, 所提供的寡核苷酸包含WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2019112485、US 20170362270、WO 2018156056或WO 2018056871、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中描述的化学结构 (例如, 接头、脂质、增溶基团和/或靶向配体)。

[0941] 在一些实施例中, 所提供的寡核苷酸包含以下文献中描述的另外的化学部分 (例如, 靶向基团、缀合物基团等) 和/或修饰 (例如, 核碱基、糖、核苷酸间键联等的修饰): 美国专利号5,688,941;6,294,664;6,320,017;6,576,752;5,258,506;5,591,584;4,958,013;5,082,830;5,118,802;5,138,045;6,783,931;5,254,469;5,414,077;5,486,603;5,112,

963;5,599,928;6,900,297;5,214,136;5,109,124;5,512,439;4,667,025;5,525,465;5,514,785;5,565,552;5,541,313;5,545,730;4,835,263;4,876,335;5,578,717;5,580,731;5,451,463;5,510,475;4,904,582;5,082,830;4,762,779;4,789,737;4,824,941;4,828,979;5,595,726;5,214,136;5,245,022;5,317,098;5,371,241;5,391,723;4,948,882;5,218,105;5,112,963;5,567,810;5,574,142;5,578,718;5,608,046;4,587,044;4,605,735;5,585,481;5,292,873;5,552,538;5,512,667;5,597,696;5,599,923;7,037,646;5,587,371;5,416,203;5,262,536;5,272,250;或8,106,022。

[0942] 在一些实施例中,另外的化学部分(例如,Mod)经由接头连接。多种接头在本领域中是可获得的并且可根据本披露使用,例如,用于使多种部分与蛋白(例如,与抗体缀合以形成抗体-药物缀合物)、核酸等缀合的那些接头。某些有用的接头在US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858中描述,其各自的接头部分独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,作为非限制性实例,接头是L001、L004、L009或L010。在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,但不含除接头以外的另外的化学部分。在一些实施例中,寡核苷酸包含接头,但不含除接头以外的另外的化学部分,其中接头是L001、L004、L009或L010。在一些实施例中,接头是或包含具有本文所述的核苷酸间键联的结构的部分。在一些实施例中,接头中的这样的部分不连接两个核苷。在一些实施例中,接头具有L的结构。在一些实施例中,接头是二价的。在一些实施例中,接头是多价的。在一些实施例中,接头可将两个或更多个另外的化学部分连接至如本文所述的寡核苷酸链。例如,在一些实施例中,一个或两个或三个或更多个另外的化学部分,例如GalNAc部分,通过多价接头部分连接至寡核苷酸链(例如,在5'末端)。

[0943] 在一些实施例中,另外的化学部分从寡核苷酸的剩余部分(例如,寡核苷酸链)切割,例如,在施用至系统、细胞、组织、器官、受试者等之后。在一些实施例中,另外的化学部分促进、增加和/或加速向某些细胞的递送,并且在将寡核苷酸递送到这样的细胞中之后,另外的化学部分从寡核苷酸上切割。在一些实施例中,接头部分包含一个或多个可切割部分,其可在所需位置(例如,在某些类型的细胞、亚细胞区室如溶酶体等)和/或时间被切割。在一些实施例中,可切割部分被多肽(例如酶如核酸酶)选择性地切割。许多有用的可切割部分和可切割接头被报道并且可以根据本披露被利用。在一些实施例中,可切割部分是或包含一个或多个选自酰胺、酯、醚、磷酸二酯、二硫化物、氨基甲酸酯等的官能团。在一些实施例中,接头如WO 2012/030683、WO 2021/030778、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中所述。

[0944] 如本文所展示,在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的活性和/或所需的特性,而不利用据报道为所需的和/或必需的特定结构元件(例如,修饰、键联构型和/或模式等)(例如,WO 2019/219581中报道的那些),但某些这样的结构元件可与根据本披露的多种其他结构元件组合并入寡核苷酸中。例如,在一些实施例中,本披露的寡核苷酸在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'具有较少的核苷,在一个或多个据报道硫代磷酸酯核

昔酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联,在一个或多个据报道Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联,在一个或多个据报道Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联不受欢迎或不被允许的位置处包含一个或多个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联,和/或与据报道对某些寡核苷酸特性和/或活性有利的或所需的那些修饰和/或立体化学相比,在一个或多个位置包含不同的修饰(例如,核苷酸间键联修饰、糖修饰等)和/或立体化学(例如,存在2'-MOE、在特定位置不存在硫代磷酸酯键联、在特定位置不存在Sp硫代磷酸酯键联和/或在特定位置存在Rp硫代磷酸酯键联据报道对某些寡核苷酸特性和/或活性是有利或所需的;如本文所展示,所提供的技术可以提供所需的特性和/或高活性,而无需利用2'-MOE,无需在一个或多个这样的特定位置处避免硫代磷酸酯键联,无需在一个或多个这样的特定位置处避免Sp硫代磷酸酯键联,和/或无需在一个或多个这样的特定位置处避免Rp硫代磷酸酯键联)。另外地或替代性地,所提供的寡核苷酸包含先前未认识到的结构元件,诸如利用某些修饰(例如,碱基修饰、糖修饰(例如,2'-F)、键联修饰(例如,不带负电荷的核苷酸间键联)、另外的部分等)及其水平、模式和组合。

[0945] 例如,在一些实施例中,如本文所述,所提供的寡核苷酸包含不超过5、6、7、8、9、10、11或12个位于与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'的核苷。

[0946] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),对于在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'的结构元件,在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'的核苷酸间键联的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性受控的。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的3'不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,没有这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过1个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过2个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过3个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的3'不超过1、2或3个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在其糖的3'-位(被认为是-1位)键合至与靶核苷相对的核苷的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是在与靶核苷相对的核苷的3'的唯一Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相对的核苷的位置-3处的核苷酸间键联(例如,对于 $\cdots N_0 N_{-1} N_{-2} N_{-3} \cdots$ ,连接 $N_{-2}$ 和 $N_{-3}$ 的核苷酸间键联,其中 $N_0$ 是与靶核苷相对的核苷)不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相对的核苷的位置-6处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相对的核苷在位置-4和/或-5处的核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联,或独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-3、-4、-5和-6处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-3、-4、-5和-6处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-4和/或-5处的核苷酸间键联各自独立地是Rp核苷酸间键联。在一些实施

例中,位置-4和/或-5处的核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在许多实施例中,不超过1、2、3、4或5个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

[0947] 替代性地或另外地,如本文所述(例如,在某些实例中展示的),在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'的核苷酸间键联的约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性受控的。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'没有核苷酸间键联或不超过1、2或3个核苷酸间键联不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,没有这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过1个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过2个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,不超过3个这样的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯或不带负电荷的核苷酸间键联(例如,n001)。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'不存在2、3或4个连续核苷酸间键联,其各自不是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'不存在2、3或4个连续的核苷酸间键联,其各自是手性受控的并且不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'没有或不超过1、2、3、4或5个核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在其糖的5'-位(被认为是+1位)键合至与靶核苷相对的核苷的核苷酸间键联是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它是在与靶核苷相对的核苷的3'的唯一Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶核苷相对的核苷的位置+5处的核苷酸间键联(例如,对于 $\cdots N_{+5}N_{+4}N_{+3}N_{+2}N_{+1}N_0\cdots$ ,连接 $N_{+4}$ 和 $N_{+5}$ 的核苷酸间键联,其中 $N_0$ 是与靶核苷相对的核苷)不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+11处的核苷酸间键联不是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相对的核苷,在位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,其任选地是手性受控的。在一些实施例中,它们各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,它们各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,相对于与靶核苷相对的核苷,在位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联,其任选地是手性受控的。在一些实施例中,位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+5处的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+6处的核苷酸间键联是Sp核苷酸间键联。在

一些实施例中,位置+6处的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+7处的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+8处的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,位置+9处的核苷酸间键联是 $S_p$ 硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31或32个,或约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'的核苷酸间键联各自独立地是手性受控的,并且是 $S_p$ 核苷酸间键联。在一些实施例中,至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10,或约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31或32个,或约50%-100%(例如,约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%)的在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'的硫代磷酸酯核苷酸间键联各自独立地是手性受控的,并且是 $S_p$ 。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,在与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的5'的每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是 $S_p$ 。

[0948] 可替代地或另外地,如本文所述(例如,在某些实施例中说明),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10-80%、约10-75%、约10-70%、10%-60%、10-50%、10-40%、10-30%、15-40%、20-30%、25-30%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10-80%、约10-75%、约10-70%、10%-60%、10-50%、10-40%、10-30%、15-40%、20-30%、25-30%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的一个或多个,例如,约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的一个或多个,例如,约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,一个或多个位置+3( $N_{+4}N_{+3}$ 之间)、+4、+6、+8、+9、+12、+14、+15、+17和+18处的一个或多个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有4个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有5个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有6个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有7个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有8个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有9个天然磷酸酯键联。

在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的5'有10个天然磷酸酯键联。

在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'的一个或多个核苷酸间键联各自独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的3'有一个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,位置-3处的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

[0949] 可替代地或另外地,如本文所述(例如,在某些实施例中说明),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10-80%、约10-75%、约10-70%、10%-60%、10-50%、10-40%、10-30%、15-40%、20-30%、25-30%、30%-70%、40-70%、40%-65%、40%-60%,或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,寡核苷酸中的一个或多个,例如,约1-30、1-25、1-20、1-15、5-30、5-25、5-20、5-15、10-30、10-25、10-20、10-15、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的一个或多个,例如,约1-30、1-25、1-20、1-15、5-30、5-25、5-20、5-15、10-30、10-25、10-20、10-15、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,一个或多个位置+1( $N_{+1}N_0$ 之间)、+2、+5、+6、+7、+8、+11、+14、+15、+16、+17、+19、+20、+21和+22处的一个或多个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有5个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有10个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有11个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有12个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有13个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有14个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的5'有15个或更多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(例如,靶腺苷)相对的核苷的3'的一个或多个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在与靶核苷相对的核苷的3'有一个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的3'有两个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷相对的核苷的3'有三个硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,位置-1、-4和-5处的一个或多个或所有核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联中的约或至少约80%、85%、90%或95%独立地是 $S_p$ 。在一些实施例中,每个硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地是 $S_p$ 。

[0950] 可替代地或另外地,如本文所述(例如,在某些实施例中说明),在一些实施例中,寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-

75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸中的一个或多个，例如，约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷(如靶腺苷)相对的核苷的5'的一个或多个，例如，约1-15、1-10、1-9、1-8、1-7、1-6、1-5、5-6、5-7、5-8、5-9、5-10、或约或至少约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，位置+5(N<sub>+5</sub>N<sub>+4</sub>之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或所有处的一个或多个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的5'有2个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的5'有3个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的5'有4个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的5'有5个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷(例如，靶腺苷)相对的核苷的3'的一个或多个核苷酸间键联各自独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，在与靶核苷相对的核苷的3'有一个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的3'有两个或更多个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，与靶核苷相对的核苷的3'有两个不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，位置-2和-6处的一个或两个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联独立地是中性核苷酸间键联。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中，每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中，每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是手性受控的。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是Rp。在一些实施例中，不带负电荷的核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中，每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是Sp。在一些实施例中，每个n001独立地是Sp，除了键合至dI的3'-碳的每个n001独立地是Rp。

#### ADAR

[0951] 尤其是，所提供的技术可以通过将A转化成I来提供对靶腺苷的修饰/编辑。在一些实施例中，寡核苷酸和/或由寡核苷酸与靶核酸形成的双链体与蛋白(例如，ADAR蛋白)相互作用。在一些实施例中，这样的蛋白包含腺苷修饰活性并且可以修饰靶核酸中的靶腺苷，例如将它们转化成肌苷。

[0952] ADAR蛋白是在多种细胞、组织、器官和/或生物体中天然表达的蛋白。据报道，一些ADAR蛋白(例如，ADAR1和ADAR2)可以通过脱氨来编辑腺苷，从而将腺苷转化成肌苷，肌苷可以提供多种功能，包括在翻译过程中被读作或类似于G。已经报道了ADAR介导的mRNA编辑(例如，脱氨)的机制。例如，据报道，ADAR蛋白催化具有错配的双链RNA底物上的腺苷向肌苷的转化。如本领域技术人员所理解的，肌苷可以通过细胞翻译和/或剪接机制被辨识为鸟苷。ADAR因此可用于核酸(例如，前体mRNA和mRNA底物)的功能性腺苷至鸟苷编辑。

[0953] 在一些实施例中,本披露提供了用于ADAR介导的靶核酸(例如,RNA)中的靶腺苷编辑的寡核苷酸及其组合物。ADAR介导的RNA编辑可以提供优于DNA编辑的若干优点,例如,因为不需要重组蛋白如Cas9的表达,所以递送被简化。ADAR1和ADAR2均是内源酶,因此单独的寡核苷酸的细胞递送可足以进行编辑。脱靶效应(如果有的话)是瞬时的并且不改变基因组DNA。另外,ADAR介导的编辑可用于有丝分裂后细胞,并且不需要用于HDR模板进行修复。已经报道了三种脊椎动物ADAR基因具有共同功能结构域(Nishikura Nat Rev Mol Cell Biol.[自然评论-分子细胞生物学]2016年2月;17(2):83-96.;Nishikura Annu Rev Biochem.[生物化学年度综述]2010;79:321-349.;Thomas和Beal Bioessays.[生物学论文集]2017年4月;39(4))。所有3种ADAR均含有dsRNA结合结构域(dsRBD),其可接触dsRNA底物。一些ADAR1还含有Z-DNA结合结构域。据报道,ADAR1在脑、肺、肾、肝和心脏等中显著表达,并且可以以两种同种型存在。在一些实施例中,同种型p150可以由干扰素诱导,而同种型p110可以组成型表达。在一些实施例中,使用p110可能是有益的,因为据报道它是泛在和组成型表达的。ADAR2可以在例如脑和肺中高表达,并且据报道仅定位到细胞核中。据报道,ADAR3无催化活性并且仅在脑中表达。当选择治疗靶时,可以考虑组织表达的潜在差异。

[0954] 已经报道了寡核苷酸用于通过ADAR进行RNA编辑。尤其是,本披露认识到先前报道的技术通常具有一个或多个缺点,诸如低稳定性(例如,具有天然RNA糖的寡核苷酸)、低编辑效率、低编辑特异性(例如,在与寡核苷酸基本上互补的靶核酸的一部分中编辑许多A)、用于ADAR识别/募集的寡核苷酸中的特定结构、外源蛋白(例如,被工程化以识别具有特定结构的寡核苷酸和/或其双链体(例如,具有靶核酸)以用于编辑的那些)等。此外,当寡核苷酸包含经修饰的核苷酸间键联的一个或多个手性键联磷时,先前报道的技术通常利用立体随机寡核苷酸组合物。

[0955] 例如,多种报道的寡核苷酸含有ADAR募集结构域。Merkle等人,Nat Biotechnol.[自然-生物技术]2019年2月;37(2):133-138披露了包含不完美的20bp发夹ADAR募集结构域的寡核苷酸,该结构域是募集内源性人ADAR2以编辑内源性转录物的分子内茎环。Mali等人,Nat Methods.[自然-方法]2019年3月;16(3):239-242中报道的寡核苷酸除了与靶mRNA杂交的特异性结构域外还包含ADAR底物GluR2前信使RNA序列或MS2发夹。

[0956] 某些报道的编辑方法利用外源或工程化蛋白,例如,利用CRISPR/Cas9系统的那些。例如,Komor等人Nature[自然]2016第533卷,第420-424页披露了与CRISPR-Cas9偶联以产生可编程DNA碱基编辑器的脱氨酶。因为它参与外源编辑蛋白,所以它需要递送CRISPR/Cas9系统和指导RNA两者。

[0957] 尤其是,本披露提供了包括一个或多个特征诸如糖修饰、碱基修饰、核苷酸间键联修饰、立体化学控制、其多种模式等的技术,以解决现有腺苷编辑技术中遭受的一个或多个或所有缺点,例如,通过提供本文所述的设计的寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物。例如,如本文所展示,ADAR募集环是可选的,并且对于所提供的技术来说不是必需的。

[0958] 如本领域技术人员所理解的,一个或多个这样的有用特征可用于改进现有技术中的寡核苷酸(例如,WO 2016097212、WO 2017220751、WO 2018041973、WO 2018134301中所述的那些,其各自的寡核苷酸和寡核苷酸组合物独立地通过援引并入本文)。在一些实施例中,本披露通过将本文所述的一个或多个有用特征应用于先前报道的寡核苷酸碱基序列来提供对先前技术的改进。在一些实施例中,本披露提供了可用于腺苷编辑的先前报道的寡

核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,本披露提供了使用立体随机寡核苷酸组合物对先前报道的腺苷编辑的改进,其通过使用手性受控的寡核苷酸组合物进行这样的编辑来进行。

[0959] 据报道,ADAR蛋白可具有多种同种型。例如,ADAR1尤其具有报道的p110同种型和报道的p150同种型。在一些实施例中,据观察,对于多种同种型(在一些实施例中,p110和p150同种型两者),某些手性受控的寡核苷酸组合物可以提供高水平的腺苷修饰(例如,将A转化成I),而对于一种或多种同种型而言(例如,p110)立体随机组合物提供低水平的腺苷修饰。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物对于在表达或包含ADAR1的p110同种型的系统(例如,细胞、组织、器官、生物体、受试者等)中的腺苷修饰特别有用,特别是相对于p150同种型表达或包含高水平的ADAR1的p110同种型的那些系统,或不表达或表达低水平的ADAR1 p150的那些系统。

[0960] 在一些实施例中,本披露提供了在结构中不需要茎环的顺式作用(CisA)寡核苷酸。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸可以通过碱基配对与靶mRNA形成dsRNA结构。在一些实施例中,所形成的dsRNA结构(任选地具有二级错配)含有促进ADAR结合的凸起,并且因此可以促进ADAR介导的编辑(例如,靶腺苷的脱氨)。在一些实施例中,本披露的寡核苷酸比LSL寡核苷酸或CSL寡核苷酸短,例如长度不超过或为约32nt,不超过或为约31nt,不超过或为约30nt,不超过或为约29nt,不超过或为约28nt,不超过或为约27nt,或不超过约26nt,并且可以提供高编辑效率。

#### 双链体化和靶向区

[0961] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

双链体化区;以及

靶向区;

其中:

双链体化区能够与核酸形成双链体;以及

靶向区能够与包含靶腺苷的靶核酸形成双链体。

[0962] 在一些实施例中,双链体化区是或包含如本文所述的第一结构域。在一些实施例中,靶向区是或包含如本文所述的第二结构域。

[0963] 在一些实施例中,双链体化区能够与核酸形成双链体,其中核酸不是靶核酸。在一些实施例中,双链体化区与靶核酸形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与在系统例如细胞中表达的核酸形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与外源核酸例如寡核苷酸形成双链体。在一些实施例中,双链体化区与作为或包含RNA部分的核酸形成双链体。在一些实施例中,形成的双链体可被多肽识别,例如ADAR多肽,例如ADAR1(p110或p150或两者)、ADAR2等。在一些实施例中,形成的双链体可募集多肽,例如ADAR多肽,例如,ADAR1(p110或p150或两者)、ADAR2等。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p150。在一些实施例中,双链体形成募集ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110和p150。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1和ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110、ADAR p150和/或ADAR2。在一些实施例中,形成的双链体募集ADAR1 p110和p150以及ADAR2。

[0964] 在一些实施例中,双链体化区与寡核苷酸(该寡核苷酸可称为“双链体化寡核苷酸”)形成双链体。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核碱基、经修饰的糖和/或经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含与双链体化区互补的双链形成区。正如本领域技术人员所理解的,在许多情况下,不需要完全互补并且可以很好地容忍一个或多个摇摆、凸出、错配等。例如,据报道,ADAR蛋白可结合完全和不完全互补的双链体和/或利用其作为底物。

[0965] 双链区和/或双链形成区可以具有不同的长度。在一些实施例中,它们的长度是至少10(例如,约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更多个,约10-20、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100、14-20、14-25、14-30、14-40、14-50、14-100、15-20、15-25、15-30、15-40、15-50、15-100、16-20、16-25、16-30、16-40、16-50、16-100、17-20、17-25、17-30、17-40、17-50、17-100、18-20、18-25、18-30、18-40、18-50、18-100、19-20、19-25、19-30、19-40、19-50、19-100、20-25、20-30、20-40、20-50、20-100个等)核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约10个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约11个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约12个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约13个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约14个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约15个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约16个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约17个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约18个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约19个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约20个核苷。

[0966] 在一些实施例中,双链体化寡核苷酸由或基本上由双链体形成区组成。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸除了双链体形成区之外还包含一个或多个另外的区。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含茎环区(例如,如图35中所述)。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含双链体形成区和茎环区或由其组成。在一些实施例中,茎区的长度为约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9或10个(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个,约4-10、4-15、4-20、4-25、4-30、4-40、4-50、5-10、5-15、5-20、5-25、5-30、5-40、5-50、6-10、6-15、6-20、6-25、6-30、6-40、6-50、7-10、7-15、7-20、7-25、7-30、7-40、7-50、8-10、8-15、8-20、8-25、8-30、8-40、8-50、9-10、9-15、9-20、9-25、9-30、9-40、9-50、10-15、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100个等)核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约5个核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约6个核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约7个核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约8个核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约9个核碱基。在一些实施例中,它的长度为约或至少约10个核碱基。

[0967] 在一些实施例中,一个或多个另外的区可以促进、促使、有利于和/或促成多肽的募集和/或识别和/或相互作用,该多肽是例如ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2。在一些实施例中,对于包含一个或多个另外的区的双链体化寡核苷酸,与不存在这样的另外的区相比,可使用更短的双链体形成区。

[0968] 在一些实施例中,由双链体区和双链体化寡核苷酸形成的双链体结构可以募集多肽,例如ADAR1(p110和/或p150)和/或ADAR2。在一些实施例中,双链体结构是或包含如WO 2016/097212中所述的募集部分。

[0969] 在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含一个或多个如本文所述的糖、核碱基和/

或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中，双链体化寡核苷酸包含一个或多个糖修饰。在一些实施例中，如本文所述，双链体化寡核苷酸中的大多数或全部糖是经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖，其中R不是氢。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖，其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖，其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中，每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中，每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中，每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中，每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中，双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联，例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，如本文所述，双链体化寡核苷酸的大多数或全部核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，双链体化寡核苷酸的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中，经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中，经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中，经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中，每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中，硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中，如本文所述，手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大多数分或全部独立地是Sp。在一些实施例中，所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中，双链体化寡核苷酸包含一个或多个（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或20个或更多个）天然磷酸酯键联。在一些实施例中，当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时，5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中，5'末端的一个或多个（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等）核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联，例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，3'末端的一个或多个（例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等）核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联，例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，增加经修饰的核苷酸间键联（例如，硫代磷酸酯核苷酸间键联等）的数量可以提高编辑效率，例如，当更多的天然DNA/RNA糖、2'-F修饰的糖等与经修饰的核苷酸间键联（诸如硫代磷酸酯核苷酸间键联）键合时。

[0970] 在一些实施例中，双链体化区包含一个或多个如本文所述的糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中，双链体化区包含一个或多个（例如，1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等）本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中，如本文所述，双链体化区中的大多数或所有糖各自独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中，经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中，每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的

糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,双链体化区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,糖寡核苷酸的两末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是经修饰的糖;例如,在一些寡核苷酸中,5'末端处的3个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖,3'端处的4个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,双链体化区包含一个或多个(例如,1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'和/或3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如,在一些实施例中,各自独立地选自不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酸基胍核苷酸间键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,并且寡核苷酸3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,如本文所述,手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大多数分或全部独立地是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是S<sub>p</sub>。在一些实施例中,手性修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联,不是手性受控的。在一些实施例中,双链体化区包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或20个或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时,5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端的一个或多个(例

如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在双链体化区处掺入一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)天然磷酸酯键联提高了编辑效率。在一些实施例中,双链体化区中的大多数核苷酸间键联(例如约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)各自独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,除了寡核苷酸末端处的一个或多个天然磷酸酯键(如果有的话),双链体化区中的每个其他核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0971] 在一些实施例中,靶向区是或包含如本文所述的编辑区。在一些实施例中,靶向区包含如本文所述的 $5' - N_1 N_0 N_{-1} - 3'$ 。

[0972] 在一些实施例中,靶向区包含一个或多个如本文所述的糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如,1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,靶向区中的大多数或所有糖各自独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,经修饰的糖是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地是2'-修饰的糖。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖、双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,每个经修饰的糖独立地选自2'-F修饰的糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-F修饰的糖。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R不是氢。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,靶向区中约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,除了编辑区中的糖之外,靶向区中的每个糖独立地是如本文所述的经修饰的糖。在一些实施例中,靶向区中除编辑区中的糖以外的每个糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,靶向区中除编辑区中的糖之外的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中,靶向区中除编辑区中的糖之外的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,靶向区中除编辑区中的糖之外的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,编辑区包含

三个核苷或由三个核苷组成,其中与靶腺苷相对的核苷在这三个核苷的中间。在一些实施例中,编辑区由三个核苷组成,其中与靶腺苷相对的核苷在这三个核苷的中间。在一些实施例中,编辑区包含5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>1</sub>-3' 或其组成。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖独立地是经修饰的糖。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖独立地是双环糖或2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,如本文所述,寡核苷酸末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,糖寡核苷酸的两末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)糖各自独立地是经修饰的糖;例如,在一些寡核苷酸中,5'末端处的3个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖,3'端处的4个或更多个糖是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如,1-30、1-20、1-10、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或更多个等)本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'和/或3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,例如,在一些实施例中,各自独立地选自不带负电荷的核苷酸间键联、中性核苷酸间键联、磷酸基胍核苷酸间键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,寡核苷酸5'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联,并且寡核苷酸3'末端处的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,每个经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,每个核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。在一些实施例中,硫代磷酸酯核苷酸间键联不是手性受控的。在一些实施例中,如本文所述,手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的大多数分或全部独立地是Sp。在一些实施例中,所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。在一些实施例中,手性修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联,不是手性受控的。在一些实施例中,靶向区包含一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19个或20个或更多个)天然磷酸酯键联。在一些实施例中,当寡核苷酸包含一个或多个天然磷酸酯键联时,5'和/或3'末端的一个或几个核苷酸间键联独立地是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'和3'末端的几个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,5'末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,3'末端的一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)核苷酸间键联是如本文所述的经修饰的核苷酸间键联,例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,在靶向区处掺入一个或多个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、2-20、2-10、2-5、3-5个等)天然磷酸酯键联提高了编辑效率。在

一些实施例中,靶向区中的大多数核苷酸间键联(例如约50%-100%、60%-100%、70%-100%、50%-90%、50%-80%、60%-90%、60%-80%、70%-90%、70%-80%、或约或至少约60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)各自独立地是天然磷酸酯键联。在一些实施例中,除了寡核苷酸末端处的一个或多个天然磷酸酯键(如果有的话),靶向区中的每个其他核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

[0973] 在一些实施例中,靶向区与靶核酸中的序列互补。在一些实施例中,核酸是或包含RNA。在一些实施例中,核酸是RNA。在一些实施例中,靶区与其互补的靶核酸中的序列包含靶腺苷。正如本领域技术人员所理解的,在许多情况下不需要完全互补,并且可以存在一个或多个摇摆、凸出、错配等。

[0974] 靶向区可以有不同的长度。在一些实施例中,靶向区是的长度至少10(例如,约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或多个,约10-20、10-25、10-30、10-40、10-50、10-100、14-20、14-25、14-30、14-40、14-50、14-100、15-20、15-25、15-30、15-40、15-50、15-100、16-20、16-25、16-30、16-40、16-50、16-100、17-20、17-25、17-30、17-40、17-50、17-100、18-20、18-25、18-30、18-40、18-50、18-100、19-20、19-25、19-30、19-40、19-50、19-100、20-25、20-30、20-40、20-50、20-100各个等)个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约10个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约11个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约12个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约13个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约14个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约15个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约16个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约17个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约18个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约19个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约20个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约21个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约22个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约23个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约24个核苷。在一些实施例中,长度为约或至少约25个核苷。

[0975] 在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区和双链体化区,其中靶向区位于双链体化区的3'侧。在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区和双链体化区,其中靶向区位于双链体化区的5'侧。在一些实施例中,寡核苷酸由靶向区和双链体化区组成,其中靶向区位于双链体化区的3'侧。在一些实施例中,寡核苷酸由靶向区和双链体化区组成,其中靶向区位于双链体化区的5'侧。在一些实施例中,寡核苷酸包含靶向区、双链体化区和位于靶区和双链体化区之间的接头区。在一些实施例中,接头区包含或者是寡核苷酸部分。

[0976] 在一些实施例中,包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸形成复合物,包括与其他核酸(例如双链体化寡核苷酸)的双链体。在一些实施例中,本披露提供了包含双链体,所述双链体包含含有双链化区和靶向区的寡核苷酸以及与双链体化区形成双链体的核酸。在一些实施例中,本披露提供了包含寡核苷酸的双链体,所述寡核苷酸包含双链化区和靶向区以及双链化寡核苷酸。在一些实施例中,使用包含双链化区和靶向区的寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物(例如,WV-42707)。在一些实施例中,使用包含双链化区和靶向区的寡核苷酸的非手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,利用双链体化寡核苷酸的手性受控的寡核苷酸组合物(例如,WV-42724)。在一些实施例中,使用双链体化寡核苷酸的非手性受控的寡核苷酸组合物(例如,WV-42721)。

[0977] 在一些实施例中,双链体在施用前形成。在一些实施例中,包含双链化区和靶向区的寡核苷酸和与其形成双链体的核酸(其可称为“双链化核酸”)分开施用。在一些实施例中,包含双链化区和靶向区的寡核苷酸在双链化核酸(例如,本文所述的各种双链化寡核苷酸)之前、与其同时(在单一组合物中或多个组合物中)或随其之后施用。在一些实施例中,双链体化核酸存在于细胞中和/或可以在细胞中表达,因此可能不需要直接施用。

[0978] 包含双链体化区和靶向区的某些寡核苷酸和/或双链体化核酸(例如,双链体化寡核苷酸)和/或用途在图33、图34和图35等中作为示例进行了描述。

[0979] 在一些实施例中,靶核酸是或包含RNA。在一些实施例中,靶核酸是或包含mRNA。在一些实施例中,靶核酸中的靶腺苷被编辑为I。

#### 寡核苷酸和组合物的产生

[0980] 多种方法可以用于产生寡核苷酸和组合物,并且可以根据本披露使用。例如,传统的亚磷酰胺化学(例如,包含 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ 和 $-\text{N}(\text{i-Pr})_2$ 的亚磷酰胺)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,例如如以下文献中所述:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的试剂和方法通过援引并入本文。

[0981] 在一些实施例中,寡核苷酸及其组合物的手性受控/立体选择性制备包括使用手性助剂,例如作为单体、二聚体(例如来自分离的手性纯二聚体)、单体亚磷酰胺、二聚亚磷酰胺(例如来自分离的手性纯二聚体)等的一部分。这样的手性助剂、单体、二聚体和亚磷酰胺的实例在以下文献中描述:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的手性助剂、单体、二聚体和亚磷酰胺独立地通过援引并入本文。在一些实施例中,手性助剂是以下任一文献中描述的手性助剂:WO 2018/022473、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的手性助剂独立地通过援引并入本文。

[0982] 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)在以下文献中描述:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/022473、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/032612、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2018/223056、WO 2018/223073、WO 2018/223081、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO

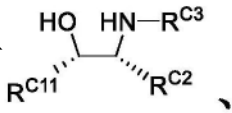
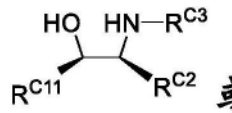
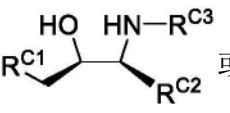
2021/071858,其各自的寡核苷酸合成方法、循环、试剂和条件独立地通过援引并入本文。

[0983] 一旦合成,通常将进一步纯化所提供的寡核苷酸和组合物。合适的纯化技术是本领域技术人员众所周知的和实践的,包括但不限于在以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,其各自的纯化技术独立地通过援引并入本文。

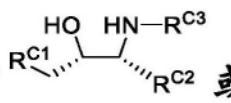
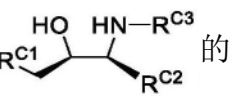
[0984] 在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰和解封闭或由其组成。在一些实施例中,循环包括偶联、封端、修饰、封端和解封闭或由其组成。这些步骤通常以其列出的顺序执行,但是在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,可以改变某些步骤的顺序,例如封端和修饰。如果需要,可以重复一个或多个步骤以提高转化率、产率和/或纯度,如本领域技术人员通常在合成中所进行的。例如,在一些实施例中,可以重复进行偶联;在一些实施例中,可以重复进行修饰(例如,氧化以安装=O,硫化以安装=S,等等);在一些实施例中,在修饰后重复进行偶联,其可以将P(III)键联转化成在某些情况下可以更稳定的P(V)键联,并且偶联后通常进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)。

[0985] 用于配制所提供的寡核苷酸和/或制备药物组合物的技术,例如用于经由多种途径施用给受试者的技术,在本领域中是容易获得的,并且可以根据本披露使用,例如以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056或WO 2018/237194及其中引用的参考文献。

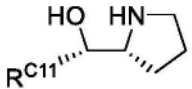
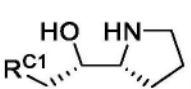
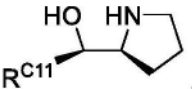
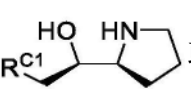
[0986] 用于配制所提供的寡核苷酸和/或制备药物组合物的技术,例如用于经由多种途径施用给受试者的技术,在本领域中是容易获得的,并且可以根据本披露使用,例如以下文献中描述的那些:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056或WO 2018/237194及其中引用的参考文献。

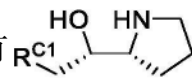
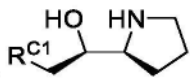
[0987] 在一些实施例中,有用的手性助剂具有 、  
、  
 或  或其盐的结构,其中R<sup>C11</sup>是-L<sup>C1</sup>-R<sup>C1</sup>,

L<sup>C1</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-,R<sup>C1</sup>是R、-Si(R)<sub>3</sub>、-SO<sub>2</sub>R或吸电子基团,R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>与其间的原子一起形成任选地经取代的除了氮原子外还具有0-2个杂原子的3-10元饱和环。在一些实施例中,

有用的手性助剂具有  或  的结构,其中R<sup>C1</sup>是R、-Si(R)<sub>3</sub>或-

SO<sub>2</sub>R,并且R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外还具有0-2个杂原子的任选地经取代的3-7元饱和环。所形成的环是任选地经取代的5元环。在一些实施例中,有用

的手性助剂具有 、、 或  或其盐

的结构。在一些实施例中，有用的手性助剂具有  或  的结构。在一

些实施例中，有用的手性助剂是DPSE手性助剂。在一些实施例中，手性助剂的纯度或立体化学纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中，它是至少85%。在一些实施例中，它是至少90%。在一些实施例中，它是至少95%。在一些实施例中，它是至少96%。在一些实施例中，它是至少97%。在一些实施例中，它是至少98%。在一些实施例中，它是至少99%。

[0988] 在一些实施例中， $L^{C1}$ 是 $-CH_2-$ 。在一些实施例中， $L^{C1}$ 是取代的 $-CH_2-$ 。在一些实施例中， $L^{C1}$ 是单取代的 $-CH_2-$ 。

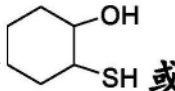
[0989] 在一些实施例中， $R^{C1}$ 是R。在一些实施例中， $R^{C1}$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中， $R^{C1}$ 是 $-SiR_3$ 。在一些实施例中， $R^{C1}$ 是 $-SiPh_2Me$ 。在一些实施例中， $R^{C1}$ 是 $-SO_2R$ 。在一些实施例中，R不是氢。在一些实施例中，R是任选地经取代的苯基。在一些实施例中，R是苯基。在一些实施例中，R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中，R是 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中，R是甲基。在一些实施例中，R是叔丁基。

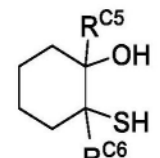
[0990] 在一些实施例中， $R^{C1}$ 是吸电子基团，诸如 $-C(O)R$ 、 $-OP(O)(OR)_2$ 、 $-OP(O)(R)_2$ 、 $-P(O)(R)_2$ 、 $-S(O)R$ 、 $-S(O)_2R$ 等。在一些实施例中，包含吸电子基团 $R^{C1}$ 基团的手性助剂特别可用于制备与天然RNA糖键合的手性受控的不带负电荷的核苷酸间键联和/或手性受控的核苷酸间键联。

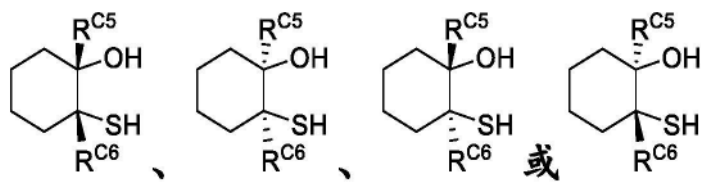
[0991] 在一些实施例中， $R^{C2}$ 和 $R^{C3}$ 与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的3-10(例如，3、4、5、6、7、8、9或10)元饱和环。在一些实施例中， $R^{C2}$ 和 $R^{C3}$ 与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元饱和环。

[0992] 在一些实施例中，化合物具有 $H-X^C-C(R^{C5})_2-C(R^{C6})_2-SH$ 或其盐的结构，其中 $X^C$ 是O或S， $R^{C5}$ 和 $R^{C6}$ 各自独立地是如本文所述的R。在一些实施例中，这样的化合物可用于制备单体。在一些实施例中，这样的化合物可用作手性助剂。在一些实施例中，这样的化合物特别可用于制备当用于寡核苷酸合成时在它们的氮原子之间与键联磷形成键的单体(例如，包含sm01、sm18等的单体)。在一些实施例中， $X^C$ 是O。在一些实施例中， $X^C$ 是S。在一些实施例中，一个 $R^{C5}$ 是-H。在一些实施例中，一个 $R^{C6}$ 是-H。在一些实施例中，化合物具有 $H-X^C-CHR^{C5}-CHR^{C6}-SH$ 或其盐的结构。在一些实施例中， $R^{C5}$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中， $R^{C5}$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中， $R^{C5}$ 是甲基。在一些实施例中， $R^{C6}$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。在一些实施例中， $R^{C6}$ 是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 烷基。在一些实施例中， $R^{C6}$ 是甲基。在一些实施例中，化合物是 $HOCH(CH_3)CH(CH_3)SH$ 。在一些实施例中，化合物是 $HSCH(CH_3)CH(CH_3)SH$ 。在一些实施例中，一个 $R^{C5}$ 不是氢。在一些实施例中，一个 $R^{C6}$ 不是氢。在一些实施例中，一个 $R^{C5}$ 和一个 $R^{C6}$ 连同居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的3-20(例如，3-15、3-10、5-10、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20)元的具有0-5杂原子的单环、双环或多环。在一些实施例中，所形成的环是单环的。在一些实施例中，

一个R<sup>C5</sup>和一个R<sup>C6</sup>连同居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的4-8、4-7、5-8、5-7、4、5、6、7或8元单环。在一些实施例中，形成的环是饱和环烷基环。在一些实施例中，形成的环是环己基环。在一些实施例中，所形成的环是双环的。在一些实施例中，形成的环不含杂原子环原子。在一些实施例中，每个单环单元独立地是3-10元，和/或独立地是饱和的、部分不

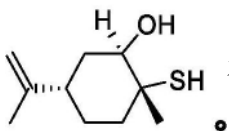
饱和的或芳香族的并且具有0-5个杂原子。在一些实施例中，化合物是  或其盐，

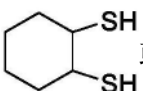
其中环己基环任选地经取代。在一些实施例中，化合物是 、



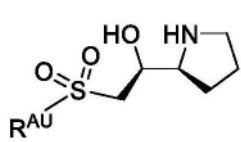
或其盐，其中环己基环任选地经取代。在

一些实施例中，取代基是C<sub>1-6</sub>脂肪族基，例如-C(CH<sub>3</sub>)=CH<sub>2</sub>。例如，在一些实施例中，化合物是

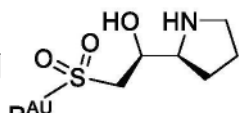
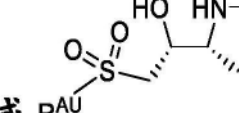


在一些实施例中，化合物是  或其盐，其中环己基环任选地经取代。

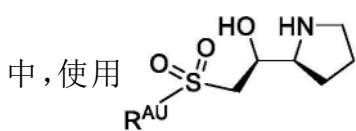
[0993] 在一些实施例中，用于制备寡核苷酸和/或组合物的方法包括使用本文所述的手性助剂，例如用于构建一个或多个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，使用DPSE手性助剂独立地构建一个或多个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，使用DPSE手性助剂独立地构建每个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中，使用

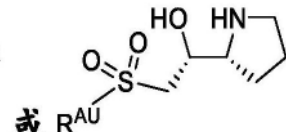


或其盐 (其中R<sup>AU</sup>如本文所述) 独立地构建一个或多个

手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，使用  或  或

其盐独立地构建每个手性受控的不带负电荷的核苷酸间键联 (例如，n001)。在一些实施例

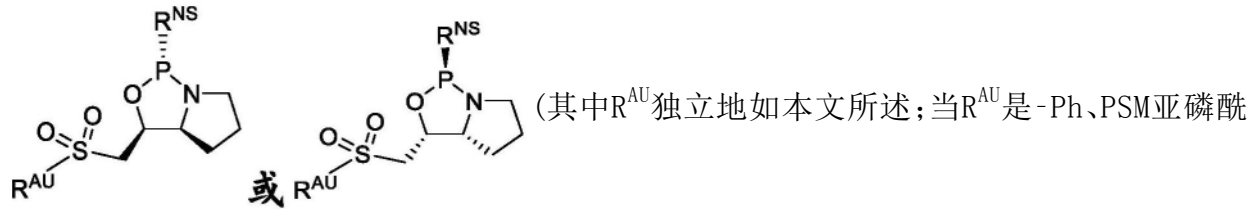
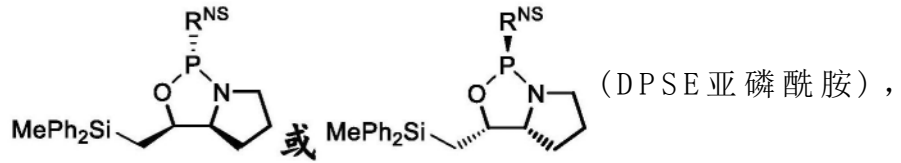


中，使用  或其盐独立地构建每个手性受控的核苷酸

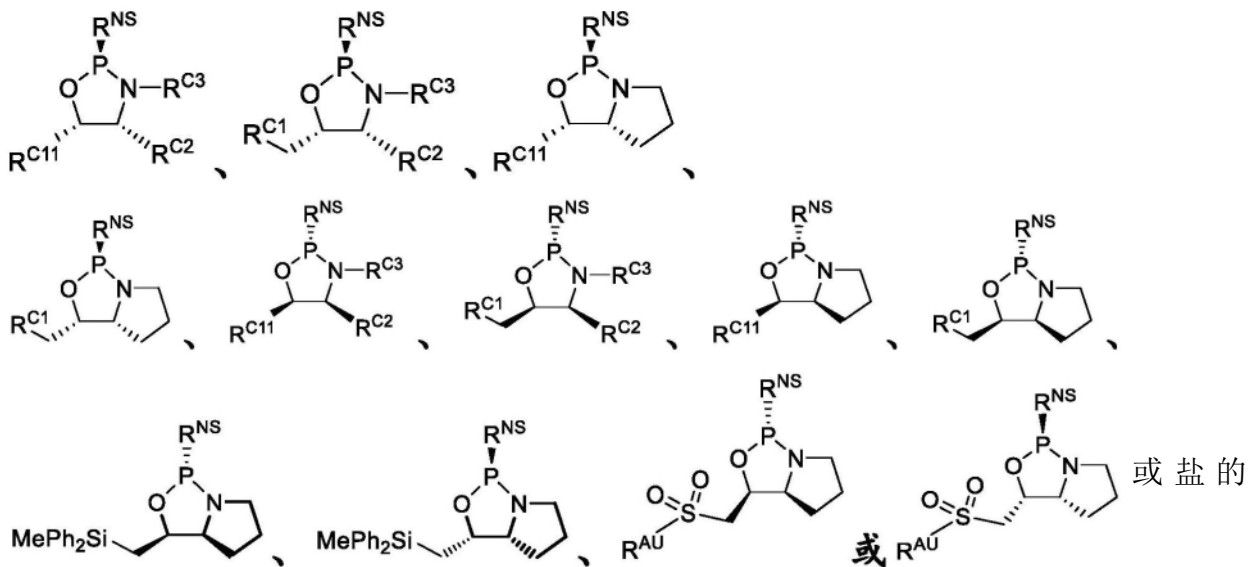
间键联。在一些实施例中，R<sup>AU</sup>是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-5</sub>、或C<sub>1-4</sub>脂肪族基。在一些实施例中，R<sup>AU</sup>是任选地经取代的C<sub>1-20</sub>、C<sub>1-10</sub>、C<sub>1-6</sub>、C<sub>1-5</sub>或C<sub>1-4</sub>烷基。在一些实施例中，R<sup>AU</sup>是任选地经取代的芳基。在一些实施例中，R<sup>AU</sup>是苯基。在一些实施例中，使用PSM手性助剂构建一个或多个手性受控的核苷酸间键联。在一些实施例中，使用PSM手性助剂独立地构建每个手性受控的不带负电荷的核苷酸间键联 (例如，n001)。在一些实施例中，使用PSM手性助剂独

立地构建每个手性受控的核苷酸间键联。如本领域技术人员所理解的，在亚磷酰胺中经常

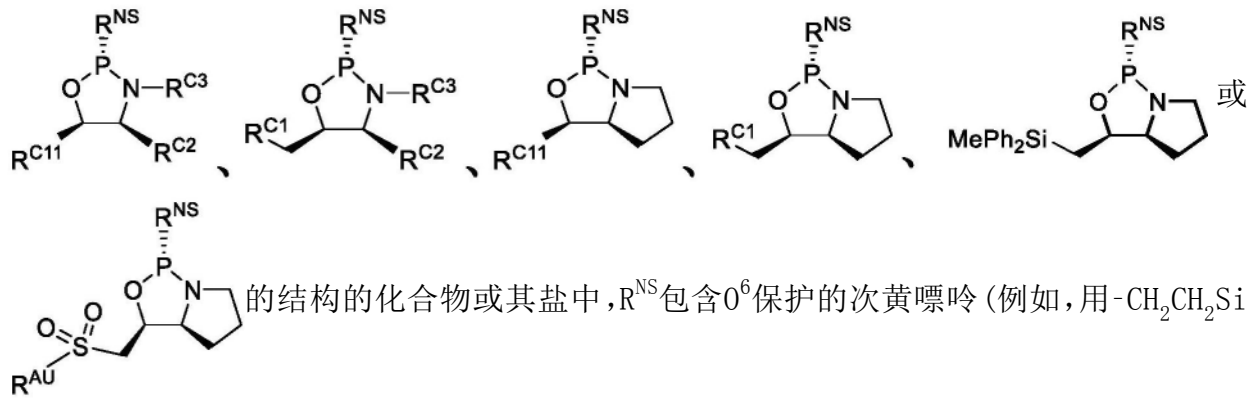
使用手性助剂（例如，



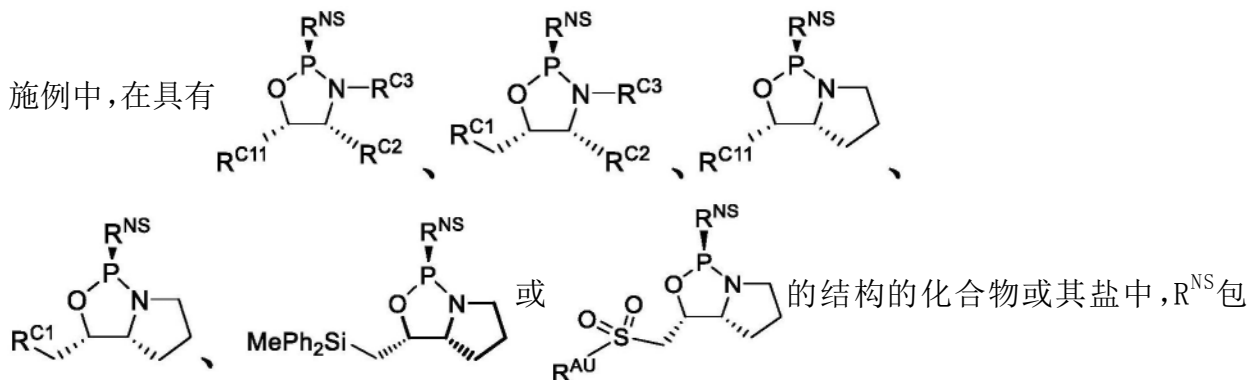
结构的化合物，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $R^{AU}$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中， $R^{AU}$ 是苯基。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的包含次黄嘌呤的核苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 包含任选地经取代或被保护的次黄嘌呤。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的肌苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的脱氧肌苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的2'-F肌苷(2'-OH被2'-F替代)。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的2'-OR修饰的肌苷(2'-OH被如本文所述的2'-OR修饰替代(例如，2'-OMe、2'-MOE等))。在一些实施例中，次黄嘌呤是 $O^6$ 保护的。在一些实施例中，次黄嘌呤是用-L-Si(R)<sub>3</sub>保护的 $O^6$ ，其中L是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-，并且每个R独立地如本文所述并且不是-H。在一些实施例中，每个R独立地是任选地经取代的选自C<sub>1-6</sub>脂肪族基和苯基的基团。在一些实施例中，每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中，-L-Si(R)<sub>3</sub>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(Me)<sub>3</sub>。在一些实施例中，包含 $O^6$ 被保护的次黄嘌呤(例如，具有-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(Me)<sub>3</sub>)的化合物与对应的 $O^6$ 未被保护的化合物相比具有更高的溶解度，并且在根据本披露利用于寡核苷酸合成时可提供各种益处和优势。在一些实施例中，在具有



结构的化合物，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $R^{AU}$ 是任选地经取代的苯基。在一些实施例中， $R^{AU}$ 是苯基。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的包含次黄嘌呤的核苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 包含任选地经取代或被保护的次黄嘌呤。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的肌苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的脱氧肌苷。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的2'-F肌苷(2'-OH被2'-F替代)。在一些实施例中， $R^{NS}$ 是任选地经取代或被保护的2'-OR修饰的肌苷(2'-OH被如本文所述的2'-OR修饰替代(例如，2'-OMe、2'-MOE等))。在一些实施例中，次黄嘌呤是 $O^6$ 保护的。在一些实施例中，次黄嘌呤是用-L-Si(R)<sub>3</sub>保护的 $O^6$ ，其中L是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-，并且每个R独立地如本文所述并且不是-H。在一些实施例中，每个R独立地是任选地经取代的选自C<sub>1-6</sub>脂肪族基和苯基的基团。在一些实施例中，每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中，-L-Si(R)<sub>3</sub>是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(Me)<sub>3</sub>。在一些实施例中，包含 $O^6$ 被保护的次黄嘌呤(例如，具有-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(Me)<sub>3</sub>)的化合物与对应的 $O^6$ 未被保护的化合物相比具有更高的溶解度，并且在根据本披露利用于寡核苷酸合成时可提供各种益处和优势。在一些实施例中，在具有



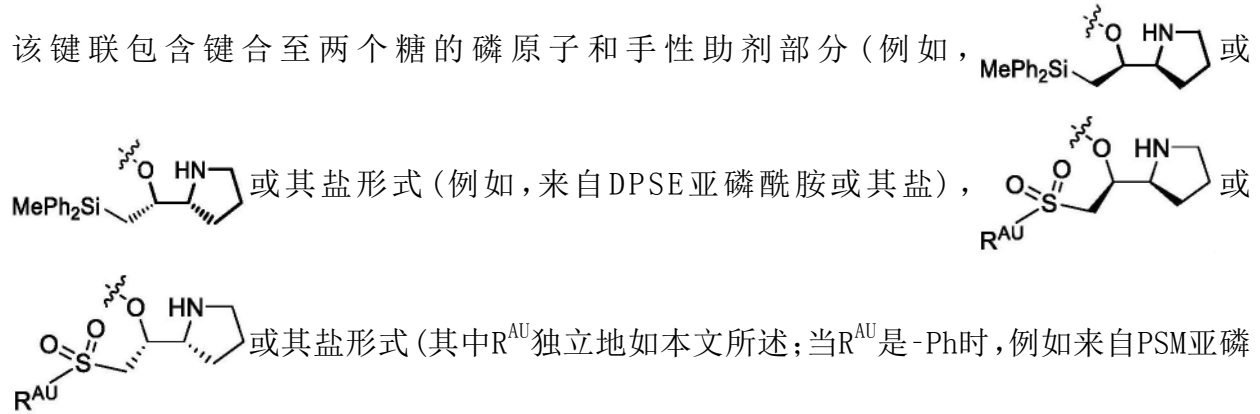
的结构的化合物或其盐中,  $R^{NS}$  包含  $O^6$  保护的次黄嘌呤 (例如, 用  $-CH_2CH_2Si$  (Me)<sub>3</sub> 保护)。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是  $O^6$ -保护的肌苷。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是  $O^6$ -保护的脱氧肌苷。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是  $O^6$ -保护的 2'-F 肌苷。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是  $O^6$ -保护的经 2'-OR 修饰的肌苷, 其 2'-OR 修饰如本文所述 (例如, 2'-OMe、2'-MOE 等)。尤其是, 本披露涵盖以下认识, 这样的化合物对于寡核苷酸合成具有足够的溶解度并且可以用于寡核苷酸合成, 而没有  $O^6$  保护的对应化合物对于有效寡核苷酸合成可能不具有足够的溶解度。在一些实施例中, 亚磷酰胺是 (1S, 3S, 3aS) -1-(((2R, 3S, 5R) -2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(6-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)-9H-嘌呤-9-基)四氢咪唑-3-基)氧基)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷。在一些实施例中, 亚磷酰胺是 (1S, 3S, 3aS) -1-(((2R, 3S, 5R) -2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-5-(6-(2-(三甲基甲硅烷基)乙氧基)-9H-嘌呤-9-基)四氢咪唑-3-基)氧基)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷。在一些实



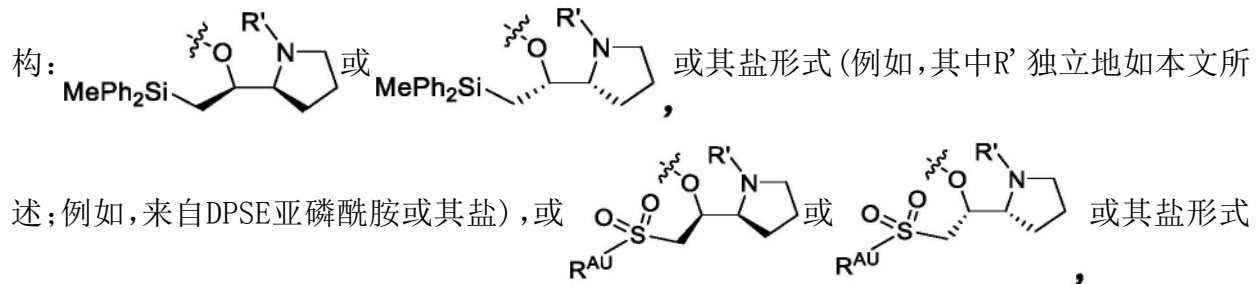
施例中, 在具有 的结构的化合物或其盐中,  $R^{NS}$  包含未被  $O^6$  保护的次黄嘌呤。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是任选地经取代或被保护的肌苷, 其中次黄嘌呤未被保护的。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是任选地经取代或被保护的脱氧肌苷, 其中次黄嘌呤未被保护的。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是任选地经取代或被保护的 2'-F 肌苷, 其中次黄嘌呤未被保护的。在一些实施例中,  $R^{NS}$  是任选地经取代或被保护的 2'-OR 修饰的肌苷, 其中次黄嘌呤未被保护的并且其 2'-OR 修饰如本文所述 (例如, 2'-OMe、2'-MOE 等)。尤其是, 本披露包括这样的认识, 即这样的化合物对于寡核苷酸合成具有足够的溶解度并且可以在没有  $O^6$  保护的情况下用于寡核苷酸合成。

[0994] 在一些实施例中, 方法包括提供 DPSE 和/或 PSM 亚磷酰胺或其盐。在一些实施例中, 所提供的方法包括使 DPSE 和/或 PSM 亚磷酰胺或其盐与 -OH (例如, 核苷或寡核苷酸链的 5'-OH) 接触。如本领域技术人员所理解的, 接触可以在多种合适的条件下进行, 从而形成磷键联。在一些实施例中, 每个手性受控的核苷酸间键联的制备独立地包括使 DPSE 或 PSM 亚磷酰胺

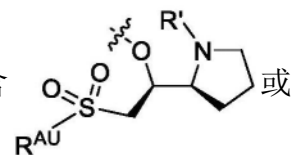
胺或其盐与-OH(例如,核苷或寡核苷酸链的5'-OH)接触。在一些实施例中,每个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联的制备独立地包括使DPSE亚磷酰胺或其盐与-OH(例如,核苷或寡核苷酸链的5'-OH)接触。在一些实施例中,每个手性受控的不带负电荷的核苷酸间键联(如n001)的制备独立地包括使PSM亚磷酰胺或其盐与-OH(例如,核苷或寡核苷酸链的5'-OH)接触。在一些实施例中,每个手性受控的核苷酸间键联的制备独立地包括使PSM亚磷酰胺或其盐与-OH(例如,核苷或寡核苷酸链的5'-OH)接触。在一些实施例中,接触形成P(III)键联,



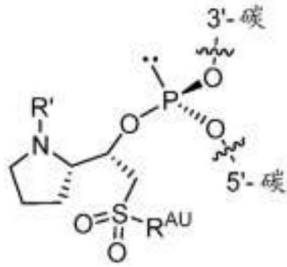
在一些实施例中,寡核苷酸包含P(III)键联,该键联包含例如来自DPSE或PSM亚磷酰胺的手性助剂部分。在一些实施例中,包含手性助剂部分的P(III)键联是手性受控的。在一些实施例中,可以例如在将P(III)键联转化成P(V)键联之前(例如,在硫化、与叠氮化物反应等之前)保护手性助剂部分。在一些实施例中,被保护的手性助剂具有以下结构:



些实施例中,寡核苷酸中的每个手性受控的核苷酸间键联独立地包含

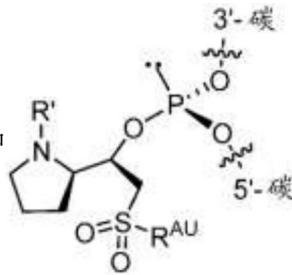


或其盐形式。在一些实施例中，R' 是 -C(O)R。在一些实施例中，R' 是 -C(O)CH<sub>3</sub>。在一些实施例中，R<sup>AU</sup> 是 Ph。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



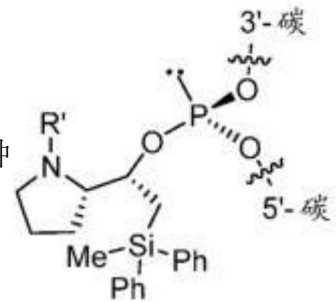
或其盐形式 (PIII-1)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施

例中，寡核苷酸包含一种或多种



或其盐形式 (PIII-2)，其中每个变量

独立地如本文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



或

其盐形式 (PIII-5)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种

或多种



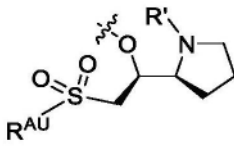
或其盐形式 (PIII-6)，其中每个变量独立地如本文所述。在一

些实施例中，5' 末端核苷酸间键联是 PIII-1、PIII-2、PIII-5 或 PIII-6。在一些实施例中，5' 末端核苷酸间键联是 PIII-1 或 PIII-2。在一些实施例中，R' 是 -H。在一些实施例中，R' 是 -C(O)R。在一些实施例中，R' 是 -C(O)CH<sub>3</sub>。在一些实施例中，R<sup>AU</sup> 是 -Ph。在一些实施例中，将 P(III) 键联转化成 P(V) 键联。在一些实施例中，P(V) 键联包含键合至两个糖的磷原子、手性

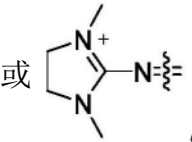
助剂部分 (例如，

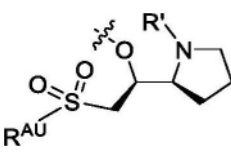


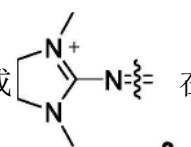
或其盐形式 (其中 R' 如本文所

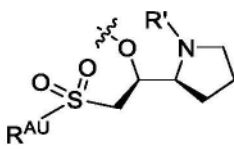
述;例如来自DPSE亚磷酰胺或其盐),  或其盐形式(其

中R'和R<sup>AU</sup>各自独立地如本文所述;当R<sup>AU</sup>是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S

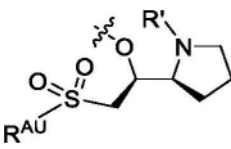
或  在一些实施例中,P(V)键联包含键合至两个糖的磷原子、

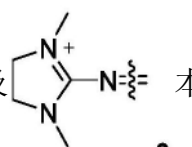
 或其盐形式(其中R'和R<sup>AU</sup>各自独立地如本文所述;当

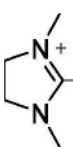
R<sup>AU</sup>是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S或  在一些实施例中,P(V)

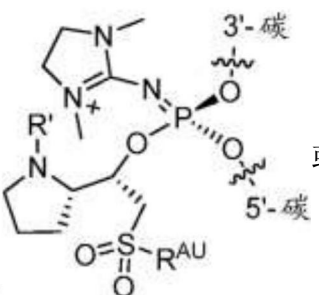
键联包含键合至两个糖的磷原子、  或其盐形式(其中

R'和R<sup>AU</sup>各自独立地如本文所述;当R<sup>AU</sup>是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及S。在一些实施例中,P(V)键联包含键合至两个糖的磷原子、

 或其盐形式(其中R'和R<sup>AU</sup>各自独立地如本文所述;当

R<sup>AU</sup>是-Ph时,例如来自PSM亚磷酰胺或其盐)等),以及  本领域技术人员将理解,

 可以与平衡离子(例如,在一些实施例中为PF<sub>6</sub><sup>-</sup>)一起存在。在一些实施例中,寡核

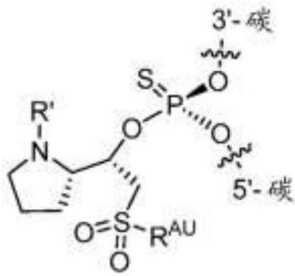
苷酸包含一种或多种  或其盐形式(PV-1),其中每个变量独立地如本

文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



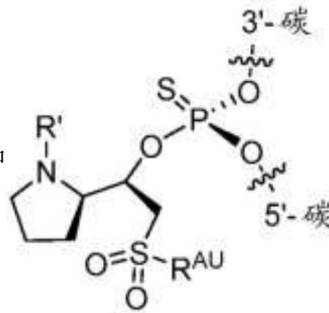
或其盐形式

(PV-2)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



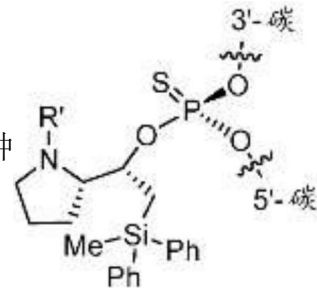
或其盐形式 (PV-3)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例

中，寡核苷酸包含一种或多种



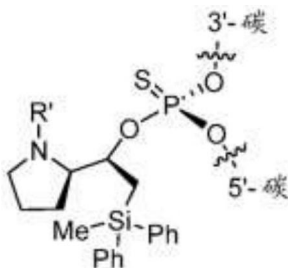
或其盐形式 (PV-4)，其中每个变量独

立地如本文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



或其盐

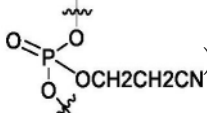
形式 (PV-5)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例中，寡核苷酸包含一种或多种



或其盐形式 (PV-6)，其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施例

中，寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性受控的核苷酸间键联独立地选自PIII-1、PIII-2、PIII-5、PIII-6、PV-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5和PV-6。在一些实施例中，寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性受控的核苷酸间键联独立地选自PIII-1、PIII-2、PV-1、PV-2、PV-3和PV-4。在一些实施例中，PIII-1、PIII-2、PIII-5或PIII-6的键联通常是5'末端核苷酸间键联。在一些实施例中，寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性受控的

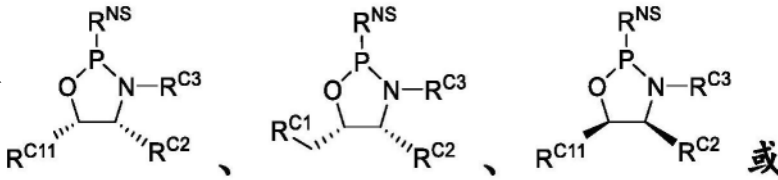
核苷酸间键联独立地选自PV-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5和PV-6。在一些实施例中，寡核苷酸的每个手性核苷酸间键联或每个手性受控的核苷酸间键联独立地选自PV-1、PV-2、PV-3或PV-4。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸是如本文所述的(例如，表1的)寡核苷酸，其中每个\*S独立地被PV-3或PV-5代替，每个\*R独立地被PV-4或PV-6代替，每个n001R独立地被PV-1代替，并且每个n001S独立地被PV-2代替。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸是如本文所述的(例如，表1的)寡核苷酸，其中每个\*S独立地被PV-3代替，每个\*R独立地被PV-4代替，每个n001R独立地被PV-1代替，并且每个n001S独立地被PV-2代替。在一些实施例中，每个天然

磷酸酯键联独立地被前体(例如，)代替。在一些实施例中，R'是-H。在一些实

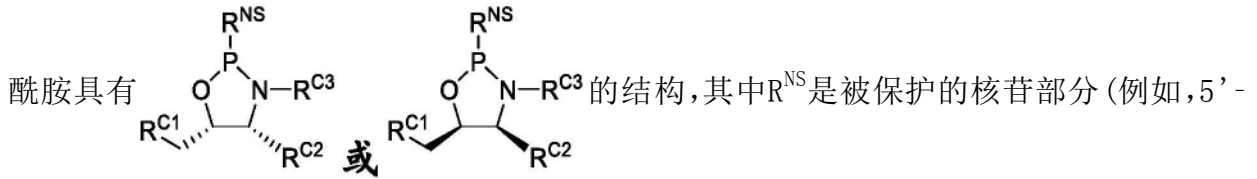
施例中，R'是-C(O)R。在一些实施例中，R'是-C(O)CH<sub>3</sub>。在一些实施例中，R<sup>AU</sup>是-Ph。在一些实施例中，方法包括除去一个或多个手性助剂部分，从而形成硫代磷酸酯和/或不带负电荷的核苷酸间键联(例如，n001)(例如，从V-1、PV-2、PV-3、PV-4、PV-5、PV-6等)。在一些实施例中，除去手性助剂(例如，PSM)包括在无水条件下使寡核苷酸与碱(例如，N(R)<sub>3</sub>，诸如DEA)接触。

[0995] 在一些实施例中，如本领域技术人员所理解的，为了制备手性受控的核苷酸间键联，通常以手性富集或纯的形式(例如，具有如本文所述的纯度(例如，约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%或约100%))使用单体或亚磷酰胺(例如，DPSE或PSM亚磷酰胺)。

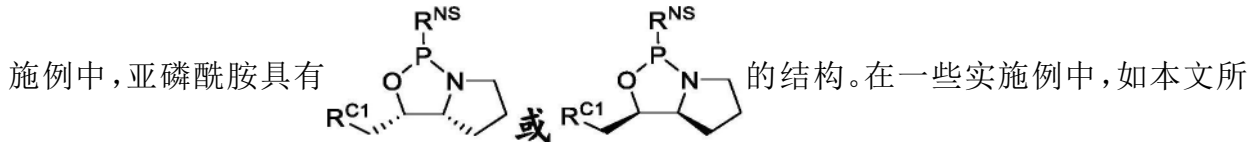
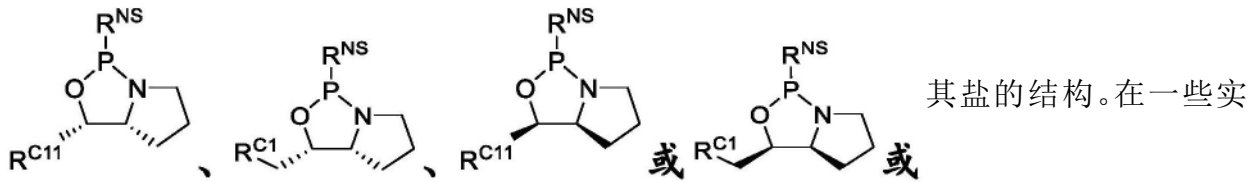
[0996] 在一些实施例中，本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物的有用试剂。在一些实施例中，单体和亚磷酰胺包含如本文所述的核苷、核碱基和糖。在一些实施例中，如本领域技术人员将理解的，对于寡核苷酸合成，核碱基和糖被适当地保护。在一些实施例中，亚磷酰胺具有R<sup>NS</sup>-P(OR)N(R)<sub>2</sub>的结构，其中R<sup>NS</sup>是任选地被保护的核苷部分。在一些实施例中，亚磷酰胺具有R<sup>NS</sup>-P(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)N(i-Pr)<sub>2</sub>的结构。在一些实施例中，单体包含核碱基，该核碱基是或包含环BA，其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构，或环BA的互变异构体，其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中，亚磷酰胺包含核碱基，该核碱基是或包含环BA，其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构，或环BA的互变异构体，其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。在一些实施例中，亚磷酰胺包含手性助剂部分，其中磷键合至手性助剂部分的氧和氮原子。在一些实

施例中，亚磷酰胺具有 或其盐的结构，其中R<sup>NS</sup>是被保护的核苷部分(例如，5'-OH和/或对于寡核苷

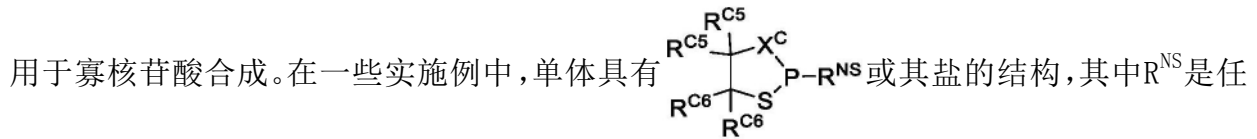
酸合成适合保护的核碱基),并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中,亚磷



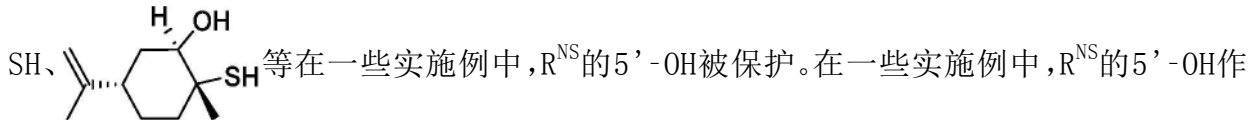
OH和/或对于寡核苷酸合成适合保护的核碱基),R<sup>C1</sup>是R、-Si(R)<sub>3</sub>或-SO<sub>2</sub>R,并且R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外还具有0-2个杂原子的任选地经取代的3-7元饱和环,其中偶联形成核苷酸间键联。在一些实施例中,R<sup>NS</sup>的5'-OH被保护。在一些实施例中,R<sup>NS</sup>的5'-OH作为-ODMT<sub>r</sub>被保护。在一些实施例中,R<sup>NS</sup>通过其3'-O-键合至磷。在一些实施例中,R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>形成的环是任选地经取代的5元环。在一些实施例中,亚磷酰胺具有



述,R<sup>NS</sup>包含经修饰的核碱基(例如,b001A、b002A、b003A、b008U、b001C等),其任选地被保护

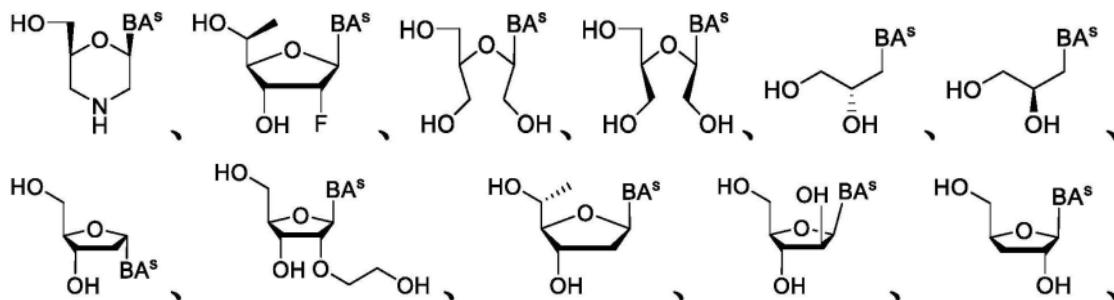


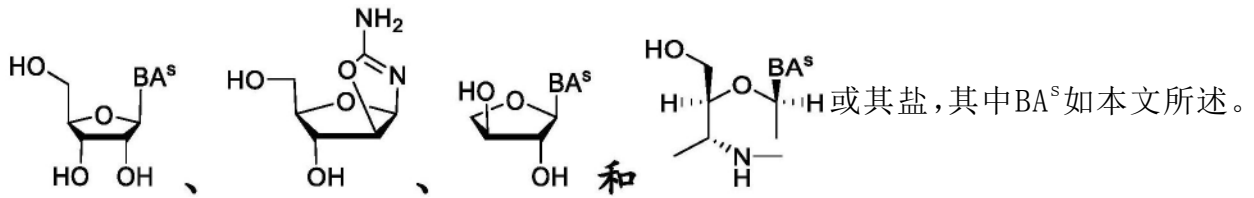
选地经取代的/被保护的核苷(例如,任选地保护用于寡核苷酸合成),如本文所述,并且每个其他变量独立地是如本文所述。在一些实施例中,-X<sup>C</sup>-C(R<sup>C5</sup>)<sub>2</sub>-C(R<sup>C6</sup>)<sub>2</sub>-S-的结构使得H-X<sup>C</sup>-C(R<sup>C5</sup>)<sub>2</sub>-C(R<sup>C6</sup>)<sub>2</sub>-SH是本文所述的化合物,例如HOCH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)SH、HSCH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)



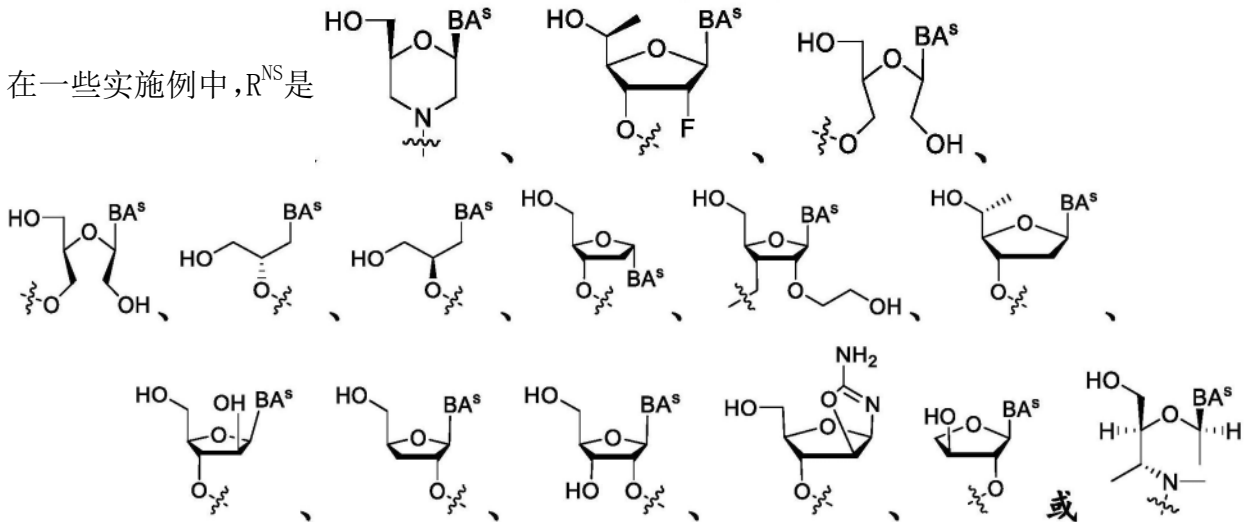
为-ODMT<sub>r</sub>被保护。

[0997] 在一些实施例中,R<sup>NS</sup>是任选地经取代或被保护的核苷,其选自





在一些实施例中,R<sup>NS</sup>是



或其盐,其中BA<sup>S</sup>如本文所述。在一些实施例中,每个-OH任选且独立地经取代或被保护。在一些实施例中,BA<sup>S</sup>是任选地经取代或被保护的核碱基,并且核苷的每个-OH独立地被保护,其中至少一个-OH作为DMTrO-被保护。在一些实施例中,用于例如与另一单体或亚磷酰胺偶联的-OH作为DMTrO-被保护。在一些实施例中,用于例如与另一单体或亚磷酰胺偶联的-OH基团不同于不用于偶联的-OH基团地被保护。在一些实施例中,非偶联-OH被保护,使得当DMTrO-被去保护时保护仍然存在。在一些实施例中,非偶联-OH被保护,使得在寡核苷酸合成循环期间保护仍然存在。在一些实施例中,BA<sup>S</sup>是任选地被保护的核碱基,其选自A、T、C、G、U及其互变异构体。

[0998] 在一些实施例中,单体或亚磷酰胺的纯度或立体化学纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。在一些实施例中,它是至少85%。在一些实施例中,它是至少90%。在一些实施例中,它是至少95%。

[0999] 在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的游离-OH(例如,游离5'-OH)与如本文所述的单体偶联。在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的游离-OH(例如,游离5'-OH)与如本文所述的亚磷酰胺偶联。

[1000] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸,其中寡核苷酸包含一个或多个经修饰的核苷酸间键联,其各自独立地具有-O<sup>5</sup>-P<sup>L</sup>(W)(R<sup>CA</sup>)-O<sup>3</sup>-的结构,其中:

P<sup>L</sup>是P或P(=W);

W是O、S或W<sup>N</sup>;

W<sup>N</sup>是=N-C(-N(R<sup>1</sup>))<sub>2</sub>=N<sup>+</sup>(R<sup>1</sup>)<sub>2</sub>Q<sup>-</sup>;

Q<sup>-</sup>是阴离子;

R<sup>CA</sup>是或包含任选地封端的手性助剂部分,

O<sup>5</sup>是键合至糖的5'-碳的氧,并且

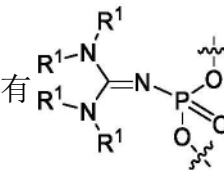
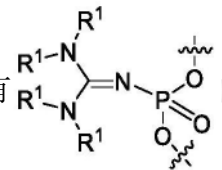
$O^3$ 是键合至糖的3'-碳的氧。

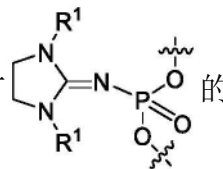
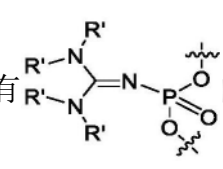
[1001] 在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联任选地是手性受控的。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联任选地是手性受控的。

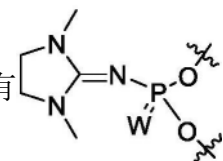
[1002] 在一些实施例中,提供了包括从这样的经修饰的核苷酸间键联移除 $R^{CA}$ 的方法。在一些实施例中,在移除后,与 $R^{CA}$ 的键合被-OH代替。在一些实施例中,在移除后,与 $R^{CA}$ 的键合被=O代替,并且与 $W^N$ 的键合被 $-N=C(N(R^1)_2)_2$ 代替。

[1003] 在一些实施例中, $P^L$ 是 $P=S$ ,并且当移除RCA时,这样的核苷酸间键联被转化成硫代磷酸酯核苷酸间键联。

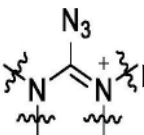
[1004] 在一些实施例中, $P^L$ 是 $P=W^N$ ,并且当移除RCA时,这样的核苷酸间键联被转化成具

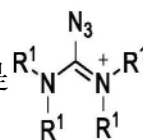
有  的结构核苷酸间键联。在一些实施例中,具有  的结构

核苷酸间键联具有  的结构。在一些实施例中,具有  的结构核

苷酸间键联具有  的结构。

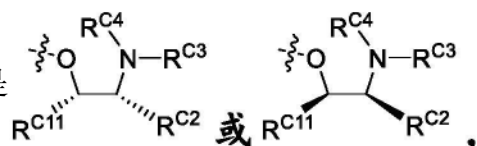
[1005] 在一些实施例中, $P^L$ 是P(例如,在来自亚磷酰胺与5'-OH偶联的新形成的核苷酸间键联中)。在一些实施例中,W是O或S。在一些实施例中,W是S(例如,在硫化之后)。在一些实施例中,W是O(例如,在氧化后)。在一些实施例中,某些不带负电荷的核苷酸间键联或中性核苷酸间键联可通过使P(III)亚磷酸三酯核苷酸间键联与叠氮基咪唑啉盐(例如,包含

 的化合物)在合适的条件下反应而制备。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉盐是 $PF_6^-$

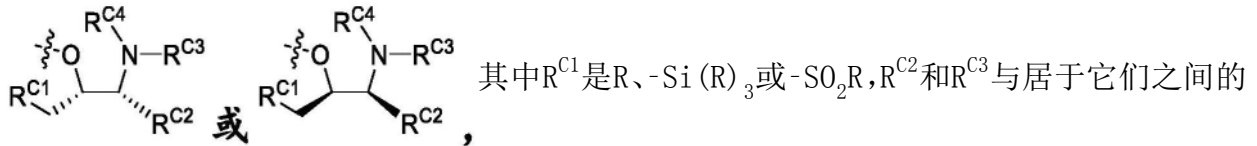
的盐。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉盐是  的盐。在一些实施例中,叠氮基咪唑啉

盐是2-叠氮基-1,3-二甲基咪唑啉六氟磷酸盐。

[1006] 如本领域技术人员所理解的, $Q^-$ 可以是存在于系统中(例如,在寡核苷酸合成中)的多种合适的阴离子,并且可以在寡核苷酸制备过程期间根据循环、过程阶段、试剂、溶剂等而变化。在一些实施例中, $Q^-$ 是 $PF_6^-$ 。

[1007] 在一些实施例中, $R^{CA}$ 是  , 其中 $R^{C4}$ 是-H或-C(O)R',

并且每个其他变量独立地如本文所述。在一些实施例中， $R^{C^A}$ 是



原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和环，该环除了氮原子外还具有0-2个杂原子， $R^{C^4}$ 是-H或 $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ 。在一些实施例中， $R^{C^4}$ 是-H。在一些实施例中， $R^{C^4}$ 是 $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$ 。在一些实施例中， $R^{C^2}$ 和 $R^{C^3}$ 合在一起形成任选地经取代的5元环。

[1008] 在一些实施例中， $R^{C^4}$ 是-H(例如，在来自亚磷酰胺与5'-OH偶联的新形成的核苷酸间键联中)。在一些实施例中， $R^{C^4}$ 是 $-\text{C}(\text{O})\text{R}$ (例如，在胺的封端之后)。在一些实施例中，R是甲基。

[1009] 在一些实施例中，每个手性受控的硫代磷酸酯核苷酸间键联独立地从 $-\text{O}^5-\text{P}^L(\text{W})(\text{R}^{C^A})-\text{O}^3$ -转化。

#### 对所提供技术的评估/表征

[1010] 如本领域的技术人员所理解的，可利用多种技术来评估/表征根据本披露所提供的技术。在实例中描述了某些有用的技术；如所展示的，尤其是，本披露描述了适于评估和表征所提供的技术的多种体内和体外技术。在一些实施例中，例如在具有或不具有外源性ADAR多肽的情况下在细胞中评估/表征所提供的技术；另外地或替代性地，在一些实施例中，例如在动物(例如，非人灵长类动物和小鼠)中评估/表征所提供的技术。

[1011] 尤其是，本披露包括这样的见解：可在多种人系统(例如，细胞)中提供编辑的多种药剂(例如，寡核苷酸)及其组合物可能在不含或不表达人ADAR(例如，人ADAR1)的某些细胞(例如，小鼠细胞)和某些动物诸如啮齿类动物(例如，小鼠)中不会显示出编辑或显示出低得多的编辑水平。特别地，小鼠(一种常用的动物模型)对于评估用于在人中编辑的多种药剂(例如，寡核苷酸)可能具有有限的用途，因为在人细胞中有活性的多种药剂在未经工程化以包含或表达适当的ADAR1(例如，人ADAR1)多肽或其特征性部分的小鼠细胞和动物中不提供或提供非常低水平的活性。在一些实施例中，本披露提供了表达人ADAR1多肽或其特征性部分的工程化细胞和非人动物。在一些实施例中，这样的细胞和人可用于评估和表征所提供的技术。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p110多肽或其特征性部分。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150多肽或其特征性部分。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1p110肽。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150肽。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1的一个或多个或所有以下结构域：Z-DNA结合结构域、dsRNA结合结构域和脱氨酶结构域。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 Z-DNA结合结构域中的一者或两者；替代性地或另外地，在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 dsRNA结合结构域中的一者、两者或全部；替代性地或另外地，人ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人脱氨酶结构域。在一些实施例中，人ADAR1多肽或其特征性部分可与小鼠ADAR1多肽或其特征性部分一起表达，例如一个或多个人dsRNA结合结构域可经工程化以与小鼠脱氨酶结构域一起表达以形成人-小鼠杂合ADAR1多肽。在一些

实施例中,细胞和/或非人动物被工程化以包含和/或表达编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和/或非人动物的基因组被工程化以包含编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和/或非人动物的种系基因组被工程化以包含编码如本文所述的人ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞和非人动物被工程化以在其基因组(在一些实施例中,种系基因组)中包含各自独立地与病症、障碍或疾病相关联的一个或多个G至A突变(例如,突变(例如,SERPINA1基因中导致A1AT蛋白的氨基酸位置342(E342K)处的谷氨酸至赖氨酸取代的突变(例如,c.1024G>A))。如本文所展示,尤其是,这样的细胞和动物可用于评估/表征所提供的技术,例如评估/表征多种寡核苷酸及其组合物的编辑特性和/或活性,包括评估其对抗一种或多种病症、障碍或疾病的用途。在一些实施例中,细胞是啮齿类动物细胞。在一些实施例中,细胞是小鼠细胞。在一些实施例中,动物是啮齿类动物。在一些实施例中,动物是小鼠。

[1012] 尤其是,本披露提供了包含糖修饰、碱基修饰、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学和/或其模式的寡核苷酸设计,与碱基序列相似或相同但作为参考设计的可比较的寡核苷酸相比,该寡核苷酸设计可以大大改善寡核苷酸的一种或多种特性和/或活性。例如,据观察,各种提供的设计的寡核苷酸及其组合物可以在不表达人ADAR蛋白的小鼠(例如,仅表达小鼠ADAR蛋白的小鼠)中提供高水平的编辑,在一些实施例中相当于或不低于与经工程化以表达人ADAR蛋白的小鼠的编辑水平,而参考设计的可比较的寡核苷酸及其组合物在不表达人ADAR蛋白的小鼠(例如,仅表达小鼠ADAR蛋白的小鼠)中提供低水平的编辑,在一些实施例中显著低于经工程化以表达人ADAR蛋白的小鼠的编辑水平。在一些实施例中,参考设计是WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301A1、WO 2019/158475、WO 2019/219581、WO 2020/157008、WO 2020/165077、WO 2020/201406或WO 2020/252376中报道的设计。在一些实施例中,参考设计是WO 2021/071858中的设计。

[1013] 在一些实施例中,本披露提供了用于评估/表征细胞和/或非人动物的技术,包括被工程化以包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的那些细胞和/或非人动物,该ADAR1多肽或其特征性部分和/或多核苷酸在工程化之前不在这些细胞和/或非人动物中和/或不在这些细胞和/或非人动物中表达。在一些实施例中,所提供的方法包括向细胞或其群体施用一种或多种寡核苷酸或组合物,该一种或多种寡核苷酸或组合物可以各自独立地编辑可比较的人细胞或其群体中的腺苷。在一些实施例中,所提供的方法包括向动物或其群体施用一种或多种寡核苷酸或组合物,该一种或多种寡核苷酸或组合物可以各自独立地编辑人细胞或其群体中的腺苷。在一些实施例中,将待评估/表征的细胞中或来自动物的细胞中的编辑水平与在可比较的人细胞中观察到的编辑水平进行比较。在一些实施例中,可比较的人细胞与待评估/表征的细胞或来自动物的细胞具有相同的类型。在一些实施例中,细胞是啮齿类动物细胞。在一些实施例中,细胞是小鼠细胞。在一些实施例中,动物是啮齿类动物。在一些实施例中,动物是小鼠。在一些实施例中,将一种或多种寡核苷酸或组合物单独施用于单独的细胞和/或动物。在一些实施例中,一种或多种寡核苷酸或组合物可以任选地同时施用于细胞和/或动物的同一集合。可编辑多种靶腺苷的多种寡核苷酸和组合物如本文所述并可相应地使用。

[1014] 如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,所提供的技术,例如,寡核苷酸、组

合物等,可以在一个或多个模型(例如,细胞、组织、器官、动物等)中进行评估。在一些实施例中,如本领域技术人员所理解的,细胞、组织、器官、动物等是或包含具有病症、障碍或疾病的一种或多种特征(例如,核苷酸序列,诸如突变)的细胞、与所述一种或多种特征相关的细胞或包含所述一种或多种特征的细胞。例如,在一些实施例中,细胞、组织、器官、动物等包含与病症、障碍或疾病相关的G至A突变,例如人SERPINA1中的1024G>A(E342K)。在一些实施例中,动物是NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K)#Slcw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植和基因组编辑的肝细胞治疗 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优势]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015).Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors.[用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝]Mol Ther[分子疗法]23(12):1867-76PubMed:26403887MGI:J:230567)。在一些实施例中,细胞、组织、器官、动物等包含一种或多种癌细胞。在一些实施例中,非人细胞、组织、器官、动物等被工程化为包含或表达ADAR1或其特征部分,例如,通过掺入多核苷酸(任选地到其基因组或种系基因组中),该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征部分。在一些实施例中,ADAR1是灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,ADAR1是人ADAR1。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p110。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p150。如本领域技术人员所理解的,本领域有各种技术可用,并且可以根据本披露利用这些技术来生成有用的细胞、组织、器官、动物等。例如,对于表达人ADAR1或其特征部分的病症、障碍或疾病动物模型动物,可以将动物模型与本文所述的huADAR1小鼠杂交,以提供表达人ADAR1或其特征部分的工程化动物模型。在一些实施例中,包含G至A突变的小鼠,例如NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K)#Slcw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植和基因组编辑的肝细胞治疗 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优势]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015)与本文所述的huADAR1小鼠杂交以提供包含G至A突变(例如,人SERPINA1中的024G>A(E342K))并表达人ADAR1或其特征性部分的小鼠。

[1015] 如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,动物在一个或多个或所有序列方面可以是杂合的。在一些实施例中,动物在一个或多个或所有序列方面是纯合的。在一些实施例中,动物在一个或多个或所有工程化的序列方面是半合的。在一些实施例中,动物在一个或多个序列方面是纯合的,并且在一个或多个序列方面是杂合的。在一些实施例中,动物

就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,动物就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是杂合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是纯合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是杂合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是杂合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。在一些实施例中,某些动物就与各种病症、障碍或疾病相关的一个或多个多核苷酸序列而言是纯合的,并且就其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸而言是纯合的。细胞或组织就各个序列方面而言是类似的杂合、半合和/或纯合的。

[1016] 在一些实施例中,本披露提供了用于评估药剂(例如寡核苷酸)或其组合物的方法,这些方法包括向动物、细胞或组织施用本文所述的药剂或组合物。在一些实施例中,评估药剂或组合物用于预防或治疗病症、障碍或疾病。在一些实施例中,动物、细胞、组织,例如,如本文各种实施例中所述,是动物模型或细胞或组织,用于各种病症、障碍或疾病(例如,包含与各种病症、障碍或疾病相关的突变,和/或与各种病症、障碍或疾病相关的细胞、组织、器官等或各种病症、障碍或疾病的细胞、组织、器官等),它们被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,可以通过将(例如,IVF、自然繁育等)作为各种病症、障碍或疾病的模型动物但未被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物与经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物交配繁育来提供动物。在一些实施例中,可以通过将其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸引入细胞或组织中来提供细胞或组织。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向受试者施用有效量的药剂或其组合物,其中在本文提供的动物中评估药剂或组合物(例如,经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分的动物,经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物,针对病症、障碍或疾病的经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分的模型动物,针对病症、障碍或疾病的经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的模型动物)。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向受试者施用有效量的药剂或其组合物,其中在本文提供的细胞或组织中评估药剂或组合物。在一些实施例中,动物、细胞或组织包含SERPINA1突变(例如,1024G>A(E342K))并且被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,动物是非人动物。在一些实施例中,细胞是非人动物细胞。在一些实施例中,组织是非人动物组织。在一些实施例中,非人动物是啮齿类动物。在一些实施例中,非人动物是小鼠。在一些实施例中,非人动物是大鼠。在一些实施例中,非人动物是非人灵长类动物。

[1017] 在一些实施例中,本披露提供的方法包括:1)评估药剂或其组合物,包括使该药剂或其组合物与所提供的与病症、障碍或疾病相关的细胞或组织或与病症、障碍或疾病的细胞或组织接触,和2)向患有或易患病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的药剂或其组合物。在一些实施例中,本披露提供的方法包括:1)评估药剂或其组合物,包括将该药剂或其

组合物施用于所提供的动物,该动物是病症、障碍或疾病的动物模型,和2)向患有或易患病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的药剂或其组合物。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,细胞、组织或动物经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物还包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如,突变)。在一些实施例中,动物是啮齿类动物,例如小鼠、大鼠等。在一些实施例中,细胞或组织是啮齿类动物,例如小鼠、大鼠等。在一些实施例中,细胞是种系细胞。在一些实施例中,细胞群、组织或动物的一部分而不是所有细胞,例如特定细胞类型或组织或位置的细胞,包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如突变),并且这部分的细胞经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分或经工程化为包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,肝细胞的集合包含SERPINA1突变,例如1024G>A(E342K)和其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。本领域的技术人员理解,各种技术可用于在各种细胞、组织或器官中任选地受控引入和/或表达核苷酸序列,并且可根据本披露内容加以利用。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物在基因组中,在一些实施例中在种系基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,如本文所述,细胞、组织或动物在基因组中,在一些实施例中在种系基因组中包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列(例如,突变)。

[1018] 如本文所述,在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1p110或其特征性部分。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p110。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p150或其特征性部分。在一些实施例中,多核苷酸编码人ADAR1 p150。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p110多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1p110多肽的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,细胞、组织或动物(例如,huADAR小鼠或来自其的细胞或组织)经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽的多核苷酸。如本文所述,在一些实施例中,动物是啮齿类动物,例如小鼠或大鼠。

[1019] 在一些实施例中,ADAR(例如,人ADAR1)转基因建立在受精卵上,例如,包含突变(例如,人SERPINA1中的1024G>A(E342K))的SERPINA1小鼠受精卵,反之亦然。在一些实施例中,受精卵是纯合的。在一些实施例中,受精卵是杂合的。

#### 用途和应用

[1020] 如本领域技术人员所理解的,寡核苷酸可用于多种目的。在一些实施例中,所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物、方法等)可用于调节多种核酸(例如,RNA)和/或由其编码的产物(例如,蛋白)的水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可以降低不期望的靶核酸(例如,包含不期望的腺苷)和/或其产物的水平和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可以增加所需的靶核酸(例如,在一个或多个位置处包含I而不是不期望的腺苷)和/或其产物的水平和/或活性。

[1021] 例如,在一些实施例中,所提供的技术可以用作用于靶RNA序列中靶腺苷的定点编

辑的单链寡核苷酸。在一些实施例中,所提供的技术能够调节表达和活性的水平。尤其是,本披露通过所提供的技术提供了改进,该改进可以是改进多种所需的生物功能,包括但不限于治疗和/或预防多种病症、障碍或疾病(例如,与G至A突变相关联的那些)。

[1022] 在一些实施例中,所提供的技术可以调节靶基因的活性和/或功能。在一些实施例中,靶基因是意图改变一种或多种基因产物(例如,RNA和/或蛋白产物)的表达和/或活性的基因。在许多实施例中,靶基因具有待改变的靶腺苷残基,并且可以受益于这样的残基向肌苷残基的转化。在一些实施例中,当如本文所述的寡核苷酸作用于特定靶基因时,与不存在寡核苷酸时相比,当存在寡核苷酸时,该基因的一种或多种基因产物的水平和/或活性可以改变。

[1023] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物可用于通过以下方式来治疗多种病症、障碍或疾病:降低与病症、障碍或疾病相关联的靶转录物和/或由其编码的产物的水平和/或活性,并且任选地提供与病症、障碍或疾病较少相关或不相关的转录物和/或由其编码的产物(例如,通过将靶腺苷转化成肌苷以校正G至A突变、改变剪接等)。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的所提供的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用所提供的单链寡核苷酸或其组合物,以用于对靶RNA序列中的核苷酸(例如,靶腺苷)进行定点编辑。在一些实施例中,所提供的用于定点编辑靶RNA序列中的核苷酸的单链寡核苷酸具有与转录物的一部分部分地或完全地互补的碱基序列,该转录物与病症、障碍或疾病相关。在一些实施例中,碱基序列使得其优先结合与病症、障碍或疾病有关的转录物,而不是与所述病症、障碍或疾病无关的其他转录物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与G至A突变相关。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与SERPINA1中的G至A突变相关。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变相关。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,所提供的技术以绝对量(例如,血清中的ng/mL)和/或相对量(例如,占总蛋白质或总A1AT蛋白质的百分比)提高所需产物(例如,血清中正确折叠的野生型A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性和/或降低不需要的产物(例如,血清中的突变体(例如,E342K)A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性。在一些实施例中,本披露提供了用于提高受试者血清或血液中 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平或活性的方法,该方法包括向受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,与参考A1AT多肽相比,A1AT多肽提供一种或多种更高的活性。在一些实施例中,A1AT多肽是野生型A1AT多肽。在一些实施例中,方法增加血清中A1AT多肽的量。在一些实施例中,方法降低了血清中参考A1AT多肽的量。在一些实施例中,方法增加了血清或血液中A1AT多肽相对于参考A1AT多肽的比率。在一些实施例中,参考A1AT多肽发生突变。在一些实施例中,参考A1AT多肽未正确折叠。在一些实施例中,参考A1AT多肽是E342K A1AT多肽。在一些实施例中,本披露提供了用于降低受试者血清或血液中突变体 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平或活性的方法,该方法包括向受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者易患或患有病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,受试者是人。在一些实施例中,受试者包含人SERPINA1中的突变。在一些实施例中,受试者包含人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。在

一些实施例中,受试者在突变方面是纯合的。在一些实施例中,受试者在突变方面是杂合的。

[1024] 在一些实施例中,病症、障碍或疾病与G至A突变无关。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与转录物和/或其编码产物的水平和/或活性提高相关,并且所提供的技术可以降低转录物和/或其编码产物的水平和/或活性,例如,通过将一个或多个A至I引入转录物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与转录物和/或其编码产物的水平和/或活性降低相关,并且所提供的技术可以提高转录物和/或其编码产物的水平和/或活性,例如,通过将一个或多个A至I引入转录物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病与剪接相关,并且所提供的技术通过将一个或多个A至I引入到转录物(例如,前体mRNA)来提供剪接调节。

[1025] 在一些实施例中,所提供的方法中的寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,治疗病症、障碍或疾病的方法可以包括施用包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物,该碱基序列与靶转录物中的靶序列互补。尤其是,本披露提供了一种改善,其包括作为寡核苷酸组合物施用如本披露所述的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的特征在于,当其在系统中与靶转录物接触时,转录物的腺苷编辑相对于在参考条件下观察到的腺苷编辑得到改善,该参考条件选自自由以下组成的组:不存在该组合物、存在参考组合物及其任何组合。在一些实施例中,参考组合物是相同序列或构成的寡核苷酸的外消旋制备物。在一些实施例中,靶转录物是寡核苷酸转录物。

[1026] 如本领域技术人员所理解的,尤其是,所提供的技术可用于涉及腺苷至肌苷转化和/或可受益于腺苷至肌苷转化的多种应用。

下面描述某些应用。

应用	应用	治疗方式		
		寡核苷酸介导的剪接	寡核苷酸/siRNA介导的沉默	RNA编辑
改变 mRNA 剪接	外显子跳跃/包含/恢复框架	✓		✓
沉默蛋白表达	降低毒性 mRNA/蛋白水平		✓	✓
修复无义突变(例如,不能进行剪接校正的突变)	恢复蛋白表达			✓

<b>修复错义突变 (例如, 不能进行剪接校正的突变)</b>	<b>恢复蛋白功能</b>			✓
<b>修饰氨基酸密码子</b>	<b>改变蛋白水平/功能</b>			✓
<b>移除上游 ORF</b>	<b>增加蛋白表达</b>			✓

[1027] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解,多种G至A突变,例如来自C至T突变(一种发生在人基因中的最常见的突变类型)的转录物中的那些突变,可以被校正并因此受益于所提供的技术。在一些实施例中,所提供的技术可用于靶向与多种极性或带电荷的氨基酸(例如,Ser、Tyr、Asp、Glu、His、Asn、Gln、Lys等)、终止密码子(乳白型、赭石型和琥珀型)、转录起始位点、剪接信号、微RNA识别位点、重复元件、微RNA(miRNA)、编码蛋白的转录物等相关联的突变。尤其是,所提供的技术可以引起不同的功能结果,例如改变的剪接、恢复/改善的蛋白表达和/或功能等。

[1028] 在一些实施例中,通过编辑,所提供的技术可以恢复蛋白功能(例如,修复不能进行剪接校正的无义和错义突变,移除终止突变,防止蛋白错误折叠和聚集等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如隐性或显性的遗传性疾病),修饰蛋白功能(例如,改变蛋白加工(例如,蛋白酶切割位点),蛋白-蛋白相互作用,调节信号传导途径等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如与离子通道渗透性相关的那些),蛋白上调(例如,miRNA靶点修饰,修饰上游ORF,修饰泛素化位点等,并且可以用于预防和/或治疗多种病症、障碍或疾病,诸如单倍剂量不足的疾病)。在一些实施例中,所提供的技术恢复或改善蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗隐性或显性遗传定义的病症、障碍或疾病,例如与G至A突变相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是肝病、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是代谢性肝病、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是神经发育病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术改变蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术降低蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术增加蛋白质的表达、水平、功能和/或活性。在一些实施例中,提供的技术调节离子通道渗透性。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗与离子通道渗透性相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是家族性癫痫。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是神经性疼痛。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是AATD。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是雷特综合征。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是隐性或显性遗传定义的疾病。在一些实施例中,提供的技术修饰核酸(例如,miRNA)靶位点。在一些实施例中,提供的技术修饰、降低上游ORF的功能或活性、移除或抑制上游ORF(例如,在一些实施例中,修饰(例如,uORF的ATG起始密码子的)A)。在一些实施例中,所提供的技术修饰蛋白质的修饰位点,例如泛素化位点。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗与单倍体不足相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗神经元病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗神经肌肉病症、障碍或

疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗痴呆。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗痴呆。在一些实施例中,所提供的技术可用于预防或治疗单倍体不足的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或其组合物。本领域技术人员理解,通过例如编辑RNA中的核碱基如A,可以编辑由此编码的蛋白质。在一些实施例中,氨基酸残基被另一个氨基酸残基替代。在一些实施例中,蛋白质被延长。在一些实施例中,蛋白质被缩短。在一些实施例中,表达、水平、功能、稳定性、特性和/或活性被调节。在一些实施例中,一些特性和/或活性被增强而其他特性和/或活性被降低或保持不变。在一些实施例中,一些特性和/或活性被降低,而其他特性和/或活性被增强或保持不变。

[1029] 在一些实施例中,所提供的技术编辑包含突变的核酸或密码子。在一些实施例中,突变是无义突变。在一些实施例中,突变是错义突变。在一些实施例中,突变是沉默突变。在一些实施例中,所提供的技术修复了无义突变。在一些实施例中,所提供的技术修复了错义突变。在一些实施例中,所提供的技术移除终止突变。在一些实施例中,所提供的技术防止或减少错误折叠和/或聚集。在一些实施例中,所提供的技术编辑包含突变的密码子。在一些实施例中,经编辑的核碱基是突变。在一些实施例中,经编辑的核碱基不是突变而是密码子中的另一个核碱基。在一些实施例中,在编辑密码子之后变成其对应的野生型密码子。在一些实施例中,在编辑密码子之后编码与野生型密码子相同的氨基酸。在一些实施例中,在编辑密码子之后编码与野生型密码子不同的氨基酸。在一些实施例中,包含这样的不同氨基酸残基的蛋白质具有其相应野生型蛋白质的一种或多种特性和/或执行其相应野生型蛋白质的一种或多种功能。在一些实施例中,包含这样的不同氨基酸残基的蛋白质与野生型蛋白质具有更多相似性,和/或与相应的突变的、未编辑的蛋白质相比提供更高水平的所需活性。在一些实施例中,无义或错义突变不能被剪接校正。在一些实施例中,所提供的技术产生沉默突变。在一些实施例中,沉默突变调节编码的蛋白质的水平。在一些实施例中,蛋白质水平增加。在一些实施例中,蛋白质水平降低。

[1030] 在一些实施例中,所提供的技术修饰蛋白质功能。在一些实施例中,所提供的技术改变核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,所提供的技术增加、促进或增强核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,所提供的技术提供例如核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的一种或多种新特性和/或活性。在一些实施例中,提供的技术降低、抑制或去除核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的一种或多种特性和/或功能。在一些实施例中,提供的技术改变蛋白质加工。例如,在一些实施例中,蛋白酶切割位点被编辑。在一些实施例中,所提供的技术编辑一个或多个参与蛋白质-蛋白质相互作用的残基。在一些实施例中,提供的技术编辑蛋白质-蛋白质相互作用结构域的氨基酸残基。在一些实施例中,通过编辑编码蛋白质的mRNA,可以编辑多肽的各个区(例如,蛋白酶切割位点、各种结构域(例如,蛋白质-蛋白质相互作用结构域)、修饰位点、miRNA靶向位点、泛素化位点等)的残基。在一些实施例中,所提供的技术调节信号传导通路。

[1031] 在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强功能蛋白的水平。在一些实施例中,所提供的技术降低突变或不需要的核酸(例如,RNA转录物)和蛋白质的水平和/或活性。

在一些实施例中,所提供的技术恢复或校正一种或多种多肽的表达。在一些实施例中,所提供的技术可以上调表达。在一些实施例中,所提供的技术可以上调翻译。在一些实施例中,所提供的技术可以上调多肽的活性水平。在一些实施例中,所提供的技术改变靶核酸(例如,RNA转录物)和/或由此编码的产物(例如,多肽)的功能。在一些实施例中,所提供的技术调节靶核酸(例如,RNA转录物)和/或由此编码的产物(例如,多肽)的翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术可以上调多肽的水平。在一些实施例中,所提供的技术编辑编码参与蛋白质-蛋白质相互作用或蛋白质与其他药剂相互作用的氨基酸残基的密码子,包括在一些实施例中,将氨基酸残基更改为不同的氨基酸残基以增强或减少相互作用。在一些实施例中,所提供的技术改变核酸和/或蛋白质的一种或多种功能。在一些实施例中,所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用。在一些实施例中,所提供的技术编辑编码转录物以移除、改变或掺入氨基酸残基以用于翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术调节翻译后修饰。在一些实施例中,所提供的技术调节核酸折叠。在一些实施例中,所提供的技术调节蛋白质折叠。在一些实施例中,所提供的技术调节转录物和/或其产物的稳定性。在一些实施例中,所提供的技术调节蛋白质稳定性。在一些实施例中,所提供的技术调节转录物和/或其产物的加工。在一些实施例中,所提供的技术调节核酸(例如,转录物)加工。在一些实施例中,所提供的技术改变蛋白质加工。在一些实施例中,所提供的技术调节翻译后加工。例如,在一些实施例中,所提供的技术调节PCSK9翻译后加工。尤其是,所提供的技术适用于具有大量患者群体的广泛治疗应用。

[1032] 例如,如本文所证明的,在一些实施例中,一个或多个蛋白质的一个或多个氨基酸残基可以通过编码mRNA的编辑来改变以调节蛋白质-蛋白质相互作用。用于编辑的合适的氨基酸残基包括各种报道的参与蛋白质-蛋白质相互作用的氨基酸残基,或者可以通过本领域可用的技术(例如,突变技术、结构生物学技术等)进行鉴定。在一些实施例中,本披露提供了用于通过编辑核酸(例如,转录物)和/或与其相互作用的蛋白质来调节核酸(例如,转录物)和/或蛋白质的水平、特性和/或活性的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于调节蛋白质(例如,转录因子)的水平和/或活性和/或由此调节的转录和/或表达的技术。在一些实施例中,所提供的技术包括编辑蛋白质(例如,转录因子)或与之相互作用的伴侣蛋白的氨基酸残基,其中蛋白质和伴侣蛋白之间的相互作用被减少或增强。在一些实施例中,所提供的技术包括编辑蛋白质(例如,转录因子)或与之相互作用的伴侣蛋白的氨基酸残基,其中蛋白质和伴侣蛋白之间的相互作用被减少。在一些实施例中,这样的编辑稳定蛋白质,从而增加其水平和/或活性(例如,某些核酸的转录激活)。在一些实施例中,本披露提供了用于对核酸表达进行调节(例如,激活、增加、减少、抑制等)的技术,该技术包括编辑转录物中的腺苷,该转录物编码调节核酸表达的蛋白质、或与调节核酸表达的蛋白质相互作用的蛋白质、或作为包含调节核酸表达的蛋白质的途径的成员的蛋白质,其中编辑对调节核酸表达的蛋白质的水平和/或活性进行调节。在一些实施例中,调节核酸的转录物水平和/或活性。在一些实施例中,调节由这样的转录物编码的蛋白质的水平和/或活性。尤其是,本披露证实许多涉及蛋白质-蛋白质相互作用的功能、活性、途径等可通过编辑一种或多种相互作用蛋白质的相互作用氨基酸残基来调节。例如,编辑NRF2(例如,Glu82(例如,至Gly)、Glu79(例如,至Gly)、Glu78(例如,至Gly)、Asp76(例如,至Gly)、Ile28(至Val)、Asp27(例如,至Gly)、Gln26(例如,至Arg)等)或Keap1(例如,Ser603(例如,至Gly)、Tyr572(例如,至

Cys)、Tyr525(例如,至Cys)、Ser508(例如,至Gly)、His436(例如,至Arg)、Asn382(例如,至Asp)、Arg380(例如,至Gly)、Tyr334(例如,至Cys)等)中的一个或多个氨基酸残基可以提高NRF2的水平 and/或活性,和/或受NRF2调节的各种核酸(例如,各种基因)的表达。在一些实施例中,本披露提供了一种用于调节(例如,减少)系统中NRF2-Keap1相互作用的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,本披露提供了一种用于提高系统中NRF2的水平 and/或活性的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,本披露提供了一种用于增加NRF2调节的核酸(例如,基因)的转录或表达的方法,该方法包括向包含NRF2或Keap1 mRNA的系统施用寡核苷酸或其组合物,其中寡核苷酸编辑mRNA中的腺苷,使得由mRNA编码的蛋白质中的氨基酸残基被编辑为不同的残基。在一些实施例中,来自NRF2调节的核酸的转录物的水平和/或活性增加,例如SRGN、HMOX1、SLC7a11、NQO1等基因和/或由此编码的产物(例如蛋白质)。在一些实施例中,系统包含NRF2和Keap1 mRNA,并且NRF2和Keap1蛋白是从这样的mRNA翻译而来的。在一些实施例中,NRF2和/或Keap1 mRNA的靶腺苷被编辑使得氨基酸残基在翻译后被不同的氨基酸残基替代。在一些实施例中,施用的寡核苷酸或其组合物靶向NRF2 mRNA。在一些实施例中,施用的寡核苷酸或其组合物靶向Keap1 mRNA。在一些实施例中,NRF2中的氨基酸残基(例如,Glu82(例如,至Gly)、Glu79(例如,至Gly)、Glu78(例如,至Gly)、Asp76(例如,至Gly)、Ile28(例如,至Val)、Asp27(例如,至Gly)、Gln26(例如,至Arg)等)被编辑。在一些实施例中,Keap1中的氨基酸残基(例如,Ser603(例如,至Gly)、Tyr572(例如,至Cys)、Tyr525(例如,至Cys)、Ser508(例如,至Gly)、His436(例如,至Arg)、Asn382(例如,至Asp)、Arg380(例如,至Gly)、Tyr334(例如,至Cys)等)被编辑。在一些实施例中,两个或更多个氨基酸残基被编辑。在一些实施例中,每个经编辑的氨基酸残基独立地是NRF2残基。在一些实施例中,每个经编辑的氨基酸残基独立地是Keap1残基。在一些实施例中,经编辑的氨基酸残基是Keap1残基,且经编辑的氨基酸残基是NRF2残基。在一些实施例中,系统是或包含细胞。在一些实施例中,系统是或包含组织。在一些实施例中,系统是或包含器官。在一些实施例中,系统是器官。在一些实施例中,系统是体外系统。某些NRF2靶向性和Keap1靶向性寡核苷酸和/或寡核苷酸组合物作为示例呈现在一个或多个表中。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与NRF2相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与Keap1相关的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的技术可用于治疗与NRF2-Keap1相互作用相关的病症、障碍或疾病。

[1033] 在一些实施例中,所提供的技术调节酶活性。在一些实施例中,所提供的技术增加酶活性,例如,通过将密码子编辑成编码可增加酶活性的氨基酸残基的密码子。在一些实施例中,所提供的技术通过将密码子编辑为编码可降低酶活性的氨基酸残基的密码子来降低酶活性,例如与病症、障碍或疾病相关的酶活性。各种酶促活性,在许多情况下连同涉及这样的活性的氨基酸残基,被报道或可以被鉴定和表征,并且可以根据本披露被调节。在一些实施例中,活性是激酶活性。

[1034] 在一些实施例中,蛋白质的编辑(例如,通过编辑其编码mRNA以改变一个或多个氨基酸残基)减少蛋白质或与其相互作用的蛋白质的降解。在一些实施例中,蛋白质的编辑上

调其水平。在一些实施例中，蛋白质的编辑调节蛋白质加工。在一些实施例中，蛋白质的编辑调节其折叠。在一些实施例中，蛋白质的编辑调节其稳定性。在一些实施例中，蛋白质的编辑调节蛋白质修饰（例如，增加、减少、去除或引入修饰位点等）。在一些实施例中，蛋白质的编辑调节翻译后修饰（例如，增加、减少、去除或引入修饰位点等）。在一些实施例中，所提供的技术可用于治疗相关病症、障碍或疾病，诸如痴呆症、家族性癫痫、神经性疼痛、神经肌肉病症、痴呆症、单倍体不足疾病、功能丧失病症、障碍或疾病等。

[1035] 本披露的技术可以在各种类型的细胞、组织、器官和/或生物体中提供有效的编辑。在一些实施例中，所提供的技术可以在各种免疫细胞中提供有效的编辑。如本文所证明的，所提供的技术可以在人外周血单核细胞 (PBMC) 中提供高水平的编辑。尤其是，所提供的技术可以在各种细胞群中提供高水平的编辑，例如CD4+T细胞、CD8+T细胞、CD14单核细胞、CD19 B细胞、NK细胞、Tregs T细胞等。在一些实施例中，在接触寡核苷酸之前免疫细胞被激活（例如，通过PHA）。在一些实施例中，细胞是未激活的。在一些实施例中，在激活和未激活的细胞中观察到相似水平的编辑。在一些实施例中，在激活的细胞中观察到更高水平的编辑。在一些实施例中，在编辑细胞之后，例如，PBMC，可以被分选成各种细胞类型。在一些实施例中，可以在与寡核苷酸接触之前首先分选细胞。如本领域技术人员所理解的，免疫细胞具有许多功能并且可以用于许多目的，包括用于治疗各种病症、障碍或疾病。在一些实施例中，免疫细胞用于免疫疗法，例如，用于各种类型的癌症。尤其是，本披露提供了用于编辑在免疫细胞中表达的一种或多种转录物以改善其用于免疫疗法的特性和/或活性的技术。在一些实施例中，所提供的技术可以降低免疫细胞中一种或多种基因（例如，FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC、TRBC等）的表达和/或活性。在一些实施例中，来自这样的基因的转录物被编辑。在一些实施例中，靶细胞是T细胞，例如CD8+T细胞（例如，CD8+原初T细胞、中央记忆T细胞或效应记忆T细胞）、CD4+T细胞、自然杀伤T细胞（NK T细胞）、调节性T细胞（Treg）、干细胞记忆T细胞、淋巴祖细胞、造血干细胞、自然杀伤细胞（NK细胞）或树突细胞。在一些实施例中，细胞是CD4+细胞，例如CD4+T细胞。在一些实施例中，细胞是CD8+细胞，例如CD8+T细胞。在一些实施例中，细胞是CD14+细胞，例如CD14+单核细胞。在一些实施例中，细胞是CD19+细胞，例如CD19+B细胞。在一些实施例中，细胞是NC细胞。在一些实施例中，细胞是T调节性细胞。在一些实施例中，靶细胞是诱导性多能干（iPS）细胞或衍生自iPS细胞的细胞，例如，从受试者生成的iPS细胞，其被操纵以改变一个或多个基因（例如，FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC或TRBC基因）的表达（例如，诱导其中的突变），并分化成例如T细胞，例如CD8+T细胞（例如CD8+原初T细胞、中心记忆T细胞或效应记忆T细胞）、CD4+T细胞、干细胞记忆T细胞、淋巴祖细胞或造血干细胞。

[1036] 其中，所提供的技术可用于增加、增强、改善或上调各种多肽（包括各种蛋白质）的水平、特性、活性等。在一些实施例中，所提供的技术修饰结合或靶位点，例如，miRNA靶位点。在一些实施例中，所提供的技术修饰转录物中的调节元件。在一些实施例中，所提供的技术修饰上游ORF（例如，ATG中的A）。在一些实施例中，所提供的技术修饰可被修饰的氨基酸残基，例如泛素化位点。本领域技术人员理解所提供的技术也可用于通过修饰RNA来降低或下调包括各种蛋白质在内的各种多肽的水平、特性、活性等。

[1037] 在一些实施例中，编辑位点，例如靶腺苷，在编码区中。在一些实施例中，它在非编码区中。在一些实施例中，靶核酸是非编码RNA。

[1038] 某些申请在例如WO 2016/097212、WO 2017/220751、WO 2018/041973、WO 2018/134301A1、WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637或WO 2020/252376中描述。

[1039] 许多与各种病症、障碍或疾病相关的腺苷被报道或可以被鉴定,并且可以使用所提供的技术被靶向,例如,用于预防或治疗相关病症、障碍或疾病。例如,据报道,已在以下各项中鉴定出与各种病症、障碍或疾病有关的各种腺苷:SNCA(例如,帕金森病)、APP(例如,阿尔茨海默病)、Tau(例如,阿尔茨海默病)、Nav1.7(例如,慢性疼痛)、C9orf72(例如,肌萎缩侧索硬化)、SOD1(例如,肌萎缩侧索硬化)、DYRK1A(例如,唐氏综合征)、IT15(例如,亨廷顿氏病)、HEXA(例如,泰-萨克斯病(Tay-Sachs Disease)、RAI1(例如,波托茨基-拉普斯基综合征(Protocki-Lupski Syndrome))、ABCA4(例如,斯特格病(Stargardt Disease))、USH2A(例如,Usher综合征)、NRP1(例如,湿性AMD、干性AMD等)、PCSK9(例如,心血管病症、障碍或疾病)、LIPA(例如,胆固醇酯贮积病)、HFE(例如,血色病)、ALAS1(例如,卟啉症/急性肝卟啉症)、ATP7B(威尔逊病(Wilson Disease))、COL4A5(例如,阿尔波特综合征(Alport Syndrome))、LDHA(例如,原发性高草酸尿症)、HAO1(例如,原发性高草酸尿症2型)、DUX4(例如,面肩肱型肌营养不良症)、DMPK(例如,强直性肌营养不良症)、BCL11A(例如,镰状细胞病)、Mex3B(例如,哮喘)、CIDEA(例如,肥胖症)、SCD1(例如,肥胖症)、GNB3(例如,肥胖症)、FGFR3(例如,软骨发育不全)、CLCN7(例如,骨硬化症)、PMP22(例如,夏科-马里-图思病(Charcot-Marie-Tooth Disease))、ENAC(例如,囊性纤维化)、GHR(例如,肢端肥大症)、TTR(例如,转甲状腺素蛋白淀粉样变性(家族性))等。在一些实施例中,本披露提供了靶向这样的腺苷的寡核苷酸和组合物,以及用于预防或治疗这样的病症、障碍或疾病的方法。

[1040] 在一些实施例中,可以治疗的病症、障碍或疾病包括,例如, $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症、阿尔茨海默病、淀粉样蛋白病、贝克尔肌营养不良症(Becker muscular dystrophy)、乳腺癌易感性突变、卡纳文病(Canavan disease)、夏科-马里-图思病、囊性纤维化、莱顿第五因子缺乏症(Factor V Leiden deficiency)、1型糖尿病、2型糖尿病、杜氏肌营养不良症(Duchenne muscular dystrophy)、法布里病(Fabry disease)、I型遗传性酪氨酸血症(HTI)、家族性腺瘤性息肉病、家族性淀粉样变性心肌病、家族性淀粉样多发性神经病、家族性自主神经功能障碍、家族性高胆固醇血症、弗里德赖希共济失调(Friedreich's ataxia)、I型戈谢病(Gaucher disease)、II型戈谢病、II型糖原贮积症、GM2神经节苷脂沉积症、血色病、血友病A、血友病B、血友病C、氨基己糖酶A缺乏症、卵巢癌易感性突变、肥胖症、苯丙酮尿症、多囊肾病、朊病毒病、老年性系统性淀粉样变性、镰状细胞病、史-李-欧综合征(Smith-Lemli-Opitz syndrome)、脊髓性肌萎缩症、威尔逊病、帕金森病和遗传性失明。在一些实施例中,疾病/靶标包括:囊性纤维化跨膜传导调节基因(CFTR);白化病、肌萎缩性侧索硬化、哮喘、 $\beta$ -地中海贫血症、Cadasil综合征、慢性阻塞性肺病(COPD)、远端脊髓性肌肉萎缩症(DSMA)、杜兴/贝克尔肌肉萎缩症(Duchenne/Becker muscular dystrophy)、营养不良型大疱性表皮松解症、大疱性表皮松解症、抗肌萎缩蛋白基因(DMD);淀粉样 $\beta$ (A $\beta$ )前体蛋白基因(APP);莱顿第五因子相关障碍、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、血友病、遗传性血色病、亨特氏综合征(Hunter Syndrome)、亨廷顿氏病、贺勒氏综合征(Hurler Syndrome)、炎症性肠病(IBD)、遗传性多聚凝集综合征、莱伯氏先天性黑蒙症(Leber congenital amaurosis)、莱施-尼汉综合征(Lesch-Nyhan syndrome)、林奇综合征(Lynch syndrome)、马凡综合征(Marfan

syndrome)、粘多糖贮积症、I型和II型强直性肌营养不良症、神经纤维瘤病、A型、B型和C型尼曼-匹克病(Niemann-Pick disease)、NY-eso1相关癌症、雷特综合征(Rett syndrome)、NY-ESO-1相关癌症、11-地中海贫血症、半乳糖血症、戈谢病、因子XII基因;因子IX基因;因子XI基因;HgbS;胰岛素受体基因;腺苷脱氨酶基因; $\alpha$ -1抗胰蛋白酶基因;乳腺癌1基因(BRCA1);乳腺癌2基因(BRCA2);天冬氨酸环化酶基因(ASPA);半乳糖苷酶 $\alpha$ 基因(GLA);腺瘤性结肠息肉病基因(APC);B细胞中 $\kappa$ 轻多肽基因增强子抑制剂,激酶复合物相关蛋白(IKKBAP);葡糖苷酶 $\beta$ 酸基因(GBA);葡糖苷酶 $\alpha$ 酸基因(GAA);血色沉着病基因(HFE);载脂蛋白B基因(APOB);低密度脂蛋白受体基因(LDLR)、低密度脂蛋白受体衔接蛋白1基因(LDLRAP1);前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/科信9型基因(PCSK9);多囊肾病1(常染色体显性遗传)基因(PKD-1);朊蛋白基因(PRNP);PTP-1B;7-脱氢胆固醇还原酶基因(DHCR7);运动神经元存活1,端粒基因(SMN1);泛素样修饰激活酶1基因(UBA1);动力蛋白、细胞质1、重链1基因(DYNC1H1)、运动神经元存活2、着丝粒基因(SMN2);(囊泡相关膜蛋白)-相关蛋白B和C(VAPB);氨基己糖苷酶A( $\alpha$ 多肽)基因(HEXA);甲状腺素转运蛋白基因(TTR);ATP酶、 $\text{Cu}^{++}$ 转运、 $\beta$ 多肽基因(ATP7B);苯丙氨酸羟化酶基因(PAH);视紫红质基因;色素性视网膜炎1(常染色体显性遗传)基因(RP1);视网膜色素变性2(X连锁隐性)基因(RP2)、Sturge-Weber综合征、帕金森病、Peutz-Jeghers综合征、庞贝病(Pompe's disease)、原发性纤毛病、凝血酶原突变相关障碍(如凝血酶原G20210A突变)、肺动脉高压、Sandhoff病、严重联合免疫缺陷综合征(SCID)、斯特格氏病(Stargardt's Disease)、泰-萨氏病(Tay-Sachs disease)、乌谢尔综合征(Usher syndrome)、X连锁免疫缺陷、各种癌症形式(例如BRCA1和2连锁乳腺癌和卵巢癌)等和其他已知的基因靶标。其他疾病包括那些点突变或小缺失或插入或可通过点改变或小缺失或插入校正的疾病,列于[http://www.omim.org/Online Mendelian Inheritance](http://www.omim.org/Online_Mendelian_Inheritance), **Man**<sup>®</sup> An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders Updated[人基因和遗传疾病在线目录更新],例如,2021年9月24日。

[1041] 在一些实施例中,本披露提供了靶向IDUA的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与IDUA相关的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于IDUA中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是赫勒综合征(Hurler syndrome)。在一些实施例中,本披露提供了靶向PINK1的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与PINK1相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于PINK1中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是帕金森病。在一些实施例中,本披露提供了靶向因子V Leiden的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与因子V Leiden相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于因子V Leiden中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是因子V Leiden缺乏症。在一些实施例中,本披露提供了靶向CFTR的技术。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与CFTR相关的病症、障碍或疾病的方法,这些方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,受试者受益于CFTR中的G至A编辑。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是囊性纤维化。

[1042] 据报道,存在超过32,000个致病性人SNP,其中近一半是G至A突变,其可以通过所提供的技术进行校正。事实上,据报道有数以万计的疾病与G至A突变相关,并且可以通过所提供的技术进行预防或治疗。尤其是,所提供的技术可用于预防或治疗与过早终止密码子相关的许多病症、障碍或疾病;据报道,约12%的所有报告的致病突变是导致过早终止密码子的单点突变。在一些实施例中,所提供的技术校正过早终止密码子。参见,例如,ClinVar数据库;Gaudelli NM等人,Nature.[自然]2017Nov 23;551(7681):464-471;Keeling KM等人,Madame Curie Bioscience Database[居里夫人生物科学数据库]2000-2013;等等。

[1043] 在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,靶核酸中的靶腺苷被修饰。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸的水平降低。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在寡核苷酸或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸或其产物的剪接被改变。在一些实施例中,当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,靶核酸的产物的水平被改变。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷被修饰。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷被肌苷代替。在一些实施例中,产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与靶核酸相同但靶腺苷的腺嘌呤被鸟嘌呤代替。在一些实施例中,产物是蛋白。在一些实施例中,靶腺苷是来自鸟嘌呤的突变。在一些实施例中,靶腺苷与相同位置的鸟嘌呤相比与病症、障碍或疾病更相关。在一些实施例中,寡核苷酸能够与靶核酸形成双链复合物。在一些实施例中,靶核酸或其部分是或包含RNA。在一些实施例中,靶腺苷是RNA的靶腺苷。在一些实施例中,靶腺苷被修饰,并且该修饰是或包括靶腺苷的脱氨。在一些实施例中,靶腺苷被修饰并且该修饰是或包括靶腺苷向肌苷的转化。在一些实施例中,修饰由ADAR蛋白促进。在一些实施例中,系统是含有ADAR蛋白的体外或离体系统。在一些实施例中,系统是或包括含有或表达ADAR蛋白的细胞。在一些实施例中,系统是包含含有或表达ADAR蛋白的细胞的受试者。在一些实施例中,ADAR蛋白是ADAR1。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p110同种型。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p150同种型。在一些实施例中,ADAR1蛋白是或包含p110和p150同种型。在一些实施例中,ADAR蛋白是ADAR2。如本文所展示,本披露尤其提供了用于将酶募集到靶点(例如,包含靶A的那些靶点)的技术,这些技术包括使这样的靶点与所提供的寡核苷酸或其组合物接触,或向包含或表达包含这样的靶点的多核苷酸(例如,RNA)的系统施用所提供的寡核苷酸或其组合物。在一些实施例中,酶是RNA编辑酶,诸如如本文所述的ADAR1、ADAR2等。

[1044] 在一些实施例中,包含多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物提供比用可比较的参考寡核苷酸组合物观察到的更高水平,例如靶腺苷以更高水平被修饰。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物不含该多个寡核苷酸或包含更低水平的该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。在一些实施例中,参考组合物不含与该多个寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸。在一些实施例中,参考组合物不含与该多个寡核苷酸具有相同结构的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的2'-F修饰。在一些实施例中,

参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的2'-OMe修饰。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比具有不同的糖修饰模式。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的经修饰的核苷酸间键联。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是这样的组合物,其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的硫代磷酸酯核苷酸间键联。在一些实施例中,组合物是立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考组合物是与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。

[1045] 在一些实施例中,本披露提供了用于修饰靶核酸中的靶腺苷的技术,这些技术包括使靶核酸与如本文所述的所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于使靶核酸中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括使靶核酸与如本文所述的寡核苷酸或组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于产生特定核酸的产物、或者恢复或增加特定核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与所提供的寡核苷酸或组合物接触,其中靶核酸包含靶腺苷,并且该特定核酸与靶核酸的不同之处在于该特定核酸具有I或G而不是靶腺苷。在一些实施例中,本披露提供了用于降低靶核酸的产物的水平的方法,该方法包括使靶核酸与本披露的寡核苷酸或组合物接触,其中靶核酸包含靶腺苷。在一些实施例中,产物是蛋白。在一些实施例中,产物是mRNA。

[1046] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

使寡核苷酸或组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触,其中:

寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列基本上互补;以及

靶核酸包含靶腺苷;

其中靶腺苷被修饰。

[1047] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;以及

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1048] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联。

[1049] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控的手性核苷酸间键联;以及

与该参考寡核苷复合肥物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1050] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控的手性核苷酸间键联。

[1051] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含

靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键联;以及

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”);以及

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

[1052] 在一些实施例中,本披露提供了方法,该方法包括:

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键联;以及

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”)。

[1053] 在一些实施例中,第一寡核苷酸组合物是如本文所述的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,第一寡核苷酸组合物是手性受控的寡核苷酸组合物。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR酶。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR1。在一些实施例中,脱氨酶是ADAR2。在一些实施例中,样品是或包含细胞。在一些实施例中,与不同于靶核酸的核酸相比,靶核酸与病症、障碍或疾病,或所需的特性或功能的减弱,或不期望的特性或功能的增强更相关,该不同在于其在靶腺苷的位置具有I或G而不是该靶腺苷。在一些实施例中,靶腺苷是G至A突变。

[1054] 尤其是,本披露的寡核苷酸设计,例如核碱基、糖、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学的控制和/或其模式,可应用于改进现有技术。在一些实施例中,本披露通过向现有技术中的寡核苷酸引入本披露的一个或多个结构特征,例如核碱基、糖、核苷酸间键联修饰、键联磷立体化学的控制和/或其模式,提供了对现有技术的改进。在一些实施例中,改进是或包括来自键联磷立体化学控制的改进。

[1055] 在一些实施例中,本披露提供了用于改进通过多肽(例如,ADAR1、ADAR2等)进行腺苷编辑的技术,该技术包括将如本文所述的设计(例如,一个或多个修饰和/或其模式)掺入寡核苷酸中。在一些实施例中,设计是或包含如本文所述的经修饰的碱基,例如,在与靶腺

苷相对的位置和/或一个或两个其相邻位置。在一些实施例中,设计是或包含一个或多个糖修饰和/或其模式、一个或多个碱基修饰和/或其模式、一个或多个经修饰的核苷酸间键联和/或其模式、和/或一个或更多个位置处的受控的立体化学和/或其模式。在一些实施例中,所提供的技术比ADAR2更能改进通过ADAR1进行的编辑。在一些实施例中,所提供的技术比ADAR1更能改进通过ADAR2进行的编辑。在一些实施例中,所提供的技术比p150更能改进通过ADAR1 p110进行的编辑(例如,在一些实施例中,在一个或多个位置处(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联的)Rp)。在一些实施例中,所提供的技术比p110更能改进通过ADAR1 p150进行的编辑。

[1056] 在一些实施例中,所提供的技术包括提高腺苷编辑多肽的水平,例如,ADAR1 (p110或p150)或ADAR2,或其一部分。在一些实施例中,增加是通过外源性多肽的表达。

[1057] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸或寡核苷酸组合物不引起核酸的显著降解(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。在一些实施例中,组合物不引起靶核酸中显著的不期望的外显子跳跃或改变的外显子包含(例如,不超过约5%-100%(例如,不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

[1058] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的腺苷编辑(例如,转化成肌苷)。在一些实施例中,靶腺苷编辑的百分比为约10%-100%,例如至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,它是至少10%。在一些实施例中,它是至少15%。在一些实施例中,它是至少20%。在一些实施例中,它是至少25%。在一些实施例中,它是至少30%。在一些实施例中,它是至少35%。在一些实施例中,它是至少40%。在一些实施例中,它是至少45%。在一些实施例中,它是至少50%。在一些实施例中,它是至少60%。在一些实施例中,它是至少70%。在一些实施例中,它是至少75%。在一些实施例中,它是至少80%。在一些实施例中,它是至少85%。在一些实施例中,它是至少90%。在一些实施例中,它是至少95%。在一些实施例中,它是至少约100%。

[1059] 在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够介导靶核酸或其产物的表达或水平的降低(例如,通过将靶腺苷修饰为肌苷)。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够在体外介导细胞中靶基因或其基因产物的表达或水平的降低(例如,通过将靶腺苷修饰为肌苷)。在一些实施例中,表达或水平可以降低至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、

45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,通过由寡核苷酸或其组合物(例如,在体外在细胞中以10 $\mu$ M或更低的浓度)指导的ADAR介导的脱氨,靶基因或其基因产物的表达或水平可以降低至少约10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物能够在1nM、5nM、10nM或更低的浓度下提供合适水平的活性(例如,当在体外或体内在细胞中测定时)。

[1060] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和组合物的活性可以通过IC<sub>50</sub>来评估,IC<sub>50</sub>是在适合的条件(例如,基于细胞的体外测定中)使靶核酸或其产物的水平降低50%的抑制浓度。在一些实施例中,例如当在基于细胞的测定中评估时,所提供的寡核苷酸或组合物具有不超过0.001、0.01、0.1、0.5、1、2、5、10、50、100、200、500或1000nM的IC<sub>50</sub>。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约500nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约200nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约100nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约50nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约25nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约10nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约5nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约2nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约1nM。在一些实施例中,IC<sub>50</sub>不超过约0.5nM。

[1061] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供靶腺苷相对于靶腺苷中的其他腺苷残基的选择性编辑。在一些实施例中,靶腺苷相对于非靶腺苷的选择性为至少1.5倍、2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍、100倍或更多倍(例如,如通过在合适的条件下靶腺苷相对于非靶腺苷的编辑水平所测量的,或通过用于某一编辑水平(例如,0.5%、1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、50%等)的寡核苷酸浓度所测量的)。在一些实施例中,选择性为至少2倍。在一些实施例中,选择性为至少3倍。在一些实施例中,选择性为至少4倍。在一些实施例中,选择性为至少5倍。在一些实施例中,选择性为至少10倍。在一些实施例中,选择性为至少25倍。在一些实施例中,选择性为至少50倍。在一些实施例中,选择性为至少100倍。

[1062] 在一些实施例中,本披露提供了用于抑制靶核酸序列的转录物的方法,对于该靶核酸序列,群体中存在一个或多个相似核酸序列,靶序列和相似序列中的每一者包含相对于相似序列限定靶序列的特定特征性序列元件,该方法包括使包含靶核酸序列的转录物的样品与寡核苷酸或包含共享共同碱基序列的多个寡核苷酸的组合物接触,其中该寡核苷酸的碱基序列或该多个寡核苷酸的共同碱基序列是或包含与限定靶核酸序列的特征性序列元件互补的序列。在一些实施例中,其中当寡核苷酸或寡核苷酸组合物与包含靶核酸序列和相似核酸序列两者的转录物的系统接触时,靶核酸序列的转录物以比相似核酸序列所观察到的抑制水平更高的水平被抑制。在一些实施例中,对靶核酸序列的转录物的抑制可以是对类似核酸序列观察到的抑制的1.1-100、2-100、1.5、2、2.5、3、4、5、6、7、8、9或10倍。在一些实施例中,靶核酸序列与病症、障碍或疾病相关(或与类似的核酸序列相比,与病症、障碍或疾病更相关)。如本领域技术人员将理解的,选择性减少与病症、障碍或疾病相关联的转录物(和/或其产物),同时保持与病症、障碍或疾病无关或较少相关的转录物可以提供许多优点,例如,提供疾病治疗和/或预防,同时保持一种或多种所需的生物功能(其可以尤其产生较少的或不太严重的副作用)。

[1063] 在一些实施例中,如本文所展示,在系统(例如,本文所述的报告子测定)中,选择

性为至少10倍,或20、30、40或50倍或更多倍。在一些实施例中,寡核苷酸或组合物可有效降低突变体蛋白的水平(例如,突变体蛋白降低至少50%、60%、70%或更多),同时维持系统中野生型蛋白的水平(例如,保留至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多的野生型蛋白)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在多种生物系统中(例如,在小鼠脑匀浆中)是稳定的(例如,在1、2、3、4、5、6、7或8天后剩余至少70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸具有低毒性。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物(例如,手性受控的寡核苷酸及其组合物)不显著激活TLR9(例如,当与参考寡核苷酸及其组合物(例如,对应的立体随机寡核苷酸及其组合物)相比时)。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物(例如,手性受控的寡核苷酸及其组合物)不显著诱导补体激活(例如,当与参考寡核苷酸及其组合物(例如,对应的立体随机寡核苷酸及其组合物)相比时)。

[1064] 对于多种应用,所提供的寡核苷酸和/或组合物可以作为药物组合物提供。在一些实施例中,本披露提供了药物组合物,该组合物包含或递送有效量的寡核苷酸或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,药物组合物可包含多种形式的寡核苷酸,例如酸、碱和多种药学上可接受的盐形式。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钠盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是钾盐。在一些实施例中,药学上可接受的盐是胺盐(例如,具有 $N(R)_3$ 的结构胺的盐)。在一些实施例中,药物组合物进一步包含药学上可接受的载剂。在一些实施例中,药物组合物是或包含液体溶液。在一些实施例中,液体组合物具有控制的pH范围,例如约生理pH或为生理pH。在一些实施例中,药物组合物包含或被配制为生理学相容缓冲液形式的溶液,诸如汉克斯溶液(Hanks' solution)、林格氏溶液(Ringer's solution)、脑脊液、人工脑脊液(aCSF)或生理盐水缓冲液。在一些实施例中,药物组合物包含或配制为人工脑髓液(aCSF)中的溶液。在一些实施例中,药物组合物是可注射的悬浮液或溶液。在某些实施例中,使用合适的液体载剂、助悬剂等制备可注射悬浮液或溶液。药物组合物可以各种合适的途径施用。在一些实施例中,药物组合物被配制用于口服施用,例如,浸液(drench)(水性或非水性溶液或悬浮液)、片剂(例如,针对口腔、舌下和全身吸收的那些)、大丸剂、粉剂、颗粒剂、糊剂(应用于舌);肠胃外施用(例如,通过皮下、肌肉内、静脉内、鞘内、脑室内或硬膜外注射),作为例如无菌溶液或悬浮液,例如,呈生理学相容缓冲液(诸如汉克斯溶液、林格氏溶液、脑脊液、人工脑脊液(aCSF)或生理盐水缓冲液)或缓释制品形式;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。

[1065] 尤其是,本披露提供了用于预防或治疗病症、障碍或疾病的技术。在一些实施例中,本披露提供了一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,病症、障碍或疾病适合(例如,可以受益于)A向I的转化。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸

或组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如本文所述的寡核苷酸或组合物。在一些实施例中,寡核苷酸组合物中的一种或多种寡核苷酸的碱基序列与包含靶腺苷的靶核酸的碱基序列基本上互补。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR蛋白。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR1(例如,p110和/或p150形式)。在一些实施例中,与病症、障碍或疾病相关联的细胞、组织或器官包含或表达ADAR2。在一些实施例中,病症、障碍或疾病如本文所述。在一些实施例中,病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症。在一些实施例中,方法包括将靶腺苷转化成I。

[1066] 在一些实施例中,本披露提供了包含与靶序列互补的序列的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了指导位点特异性(也可称为定点)编辑(例如,脱氨)的寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了指导由ADAR(例如,内源性ADAR)介导的位点特异性腺苷编辑的寡核苷酸。多种所提供的寡核苷酸可以用作用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸。在一些实施例中,本披露提供了使用所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸及其组合物来预防和/或治疗与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法。在一些实施例中,本披露提供了用作药物的寡核苷酸及其组合物,这些药物例如用于与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。在一些实施例中,本披露提供了用于治疗与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,本披露提供了用于制备药物的寡核苷酸及其组合物,这些药物用于治疗与靶序列中的G至A突变相关联的相关病症、障碍或疾病。

[1067] 在一些实施例中,本披露提供了用于预防、治疗或改善易患或患有与靶序列中的G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的受试者的该病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1068] 在一些实施例中,本披露提供用于使细胞的靶序列中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了使细胞的靶序列(例如,转录物)中的靶腺苷脱氨的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,本披露提供了用于降低细胞中与G至A突变相关联的蛋白的水平的方法,该方法包括:使该细胞与寡核苷酸或其组合物接触。在一些实施例中,所提供的方法可以选择性地降低转录物和/或由其编码的产物的水平,这些转录物和/或产物与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病有关。在一些实施例中,所提供的方法可以相对于在靶A的位置处具有G的其他方面相同的核酸选择性地编辑靶核酸,例如包含不期望的A(例如,G至A突变)的转录物。

[1069] 在一些实施例中,本披露提供了用于降低有需要的哺乳动物中的突变基因(例如,G至A突变)表达的方法,该方法包括向该哺乳动物施用核酸-脂质颗粒,该核酸-脂质颗粒包含所提供的用于定点编辑靶RNA序列中的核苷酸的单链寡核苷酸或其组合物。

[1070] 在一些实施例中,本披露提供了用于体内递送寡核苷酸的方法,该方法包括向哺乳动物施用寡核苷酸或其组合物。

[1071] 在一些实施例中,适合于治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的受试者或患者可由健康护理专业人员鉴别或诊断。

[1072] 在一些实施例中,与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的症状可以是可受益于A至I转化的任何病症、障碍或疾病。

[1073] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸或其组合物可以预防、治疗、改善或减缓与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病,或与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的至少一种症状。

[1074] 在一些实施例中,本披露的方法可以用于治疗受试者的与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病,其中该方法包括向受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1075] 在一些实施例中,所提供的方法可以减轻与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的至少一种症状,其中该方法包括向受试者施用治疗有效量的寡核苷酸或其药物组合物。

[1076] 在一些实施例中,向患者或受试者施用寡核苷酸能够介导以下任一个或多个方面:减缓与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的进展;延迟与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病或其至少一种症状的发作;改善与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的一种或多种指标;和/或增加患者或受试者的存活时间或寿命。

[1077] 在一些实施例中,减缓疾病进展可涉及在易患或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病(诸如本文所述的那些)的个体中预防或延迟一个或多个临床参数的临床上不合需要的变化。使用本文所述的一种或多种疾病评估测试来鉴别易感或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的个体中疾病进展的减缓完全在医师的能力范围内。另外,应当理解,除了本文所述的那些以外,医师还可以对个体进行诊断测试,以评估易患或患有与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的个体的疾病进展速率。

[1078] 医师可以使用与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的家族史,或与具有相似遗传特征的其他患者的比较。

[1079] 在一些实施例中,与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的指标包括由医学专业人员(诸如医师)用于诊断或测量病症、障碍或疾病的进展的参数。

[1080] 在一些实施例中,向受试者施用寡核苷酸或其组合物和另外的药剂和/或方法,例如另外的治疗剂和/或方法。在一些实施例中,寡核苷酸或其组合物可以单独施用或与一种或多种其他治疗剂和/或治疗组合施用。当组合施用时,每种组分可以同时或以任何顺序在不同时间点依次施用。在一些实施例中,可以分开地但在时间上足够紧密地施用每种组分,以提供期望的治疗效果。在一些实施例中,同时提供所提供的寡核苷酸和其他治疗成分。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸和另外的治疗组分可以作为一种组合物施用。在一些实施例中,在一个时间点,被施用的受试者可以同时暴露于所提供的寡核苷酸和另外的组分。

[1081] 在一些实施例中,另外的治疗剂可以与寡核苷酸物理缀合。在一些实施例中,另外的药剂是GalNAc。在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与另外的药剂物理缀合。在一些实施例中,另外的药剂寡核苷酸可具有如本披露中所述的碱基序列、糖、核碱基、核苷酸间键联,糖、核碱基和/或核苷酸间键联修饰模式,骨架手性中心模式等,或其任何组合,其中每个T独立地被U代替并且反之亦然。在一些实施例中,寡核苷酸可与第二寡核苷酸物理缀合,该第二寡核苷酸可降低(直接或间接)靶序列的表达、活性和/或水平,或可用于治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病。

[1082] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与一种或多种另外的(或第二)治疗剂一起施用,以用于与G至A突变相关联的病症、障

碍或疾病。

[1083] 在一些实施例中,可以向受试者施用寡核苷酸和另外的治疗剂,其中该另外的治疗剂是可用于治疗待治疗的病症、障碍或疾病的本文所述或本领域已知的药剂。

[1084] 在一些实施例中,所提供的用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸可以与用于病症、障碍或疾病或其症状的一种或多种治疗一起共同施用或作为治疗方案的一部分与用于病症、障碍或疾病或其症状的一种或多种治疗一起使用,该一种或多种治疗包括但不限于:适体、lncRNA、lncRNA抑制剂、抗体、肽、小分子、靶向其他靶标的其他寡核苷酸。

[1085] 在一些实施例中,作为非限制性实例,另外的治疗性处理是编辑基因的方法。

[1086] 在一些实施例中,作为非限制性实例,另外的治疗剂是寡核苷酸。

[1087] 在一些实施例中,可以在寡核苷酸之前、同时或之后向受试者施用第二或另外的治疗剂。在一些实施例中,第二或另外的治疗剂可以多次施用给受试者,并且寡核苷酸也多次施用给受试者,并且以任何顺序施用。

[1088] 在一些实施例中,改善可以包括降低在疾病状态下过高的基因或基因产物的表达、活性和/或水平;增加在疾病状态下过低的基因或基因产物的表达、活性和/或水平;和/或降低基因或基因产物的突变型和/或疾病相关变体的表达、活性和/或水平。

[1089] 在一些实施例中,可用于治疗、改善和/或预防与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的寡核苷酸或组合物可以经由多种合适的可用技术施用(例如,施用给受试者)。

[1090] 在一些实施例中,所提供的寡核苷酸,例如用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的单链寡核苷酸,可以作为药物组合物施用,例如以用于治疗、改善和/或预防病症、障碍或疾病。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含至少一个手性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是手性受控的。

[1091] 尤其是,与参考技术(例如,不存在或存在低水平的手性控制(例如,立体随机寡核苷酸组合物(例如,具有相同碱基序列或相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物)),和/或不存在或存在低水平的某些修饰及其模式(例如,2'-F、不带负电荷的核苷酸间键联等))相比,本披露的技术(例如,寡核苷酸及其组合物)可以提供多种改进和优点,诸如改善的稳定性、递送、编辑效率、药代动力学和/或药效动力学。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同碱基序列的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物(如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,多种盐形式可适当地视为具有相同构成)。在一些实施例中,参考寡核苷酸是不含不带负电荷的核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施例中,参考寡核苷酸不含n001。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是不含不带负电荷的核苷酸间键联的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,参考寡核苷酸组合物是不含n001的寡核苷酸的组合物。在一些实施例中,与参考技术相比,所提供的技术可以较低的单位或总剂量使用,和/或可以较低的剂量和/或较长的剂量间隔施用(例如,以实现相当的或更好的效果)。在一些实施例中,所提供的技术可以提供持久的编辑。在一些实施例中,所提供的技术一旦施用就能在一段时间内,例如在最后一剂后约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、60天或更多天,或1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个月,以某一水平或更高的水平(例如,对提供某些生物和/或治疗效果有用和/或足够的水平)提供活性,例如,靶标编

辑。在一些实施例中,所提供的技术提供低毒性。在一些实施例中,与参考技术相比,所提供的技术可以较高的单位或总剂量使用,和/或可以更多的剂量和/或更短的剂量间隔施用(例如,以实现更好的效果)。在一些实施例中,总剂量可以作为单一剂量施用。在一些实施例中,总剂量可以作为两个或更多个单一剂量施用。在一些实施例中,与作为两个或更多个单一剂量施用相比,作为单一剂量施用的总剂量可以提供更高的最大编辑水平。

[1092] 在一些情况下,已经施用寡核苷酸作为药物的患者可能经历某些副作用或不良反应,包括:血小板减少、肾毒性、肾小球肾炎和/或凝血异常;遗传毒性、靶器官重复剂量毒性和病理效应;剂量反应和暴露关系;慢性毒性;幼年毒性;生殖和发育毒性;心血管安全性;注射部位反应;细胞因子应答补体效应;免疫原性;和/或致癌性。在一些实施例中,施用另外的治疗剂以抵消施用寡核苷酸的副作用或不良反应。在一些实施例中,与用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的不同单链寡核苷酸相比,用于靶RNA序列中核苷酸的定点编辑的特定单链寡核苷酸可具有降低的引起副作用或不良反应的能力。

[1093] 在一些实施例中,可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1094] 在一些实施例中,可将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1095] 在一些实施例中,可将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应。

[1096] 在一些实施例中,可将寡核苷酸和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸施用相关联的一种或多种副作用或不良反应,并且其中寡核苷酸通过任何生化机制起作用,该生化机制包括但不限于:降低靶基因或其基因产物的水平、表达和/或活性,增加或降低靶基因mRNA中一个或多个外显子的跳读,ADAR介导的脱氨,RNaseH介导的机制,空间位阻介导的机制和/或RNA干扰介导的机制,其中寡核苷酸是单链或双链的。

[1097] 在一些实施例中,可将寡核苷酸组合物和一种或多种另外的治疗剂施用给患者(以任何顺序),其中可以向患者施用另外的治疗剂,以控制或减轻与寡核苷酸组合物施用相关联的一种或多种副作用或不良反应,并且其中寡核苷酸组合物可以是手性受控的或包含至少一个手性受控的核苷酸间键联(包括但不限于手性受控的硫代磷酸酯)。

[1098] 多种病症、障碍或疾病可以受益于腺苷编辑,包括与G至A突变相关联的那些,例如囊性纤维化、赫尔勒综合征(Hurler Syndrome)、 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏、帕金森病、阿尔茨海默病、白化病、肌萎缩症侧索硬化症、哮喘、 $\beta$ -地中海贫血、卡德西尔综合征(Cadasil syndrome)、腓骨肌萎缩症(Charcot-Marie-Tooth disease)、慢性阻塞性肺病(COPD)、远端脊髓性肌萎缩症(DSMA)、杜氏/贝克尔肌营养不良(Duchenne/Becker muscular dystrophy)、营养不良型大疱性表皮松解症、大疱性表皮松解症、法布里病(Fabry disease)、因子V莱顿相关疾病(Factor V Leiden associated disorder)、家族性腺瘤、息肉病、半乳糖血症、戈谢病(Gaucher's Disease)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、血友病、遗传性血色素沉着症、亨特综合征(Hunter Syndrome)、亨廷顿病(Huntington's disease)、炎症性

肠病 (IBD)、遗传性多凝集综合征、莱伯氏先天性黑蒙症 (Leber congenital amaurosis)、莱施-尼汉综合征 (Lesch-Nyhan syndrome)、林奇综合征 (Lynch syndrome)、马凡综合征 (Marfan syndrome)、粘多糖贮积症、肌营养不良、肌强直性营养不良 I 型和 II 型、神经纤维瘤病、尼曼匹克病 (Niemann-Pick disease) A、B 和 C 型、NY-eso1 相关癌症、黑斑息肉综合征 (Peutz-Jeghers Syndrome)、苯丙酮尿症、庞贝氏病 (Pompe's disease)、原发性睫毛疾病、凝血酶原突变相关疾病 (诸如凝血酶原 G20210A 突变)、肺动脉高压、色素性视网膜炎、桑霍夫病 (Sandhoff Disease)、严重联合免疫缺陷综合征 (SCID)、镰状细胞性贫血、脊髓性肌肉萎缩症、斯特格氏病 (Stargardt's Disease)、泰萨二氏病 (Tay-Sachs Disease)、乌谢尔综合征 (Usher syndrome)、X 连锁免疫缺陷、斯特奇-韦伯综合征和多种癌症。WO 2020/154344、WO 2020/154343、WO 2020/154342、WO 2020/165077、WO 2020/201406、WO 2020/216637 或 WO 2020/252376 中描述了某些病症、障碍或疾病。

[1099] 在一些实施例中,病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶 (A1AT) 缺乏症 (AATD)。

[1100]  $\alpha$ -1抗胰蛋白酶 (A1AT) 缺乏 (AATD) 是据报道由 SERPINA1 基因 (也称为 PI、AIA、AAT、PII、A1AT、PR02275 和  $\alpha$ 1AT) 的缺陷导致的遗传疾病。严重的 A1AT 缺乏症与包括肺和肝表型在内的多种表型相关。

[1101] 据报道,A1AT 缺乏症是北欧血统受试者中最常见的遗传疾病之一。仅在美国严重 A1AT 缺乏症的患病率就达到 80,000-100,000 例。在欧盟的数量估计相似。全世界估计有 300 万人患有严重的 A1AT 缺乏症。A1AT 缺乏症会引起肺气肿,受试者在其第三或第四个十年中出现肺气肿。A1AT 缺乏症也可引起肝衰竭和肝细胞癌,高达 30% 的患有严重 A1AT 缺乏的受试者会发展出明显的肝病,包括肝硬化、暴发性肝衰竭和肝细胞癌。

[1102] SERPINA1 基因中的 A 突变 (即, c.1024G>A) 导致成熟 A1AT 蛋白的氨基酸位置 342 处的谷氨酸至赖氨酸取代 (E342K,“Z 突变”)。这种错义突变影响蛋白构象和分泌,从而导致 A1AT 的循环水平降低。携带 Z 突变的等位基因被鉴定为 PiZ 等位基因。PiZ 等位基因纯合的受试者称为 PiZZ 携带者,并表达正常水平的 10%-15% 的血清 A1AT。约 95% 有 A1AT 缺乏症症状的受试者具有 PiZZ 基因型。Z 突变杂合的受试者称为 PiMZ 突变体,并表达正常水平的 60% 的血清 A1AT。在确诊的患者中,90% 患有严重 A1AT 缺乏症的患者具有 ZZ 突变。美国约有 30,000 至 50,000 人具有 PiZZ 基因型。

[1103] A1AT 缺乏的病理生理学可随受影响的器官而变化。据报道,肝病是由于功能获得机制引起的。异常折叠的 A1AT,特别是 Z 型 A1AT (Z-AT) 在肝细胞内聚集和聚合。A1AT 内含物存在于 PiZZ 受试者中,并且被认为引起肝硬化,并且在一些情况下引起肝细胞癌。肝病中功能获得机制的证据得到了无效纯合子的支持。这些受试者不产生 A1AT 并且不发展肝细胞内含物或肝病。

[1104] 据报道,A1AT 缺乏在高达约 50% 的 A1AT 受试者中导致肝病,并且在高达约 30% 的受试者中导致严重的肝病。肝病可能表现为: (a) 儿童期中自限性的肝硬化, (b) 儿童期或成年期中需要肝移植或导致死亡的严重肝硬化,和 (c) 通常致死的肝细胞癌。据报道,肝病的发病呈双峰型,主要影响儿童或成人。儿童疾病在许多情况下是自限性的,但可能导致终末期、致命性肝硬化。据报道,高达约 18% 的具有 PiZZ 基因型的受试者可在儿童期中发展出临床上显著的肝异常。据报道,约 2% 的 PiZZ 受试者发生严重的肝硬化,导致在儿童期死亡 (Sveger 1988; Volpert 2000)。成人发病的肝病可影响具有所有基因型的受试者,但在具有

PiZZ基因型的受试者中较早出现。据报道,约2%-10%的A1AT缺乏症受试者发展出成人发病的肝病。

[1105] 与A1AT缺乏症相关联的肺病目前通过静脉内施用人源性代替A1AT蛋白来治疗,但除了成本高昂和需要在受试者的整个生命期内频繁注射外,该方法仅部分有效。目前用化学疗法和手术来治疗患有肝细胞癌的A1AT缺乏症受试者,但没有令人满意的方法来预防A1AT缺乏症可能致命的肝表现。

[1106] 尤其是,本披露认识到需要改善对A1AT缺乏症(例如,包括其肝和肺表现)的治疗。在一些实施例中,本披露提供了用于预防或治疗与 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症相关联的病症、障碍或疾病的技术,例如,通过提供可以将A突变转化成I的寡核苷酸和/或组合物,该I可以在蛋白翻译期间被读作G,从而为蛋白翻译校正G至A突变。尤其是,改变一种或多种肝细胞中的SERPINA1可以通过减少或消除毒性Z蛋白(Z-AAT)的产生来预防A1AT缺乏受试者中肝病的进展。在某些实施例中,通过利用所提供的技术消除或减少Z蛋白的产生。在某些实施例中,与未接受治疗的受试者相比,疾病被治愈、未进展或进展延迟。

[1107] 在一些实施例中,已经报道了肝和肺中的AATD双重病理学。在一些实施例中,已报道无法分泌聚合的Z-ATT导致例如肝损伤/肝硬化。在一些实施例中,一个或两个肺对未受约束的(unchecked)蛋白酶开放,这在一些实施例中导致炎症和肺损伤。许多患者(例如,据报道美国和欧盟约有200,000人)具有纯合ZZ基因型,据报道这与最常见的严重AATD形式相关。据报道,已批准的疗法适度增加患有肺部病理的患者中广泛类型AAT的循环水平,并且没有疗法针对肝脏病理。在一些实施例中,所提供的技术增加或恢复肝中野生型AAT的表达、水平、特性和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术靶向肝,例如,通过将靶向肝的部分(例如,配体,例如肝中表达的GalNAc靶向受体)掺入寡核苷酸中。在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强肝中的野生型AAT生理调节。在一些实施例中,所提供的技术减少了Z-AAT蛋白聚集。在一些实施例中,所提供的技术恢复、增加或增强肝中的野生型AAT生理调节并减少Z-AAT蛋白聚集。在一些实施例中,所提供的技术增加分泌到血流中。在一些实施例中,所提供的技术增加循环的野生型AAT。在一些实施例中,所提供的技术增加循环的肺结合野生型AAT。在一些实施例中,所提供的技术增加或恢复肺中野生型AAT的表达、水平、特性和/或活性。在一些实施例中,所提供的技术保护肺免受不需要的蛋白酶的侵害。在一些实施例中,所提供的技术减少或预防炎症和/或肺损伤。在一些实施例中,所提供的技术对肝和肺都有益。在一些实施例中,所提供的技术减少或预防肝损伤或肝硬化,并且减少或预防炎症和/或肺损伤。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸,例如,包含某些部分(例如靶向在肝中表达的受体的配体(例如,GalNAc))的寡核苷酸在肝和肺中提供益处。在一些实施例中,所提供的技术同时对肝和肺有益。在一些实施例中,所提供的技术解决了AATD的肺和/或肝表现。在一些实施例中,所提供的技术同时解决了AATD的肺和肝表现。在一些实施例中,所提供的技术包括使用GalNAc缀合型寡核苷酸及其组合物来校正由触发AATD的SERPINA1Z等位基因编码的mRNA中的RNA碱基突变。在一些实施例中,所提供的技术同时减少了突变的、错误折叠的 $\alpha$ -1蛋白的聚集并增加了野生型 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶蛋白的循环水平,并且在一些实施例中解决了AATD的肝和肺表现。在一些实施例中,所提供的技术避免了DNA永久脱靶变化的风险。

[1108] 在某些实施例中,如本文所述的技术可以为一种或多种经处理的肝细胞的存活提

供选择性优势。在某些实施例中，靶细胞被修饰。在一些实施例中，用本文的技术处理的细胞可能不会产生毒性Z蛋白。在一些实施例中，未被修饰的患病细胞产生毒性Z蛋白，并且可经历继发于由Z蛋白错误折叠诱导的内质网(ER)应激的细胞凋亡。在某些实施例中，在使用所提供的技术处理之后，经处理的细胞将存活而未经处理的细胞将死亡。这种选择性优势可以驱动肝细胞的最终定殖，其中大部分是SERPINA1校正的细胞。

[1109] 在一些实施例中，当将寡核苷酸施用于患有或易患与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的患者时，该寡核苷酸能够减轻该病症、障碍或疾病的至少一种症状和/或能够延迟或预防由于基因或基因产物中的G至A突变引起的病症、障碍或疾病的至少一种症状的发作、恶化和/或降低其恶化速率和/或程度。

[1110] 在一些实施例中，所提供的技术可以提供对系统(例如，细胞、组织、器官、动物等)中的两个或更多个位点的编辑(“多重编辑”)。在一些实施例中，所提供的技术可以靶向相同转录物的两个或更多个位点并提供对这些位点的编辑。在一些实施例中，所提供的技术可以靶向来自相同核酸或不同核酸的两种或更多种不同转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中，所提供的技术可以靶向来自两种或更多种不同核酸的转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中，所提供的技术可靶向来自两种或更多种不同基因的转录物并提供对这些转录物的编辑。在一些实施例中，在同时编辑的靶标中，各自独立地处于生物学和/或治疗相关的水平。在一些实施例中，在多重编辑中，一个或多个或所有靶标以与在可比较条件下单独进行的编辑相当的水平独立地编辑。在一些实施例中，利用两种或更多种单独的组合物来执行多重编辑，每种组合物独立地靶向一个或多个靶标。在一些实施例中，这些组合物同时施用。在一些实施例中，这些组合物以合适的间隔施用。在一些实施例中，一种或多种组合物在一种或多种其他组合物之前或之后施用。在一些实施例中，使用单一组合物进行多重编辑，例如包含两种或更多种多个寡核苷酸的组合物，其中该多个寡核苷酸靶向不同的靶标。在一些实施例中，每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的腺苷。在一些实施例中，每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的转录物。在一些实施例中，每种多个寡核苷酸独立地靶向不同的基因。在一些实施例中，两种或更多种多个寡核苷酸可靶向同一靶标，但该多个寡核苷酸一起靶向所需的靶标。

[1111] 如本文所述，所提供的技术可以提供许多优点。例如，在一些实施例中，所提供的技术比作用于DNA的技术更安全，因为所提供的技术可以提供可逆且可调的RNA编辑(例如，通过调节剂量)。另外地和替代性地，如本文所展示，所提供的技术可以在表达内源性ADAR蛋白的系统中提供高水平的编辑，从而避免在多种情况下引入外源性蛋白的需要。此外，所提供的技术不需要依赖于辅助递送媒介物诸如病毒载体或脂质纳米颗粒的复合寡核苷酸，如在许多其他技术中使用的，特别是用于细胞培养以外的应用。在一些实施例中，所提供的技术可以使用内源性ADAR酶以高效率提供序列特异性A至I RNA编辑，并且可在不存在人工递送剂的情况下递送到多种系统(例如，细胞)中。

[1112] 阅读本披露内容的本领域技术人员将理解，可以使用根据本披露内容的多种技术递送所提供的寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸和组合物可以经由转染或脂质转染来递送。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸及其组合物可在不存在递送助剂(诸如用于转染或脂质转染中的那些)的情况下递送。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸和组合物可以经由转染或脂质转染来递送。在一些实施例中，所提供的寡核苷酸及

其组合物以裸递送方式递送。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸包含可促进递送的另外的化学部分。例如,在一些实施例中,另外的化学部分是或包含受体(例如,脱唾液酸糖蛋白受体)的配体部分(例如,N-乙酰半乳糖胺(GalNAc))。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸及其组合物可以通过GalNAc介导的递送来递送。

[1113] 除其他事项外,本披露提供了以下示例实施例:

1. 一种寡核苷酸,其包含:

第一结构域;以及

第二结构域,

其中:

该第一结构域包含一个或多个2'-F修饰;

该第二结构域包含一个或多个不具有2'-F修饰的糖。

2. 一种寡核苷酸,其包含如本披露中所述的经修饰的核碱基、核苷、糖或核苷酸间键联。

3. 一种寡核苷酸,其中所有糖中约或至少约60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%是2'-F修饰的糖。

4. 一种寡核苷酸,其包含如本披露中所述的第二子结构域。

5. 一种寡核苷酸,其包含一个或多个经修饰的糖和/或一个或多个经修饰的核苷酸间键联,其中该寡核苷酸包含各自独立地包含一个或多个核碱基的第一结构域和第二结构域。

6. 如实施例1-5任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸在系统中与包含靶腺苷的靶核酸接触时,该靶核酸中的靶腺苷被修饰。

7. 如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸的水平降低。

8. 如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在该寡核苷酸或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸或其产物的剪接被改变。

9. 如实施例1-5中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与系统中包含靶腺苷的靶核酸接触时,与不存在产物或存在参考寡核苷酸相比,该靶核酸的产物的水平被改变。

10. 如实施例7-9中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶核酸被修饰。

11. 如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷被修饰。

12. 如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷被肌苷代替。

13. 如实施例6-10中任一项所述的寡核苷酸,其中产物的水平增加,其中该产物是核酸或由核酸编码,该核酸在其他方面与该靶核酸相同但该靶腺苷的腺嘌呤被鸟嘌呤代替。

14. 如实施例11-13中任一项所述的寡核苷酸,其中该产物是蛋白。

15. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该靶腺苷是来自鸟嘌呤的突变。

16. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷与相同位置处的鸟嘌呤相比与病症、障碍或疾病更相关。

17. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷与 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症相关。

18. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷在人SERPINA1基因中。

19. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷是人SERPINA1基因中的1024G>A(E342K)突变。

20. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸能够与该靶核酸形成双链复合物。

21. 如实施例6-20所述的寡核苷酸, 其中靶核酸或其部分是或包含RNA。

22. 如实施例6-21中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷是RNA的靶腺苷。

23. 如实施例6-22中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷被修饰, 并且该修饰是或包括该靶腺苷的脱氨。

24. 如实施例6-23中任一项所述的寡核苷酸, 其中该靶腺苷被修饰并且该修饰是或包括将该靶腺苷转化成肌苷。

25. 如实施例6-24中任一项所述的寡核苷酸, 其中该修饰由ADAR蛋白促进。

26. 如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸, 其中该系统是包含ADAR蛋白的体外或离体系统。

27. 如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸, 其中该系统是或包括含有或表达ADAR蛋白的细胞。

28. 如实施例6-25中任一项所述的寡核苷酸, 其中该系统是包含含有或表达ADAR蛋白的细胞的受试者。

29. 如实施例25-28中任一项所述的寡核苷酸, 其中该ADAR蛋白是ADAR1。

30. 如实施例25-28中任一项所述的寡核苷酸, 其中该ADAR蛋白是ADAR2。

31. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约10-200个(例如, 约10-20、10-30、10-40、10-50、10-60、10-70、10-80、10-90、10-100、10-120、10-150、20-30、20-40、20-50、20-60、20-70、20-80、20-90、20-100、20-120、20-150、20-200、25-30、25-40、25-50、25-60、25-70、25-80、25-90、25-100、25-120、25-150、25-200、30-40、30-50、30-60、30-70、30-80、30-90、30-100、30-120、30-150、30-200、10、20、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、45、50、60个等)核碱基的长度。

32. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约26-35个核碱基的长度。

33. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约26个核碱基的长度。

34. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约27个核碱基的长度。

35. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约28个核碱基的长度。

36. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约29个核碱基

的长度。

37. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约30个核碱基的长度。

38. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约31个核碱基的长度。

39. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约32个核碱基的长度。

40. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约33个核碱基的长度。

41. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约34个核碱基的长度。

42. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸具有约35个核碱基的长度。

43. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列与包含该靶腺苷的该靶核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

44. 如实施例43所述的寡核苷酸,其中一个或多个错配独立地是摇摆碱基配对。

45. 如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中互补性为约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)。

46. 如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中该互补性为约90%-100%或约95-100%。

47. 如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中该互补性为100%。

48. 如实施例43-44中任一项所述的寡核苷酸,其中除了在与靶核苷(例如,腺苷)相对的核苷处,该互补性为100%。

49. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸由第一结构域和第二结构域组成。

50. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

51. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约10-25个核碱基的长度。

52. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域具有约15个核碱基的长度。

53. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

54. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个或更多个错配。

55. 如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个且不多于一个错配。

56. 如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个且不多于两个错配。

57. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

58. 如实施例57所述的寡核苷酸,其中每个凸出部分独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摇摆对的碱基对。

59. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆对。

60. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个或更多个摇摆对。

61. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一结构域包含两个且不多于两个摇摆对。

62. 如实施例1-50中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域与靶核酸完全互补。

63. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)具有2'-F修饰的糖。

64. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地包含2'-F修饰。

65. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约50%-100%

(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地包含2'-F修饰。

66.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖独立地包含2'-F修饰。

67.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OMe。

68.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'-OMe。

69.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OMe。

70.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

71.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

72.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OR,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

73.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约1%-95%(例如,不超过约1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%等)的糖包含2'-OR。

74.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、或约30%、40%、50%、60%或70%)的糖包含2'-OR,其中R不是-H。

75.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中不超过约50%的糖包含2'-OR。

76.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

77.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-MOE修饰的经修饰的糖。

78. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

79. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从第一结构域的5'末端计的前约1-5个, 例如1、2、3、4或5个糖独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

80. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从第一结构域的5'末端计的前约1-5个, 例如1、2、3、4或5个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

81. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖, 其中每个R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

82. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。

83. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

84. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如, UNA糖)。

85. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

86. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

87. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

88. 如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域中没有糖包含2'-OR。

89. 如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域中没有糖包含2'-OMe。

90. 如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域中没有糖包含2'-OR, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

91. 如实施例1-75中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域中的每个糖包含2'-F。

92. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一结构域包含约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50

个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

93. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

94. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约50%-100% (例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

95. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

96. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

97. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

98. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

99. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。

100. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

101. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

102. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少约1-50个 (例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。

103. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、

65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性受控的。

104. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

105. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

106. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

107. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

108. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp。

109. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

110. 如实施例1-108中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

111. 如实施例1-108和110中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域的最后一个和倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

112. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

113. 如实施例1-111中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

114. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域能够将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

115. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域能够使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

116. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域与ADAR的RNA结

合结构域(RBD)接触。

117.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域基本上不与ADAR的第二RBD结构域接触。

118.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域基本上不与ADAR的具有脱氨酶活性的催化结构域接触。

119.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约2-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

120.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约1-7个核碱基的长度。

121.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约5-15个核碱基的长度。

122.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约10-25个核碱基的长度。

123.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域具有约15个核碱基的长度。

124.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

125.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个或更多个错配。

126.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个且不多于一个错配。

127.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个且不多于两个错配。

128.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

129.如实施例128所述的寡核苷酸,其中每个凸出部分独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摇摆对的碱基对。

130.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆对。

131.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个或更多个摇摆对。

132.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二结构域包含两个且不多于两个摇摆对。

133.如实施例1-119中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与靶核酸完全

互补。

134. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第二结构域包含与靶腺苷相对的核苷。

135. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的U, 或是U的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

136. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是U。

137. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的C, 或是C的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

138. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是C。

139. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的A, 或是A的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

140. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是A。

141. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是任选地经取代的或被保护的假异胞嘧啶的核碱基, 或是该假异胞嘧啶的核碱基的任选地经取代的或被保护的互变异构体。

142. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该相对的核碱基是假异胞嘧啶的核碱基。

143. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含核碱基BA, 其中BA是或包含环BA或其互变异构体, 其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

144. 一种寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含核碱基BA, 其中BA是或包含环BA或其互变异构体, 其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

145. 如实施例134所述的寡核苷酸, 其中该核碱基是BA, 其中BA是或包含环BA或其互变异构体, 其中环BA是具有0-10个杂原子的任选地经取代的5-20元单环、双环或多环。

146. 如实施例143-145中任一项所述的寡核苷酸, 其中与U相比, BA与腺苷的靶腺嘌呤具有较弱的氢键合。

147. 如实施例143-146中任一项所述的寡核苷酸, 其中与U相比, BA与腺苷的靶腺嘌呤形成较少的氢键。

148. 如实施例143-147中任一项所述的寡核苷酸, 其中BA与ADAR的一个或多个氨基酸残基形成一个或多个氢键, 这些残基与和靶腺苷相对的U形成一个或多个氢键。

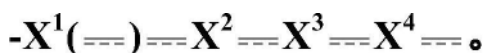
149. 如实施例143-148中任一项所述的寡核苷酸, 其中BA与ADAR的每个氨基酸残基形成一个或多个氢键, 该每个氨基酸残基与和靶腺苷相对的U形成一个或多个氢键。

150. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA包含  $\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---}$ 。

151. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA包含  $\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---X}^4\text{---}$ 。

152. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA包含  $\text{-X}^1(\text{---})\text{---X}^2\text{---X}^3\text{---}$ 。

153. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA包含



154. 如实施例143至153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I的结构。

155. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-a的结构。

156. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-I-b的结构。

157. 如实施例143至153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II的结构。

158. 如实施例143至153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-a的结构。

159. 如实施例143至153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-II-b的结构。

160. 如实施例143至153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III的结构。

161. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-a的结构。

162. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-III-b的结构。

163. 如实施例143-162中任一项所述的寡核苷酸,其中当 $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^1'$ 、 $X^2'$ 、 $X^3'$ 、 $X^4'$ 、 $X^5'$ 、 $X^6'$ 和 $X^7'$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$ 或 $-\text{NH}-\text{}$ 时,它们各自独立地且任选地经取代。

164. 如实施例150-163中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^1$ 是 $-\text{N}(-)-$ 。

165. 如实施例150-163中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^1$ 是 $-\text{C}(-)=$ 。

166. 如实施例150-165中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^2$ 是 $-\text{C}(\text{O})-$ 。

167. 如实施例150-166中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ 是 $-\text{NR}'-$ 。

168. 如实施例150-167中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ 是任选地经取代的 $-\text{NH}-$ 。

169. 如实施例150-167中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ 是 $-\text{NH}-$ 。

170. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}4})=$ 、 $-\text{C}(-\text{N}(\text{R}^{\text{B}4})_2)=$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}4})_2-$ 或 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{B}4})-$ 。

171. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}4})=$ 。

172. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 。

173. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 。

174. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(-\text{N}(\text{R}^{\text{B}4})_2)=$ 。

175. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是任选地经取代的 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=$ 。

176. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=$ 。

177. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(-\text{N}=\text{CHNR}_2)=$ 。

178. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(-\text{N}=\text{CHN}(\text{CH}_3)_2)=$ 。

179. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(-\text{NHR}')=$ 。

180. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}4})_2-$ 。

181. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}_2-$ 。

182. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{CH}_2-$ 。
183. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是任选地经取代的 $-\text{C}(=\text{NH})-$ 。
184. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(=\text{NR}^{\text{B}4})-$ 。
185. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{O})=$ ,其中氧原子具有比U中的对应 $-\text{C}(\text{O})-$ 弱的氢键受体。
186. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{O})=$ ,其中氧原子形成分子内氢键。
187. 如实施例150-169中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{O})=$ ,其中氧原子与同一核碱基内的氢形成氢键。
188. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}5})_2-$ 。
189. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}_2-$ 。
190. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{CH}_2-$ 。
191. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B}5})=$ 。
192. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是任选地经取代的 $-\text{C}(-\text{NO}_2)=$ 。
193. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是任选地经取代的 $-\text{CH}=\text{}$ 。
194. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{CH}=\text{}$ 。
195. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{C}(-\text{L}^{\text{B}5}-\text{R}^{\text{B}51})=$ ,其中 $\text{R}^{\text{B}51}$ 是 $-\text{R}'$ 、 $-\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $-\text{OR}'$ 或 $-\text{SR}'$ 。
196. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{C}(-\text{L}^{\text{B}5}-\text{R}^{\text{B}51})=$ ,其中 $\text{R}^{\text{B}51}$ 是 $-\text{N}(\text{R}')_2$ 、 $-\text{OR}'$ 或 $-\text{SR}'$ 。
197. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{C}(-\text{L}^{\text{B}5}-\text{R}^{\text{B}51})=$ ,其中 $\text{R}^{\text{B}51}$ 是 $-\text{NHR}'$ 。
198. 如实施例195-197中任一项所述的寡核苷酸,其中 $\text{L}^{\text{B}5}$ 是或包含 $-\text{C}(\text{O})$ 。
199. 如实施例157-187中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ 是 $-\text{N}=\text{}$ 。
200. 如实施例197-198中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ 是 $-\text{C}(\text{O})=$ ,其中氧原子与 $\text{R}^{\text{B}51}$ 中的 $-\text{NHR}'$ 、 $-\text{OH}$ 或 $-\text{SH}$ 的氢形成氢键。
201. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV的结构。
202. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV-a的结构。
203. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-IV-b的结构。
204. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V的结构。
205. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V-a的结构。
206. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-V-b的结构。
207. 如实施例143-153中任一项所述的寡核苷酸,其中环BA具有式BA-VI的结构。
208. 如实施例201-207中任一项所述的寡核苷酸,其中当 $X^1$ 、 $X^2$ 、 $X^3$ 、 $X^4$ 、 $X^5$ 、 $X^6$ 、 $X^1'$ 、

$X^2$ '、 $X^3$ '、 $X^4$ '、 $X^5$ '、 $X^6$ ' 和  $X^7$ ' 是  $-\text{CH}=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OH})=\text{}$ 、 $-\text{C}(-\text{NH}_2)=\text{}$ 、 $-\text{CH}_2-\text{}$ 、 $-\text{C}(=\text{NH})-\text{}$  或  $-\text{NH}-\text{}$  时, 它们各自独立地且任选地经取代。

209. 如实施例201-208中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^1$  是  $-\text{N}(-)\text{-}$ 。

210. 如实施例201-208中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^1$  是  $-\text{C}(-)=\text{}$ 。

211. 如实施例201-210中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2$  是任选地经取代的  $-\text{CH}=\text{}$ 。

212. 如实施例201-210中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。

213. 如实施例201-210中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2$  是  $-\text{C}(\text{O})-\text{}$ 。

214. 如实施例201-213中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^3$  是  $-\text{NR}'-\text{}$ 。

215. 如实施例201-213中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^3$  是任选地经取代的  $-\text{NH}-\text{}$ 。

216. 如实施例201-213中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^3$  是  $-\text{NH}-\text{}$ 。

217. 如实施例201至216中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}^A$  是5元的。

218. 如实施例201至216中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}^A$  是6元的。

219. 如实施例201-218中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}^A$  是具有1-3个杂原子的任选地经取代的环。

220. 如实施例219所述的寡核苷酸, 其中杂原子是氮。

221. 如实施例219-220中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}^A$  包含两个氮。

222. 如实施例219-220中任一项所述的寡核苷酸, 其中杂原子是氧。

223. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是  $-\text{C}(\text{R}^{\text{B6}})=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{OR}^{\text{B6}})=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{R}^{\text{B6}})_2-\text{}$  或  $-\text{C}(\text{O})-\text{}$ 。

224. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是  $-\text{C}(\text{R})=\text{}$ 、 $-\text{C}(\text{R})_2-\text{}$  或  $-\text{C}(\text{O})-\text{}$ 。

225. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是任选地经取代的  $-\text{CH}=\text{}$ 。

226. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。

227. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是任选地经取代的  $-\text{CH}_2-\text{}$ 。

228. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是  $-\text{CH}_2-\text{}$ 。

229. 如实施例160-222中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^6$  是  $-\text{C}(\text{O})-\text{}$ 。

230. 如实施例134-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}$  包含  $==\text{X}^4'==\text{X}^5'==$ 。

231. 如实施例143-149或230中任一项所述的寡核苷酸, 其中环  $\text{BA}$  具有式  $\text{BA-VI}$  的结构。

232. 如实施例230所述的寡核苷酸, 其中  $X^1'$  是  $-\text{N}(-)\text{-}$ 。

233. 如实施例230所述的寡核苷酸, 其中  $X^1'$  是  $-\text{C}(-)=\text{}$ 。

234. 如实施例230-233中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2'$  是  $-\text{C}(\text{O})-\text{}$ 。

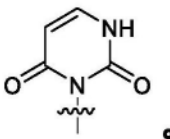
235. 如实施例230-233中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2'$  是任选地经取代的  $-\text{CH}=\text{}$ 。

236. 如实施例230-233中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2'$  是  $-\text{CH}=\text{}$ 。

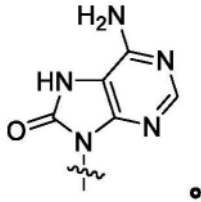
237. 如实施例230-233中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^2'$  是  $-\text{C}(-)=\text{}$ 。

238. 如实施例230-236中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $X^3'$  是  $-\text{NR}'-\text{}$ 。

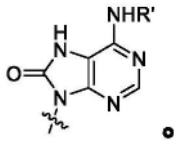
239. 如实施例230-236中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ '是任选地经取代的-NH-。
240. 如实施例230-236中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ '是-NH-。
241. 如实施例230-236中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^3$ '是-N=。
242. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(O)=。
243. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(OR<sup>B4'</sup>)=。
244. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(R<sup>B4'</sup>)=。
245. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是任选地经取代的-CH=。
246. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-CH=。
247. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(-N(R<sup>B4'</sup>)<sub>2</sub>)=。
248. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是任选地经取代的-C(-NH<sub>2</sub>)=。
249. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(-NH<sub>2</sub>)=。
250. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(-N=CHN(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>)=。
251. 如实施例230-241中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^4$ '是-C(-NC(O)R')=。
252. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是任选地经取代的-NH-。
253. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是-NH-。
254. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是-N=。
255. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是-C(R<sup>B5'</sup>)=。
256. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是任选地经取代的-CH=。
257. 如实施例230-251中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^5$ '是-CH=。
258. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是-C(R<sup>B6'</sup>)=。
259. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是任选地经取代的-CH=。
260. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是-CH=。
261. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是-C(O)=。
262. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是-C(OR<sup>B6'</sup>)=。
263. 如实施例230-257中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^6$ '是-C(OR')=。
264. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是-C(R<sup>B7'</sup>)=。
265. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是任选地经取代的-CH=。
266. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是-CH=。
267. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是任选地经取代的-NH-。
268. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是-NH-。
269. 如实施例230-263中任一项所述的寡核苷酸,其中 $X^7$ '是-N=。

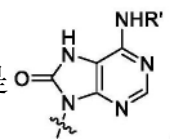
270. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是 

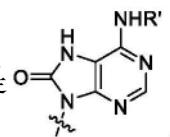
271. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



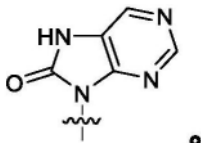
272. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



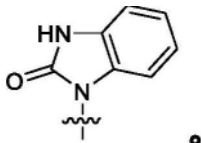
273. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是  其中R' 是-C(O)R。

274. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是  其中R' 是-C(O)Ph。

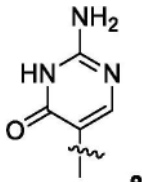
275. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



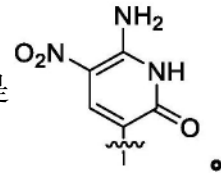
276. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



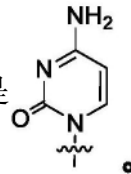
277. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



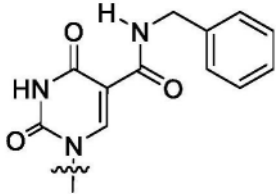
278. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



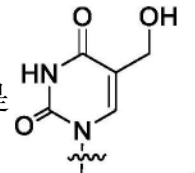
279. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



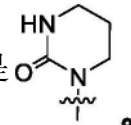
280. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



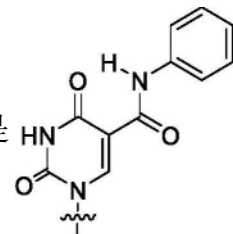
281. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



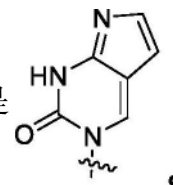
282. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



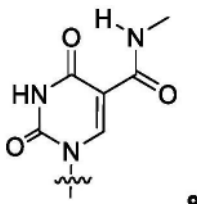
283. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



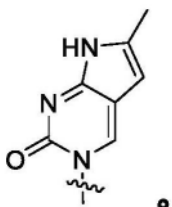
284. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



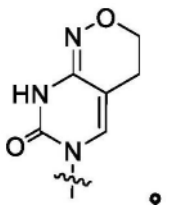
285. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



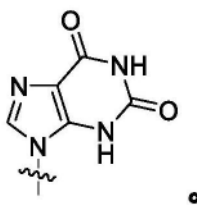
286. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



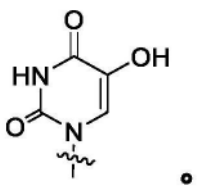
287. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



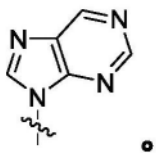
288. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



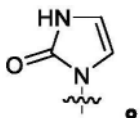
289. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



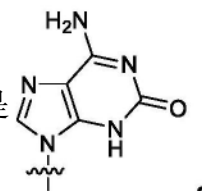
290. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



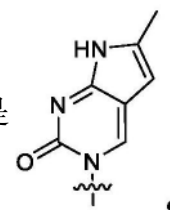
291. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



292. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



293. 如实施例143-149中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是



294. 如实施例143-293中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是环BA或其互变异构体。

295. 如实施例143-293中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是经取代的环BA或其互变异构体。

296. 如实施例143-293中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=、-CH<sub>2</sub>-和-NH-任选地且独立地被取代。

297. 如实施例143-293中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=和-CH<sub>2</sub>-任选地且独立地被取代。

298. 如实施例143-293中任一项所述的寡核苷酸,其中核碱基是任选地经取代的环BA或其互变异构体,其中每个环-CH=任选地且独立地被取代。

299. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

300. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

301. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

302. 如实施例139-301中任一项所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

303. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

304. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

305. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

306. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖, 其中每个R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

307. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。

308. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

309. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如, UNA糖)。

310. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

311. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

312. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个或多个(例如, 约1-20, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

313. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

314. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域中约5%-100%(例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

315. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域中约50%-100%(例如, 约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、

70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

316. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

317. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

318. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

319. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个硫代磷酸酯核苷酸间键联。

320. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含1、2、3、4或5个不带负电荷的核苷酸间键联。

321. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

322. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

323. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。

324. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性受控的。

325. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

326. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

327. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

328. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40

或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是Sp。

329. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中至少5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是Sp,或者其中该第二结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

330. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

331. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是Rp。

332. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

333. 如实施例1-331中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

334. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域能够将ADAR蛋白募集到靶核酸,或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

335. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域能够使ADAR蛋白与靶核酸相互作用,或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

336. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有酶活性的结构域接触。

337. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

338. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

339. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域从5'到3'包含第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域,或由这些结构域组成。

340. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二结构域从5'到3'由第一子结构域、第二子结构域和第三子结构域组成。

341. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域具有约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

342. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域具有约10-20

个(例如,约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个)核碱基的长度。

343.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

344.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个或更多个错配。

345.如实施例1-343中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个且不多于一个错配。

346.如实施例1-343中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个且不多于两个错配。

347.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

348.如实施例347所述的寡核苷酸,其中每个凸出部分独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摇摆对的碱基对。

349.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆对。

350.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个或更多个摇摆对。

351.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第一子结构域包含两个且不多于两个摇摆对。

352.如实施例1-341中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域与靶核酸完全互补。

353.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

354.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

355.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、

60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

356. 如实施例353-355中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

357. 如实施例353-355中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

358. 如实施例353-355中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

359. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

360. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。

361. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

362. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个

个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

363.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

364.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

365.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

366.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

367.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

368.如实施例339-358中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。

369.如实施例368所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。

370.如实施例368所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中的每个糖独立地包含2'-OMe。

371.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含具有约3-8个核碱基的长度的5'末端部分。

372.如实施例371所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分具有约3-6个核碱基的长度。

373.如实施例371或372所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分包含该第一子结构域的5'末端核碱基。

374.如实施例371-373中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

375.如实施例374所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

376.如实施例374所述的寡核苷酸,其中一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F或2'-OR,其中R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

377.如实施例374所述的寡核苷酸,其中一个或多个经修饰的糖独立地是2'-F或2'-OMe。

378. 如实施例371-377中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分包含一个或多个错配。

379. 如实施例371-378中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分包含一个或多个摇摆。

380. 如实施例371-379中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分与靶核酸约60-100% (例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多) 互补。

381. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含具有约3-8个核碱基的长度的3'末端部分。

382. 如实施例381所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分具有约1-3个核碱基的长度。

383. 如实施例381或382所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含该第一子结构域的3'末端核碱基。

384. 如实施例381-383中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

385. 如实施例384所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

386. 如实施例384所述的寡核苷酸,其中一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。

387. 如实施例384-386中任一项所述的寡核苷酸,其中没有经修饰的糖包含2'-OMe。

388. 如实施例381-387中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分的每个糖独立地包含两个2'-H或2'-F修饰。

389. 如实施例371-377中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含一个或多个错配。

390. 如实施例371-378中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含一个或多个摇摆。

391. 如实施例371-379中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分与靶核酸约60-100% (例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多) 互补。

392. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域包含约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 经修饰的核苷酸间键联。

393. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、

90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

394.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

395.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

396.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

397.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

398.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

399.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是手性受控的。

400.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的手性核苷酸间键联是手性受控的。

401.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

402.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

403.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一子结构域中至少约1-50个(例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)手性核苷酸间键联是 $Sp$ 。

404. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域中至少5%-100% (例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

405. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域中的每个手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

406. 如实施例1-405中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域的第一核苷与第二核苷之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 。

407. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域中的每个核苷酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

408. 如实施例1-406中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

409. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域能够将ADAR蛋白募集到靶核酸, 或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

410. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域能够使ADAR蛋白与靶核酸相互作用, 或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

411. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域与具有酶活性的结构域接触。

412. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

413. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第一子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

414. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域具有约1-10个 (例如, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个) 核碱基的长度。

415. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域具有约1-5个 (例如, 约1、2、3、4或5个) 核碱基的长度。

416. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域具有约1、2或3个核碱基的长度。

417. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域具有3个核碱基的长度。

418. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域包含与靶腺苷相对的核苷。

419. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二结构域包含一个且不超过一个与靶腺苷相对的核苷。

420. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互

补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

421.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个或更多个错配。

422.如实施例1-420中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个且不多于一个错配。

423.如实施例1-420中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个且不多于两个错配。

424.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

425.如实施例424所述的寡核苷酸,其中每个凸出部分独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摇摆对的碱基对。

426.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含一个或多个(例如,1-10,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆对。

427.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个或更多个摇摆对。

428.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时,该第二子结构域包含两个且不多于两个摇摆对。

429.如实施例1-419中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域与靶核酸完全互补。

430.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个包含两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。

431.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含一个或多个包含2'-OH的糖(例如,天然RNA糖)。

432.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含约1-10个(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)经修饰的糖。

433.如实施例432所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

434.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域不含包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

435.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域不含包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

436.如实施例432所述的寡核苷酸,其中每个2'-修饰的糖是包含2'-F修饰的糖。

437.如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖是无环糖(例如,UNA糖)。

438.如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖包含两个

2'-H。

439. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖包含2'-OH。

440. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖是天然DNA糖。

441. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖被修饰。

442. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖包含2'-F。

443. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含两个2'-H。

444. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含2'-OH。

445. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

446. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含2'-F。

447. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含两个2'-H。

448. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含2'-OH。

449. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

450. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)包含2'-F。

451. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖、与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)和与相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)各自独立地是天然DNA糖。

452. 如实施例1-435中任一项所述的寡核苷酸,其中该相对的核苷的糖是天然DNA糖,与该相对的核苷5'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>...3'中的N<sub>1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)是2'-F修饰的糖,并且与该相对的核苷3'-相邻的核苷的糖(5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>...3'中的N<sub>-1</sub>的糖,其中当与靶标比对时,N<sub>0</sub>与靶腺苷相对)是天然DNA糖。

453. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含连接到该相对的核苷的5'-侧的5'末端部分。

454. 如实施例450所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该5'末端部分包含一个或多个错配或摇摆。

455. 如实施例450或454所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分具有1、2或3个核碱基的长度。

456. 如实施例450-455中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分的糖选自具

有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)和2'-F修饰的糖。

457.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含连接到该相对的核苷的3'-侧的3'末端部分。

458.如实施例457所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3'末端部分包含一个或多个错配或摇摆。

459.如实施例457所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3'末端部分包含一个或多个错配和/或摇摆。

460.如实施例457所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3'末端部分包含一个或多个摇摆。

461.如实施例457所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含I或其衍生物。

462.如实施例457所述的寡核苷酸,其中当与靶核酸进行互补性比对时,该3'末端部分包含I和I-C摇摆。

463.如实施例457-462中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分具有1、2或3个核碱基的长度。

464.如实施例457-463中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分的糖选自具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)和2'-F修饰的糖。

465.如实施例457-463中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分的糖是具有两个2'-H的糖(例如,天然DNA糖)。

466.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域包含约1-10个(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的核苷酸间键联。

467.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中约5%-100%(例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

468.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中约50%-100%(例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

469.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

470.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第二子结构域中的每个经修

饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

471. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中的每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

472. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 手性核苷酸间键联是手性受控的。

473. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中至少5%-100% (例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的手性核苷酸间键联是手性受控的。

474. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中的每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

475. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 手性核苷酸间键联是Sp。

476. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中至少约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 手性核苷酸间键联是Rp。

477. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中至少5%-100% (例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的手性核苷酸间键联是Sp。

478. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中的每个手性核苷酸间键联是Sp。

479. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域中的每个核苷

酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

480. 如实施例1-478中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

481. 如实施例1-478中任一项所述的寡核苷酸, 其中该相对的核苷通过天然磷酸酯键联连接到其5'紧邻核苷。

482. 如实施例1-480中任一项所述的寡核苷酸, 其中该相对的核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其5'紧邻核苷。

483. 如实施例1-482中任一项所述的寡核苷酸, 其中该相对的核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷。

484. 如实施例1至483中任一项所述的寡核苷酸, 其中与相对的核苷(位置0) 3'紧邻的核苷(位置-1)通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷(位置-2)。

485. 如实施例482-484中任一项所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。

486. 如实施例482-485中任一项所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

487. 如实施例482-485中任一项所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

488. 如实施例482-485中任一项所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。

489. 如实施例485-488中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是手性受控的。

490. 如实施例485-489中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是Rp。

491. 如实施例485-489中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是Sp。

492. 如实施例481-491中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'紧邻核苷包含经修饰的糖。

493. 如实施例481-491中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'紧邻核苷包含含有2'-F修饰的经修饰的糖。

494. 如实施例481-491中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'紧邻核苷包含含有两个2'-H的糖(例如, 天然DNA糖)。

495. 如实施例1-478和480-494中任一项所述的寡核苷酸, 其中该相对的核苷通过天然磷酸酯键联连接到其3'紧邻核苷。

496. 如实施例1-478和480-494中任一项所述的寡核苷酸, 其中该相对的核苷通过经修饰的核苷酸间键联连接到其3'紧邻核苷。

497. 如实施例496所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是手性核苷酸间键联。

498. 如实施例496或497所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

499. 如实施例496或497所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

500. 如实施例496或497所述的寡核苷酸, 其中该经修饰的核苷酸间键联是带中性电荷的核苷酸间键联。

501. 如实施例497-500中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是手性受控的。

502. 如实施例497-501中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是Rp。

503. 如实施例497-501中任一项所述的寡核苷酸, 其中该手性核苷酸间键联是Sp。

504. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'紧邻核苷包含经修饰的糖。

505. 如实施例503所述的寡核苷酸, 其中该3'紧邻核苷包含含有2'-F修饰的经修饰的糖。

506. 如实施例503所述的寡核苷酸, 其中该3'紧邻核苷包含含有两个2'-H的糖(例如, 天然DNA糖)。

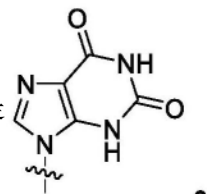
507. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'-紧邻核苷包含不是G的碱基。

508. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'-紧邻核苷包含空间位阻小于G的碱基。

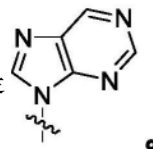
509. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'-紧邻核苷包含核碱基, 该核碱基是或包含具有式BA-VI的结构环BA。

510. 如实施例507-509中任一项所述的寡核苷酸, 其中环BA是如实施例232-298中任一项所述的环BA。

511. 如实施例507-510中任一项所述的寡核苷酸, 其中该核碱基是



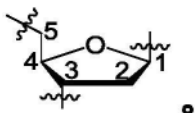
512. 如实施例507-510中任一项所述的寡核苷酸, 其中该核碱基是



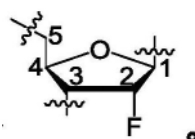
513. 如实施例507-510中任一项所述的寡核苷酸, 其中该核碱基是次黄嘌呤。

514. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中靶核酸包含5'-CA-3', 其中A是靶腺苷。

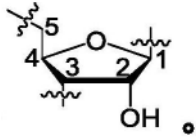
515. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中5'紧邻核苷中的糖是或包含



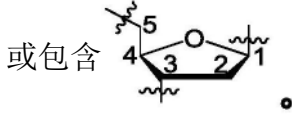
516. 如实施例1-514中任一项所述的寡核苷酸, 其中5'紧邻核苷中的糖是或包含



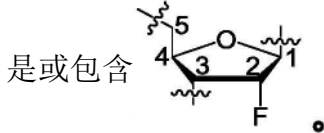
517. 如实施例1-514中任一项所述的寡核苷酸, 其中5'紧邻核苷中的糖是或包含



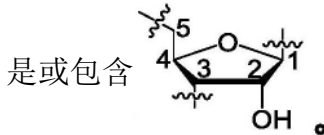
518. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶核苷相对的核苷中的糖是



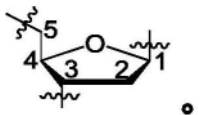
519. 如实施例1-517中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶核苷相对的核苷中的糖



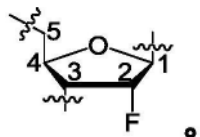
520. 如实施例1-517中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶核苷相对的核苷中的糖



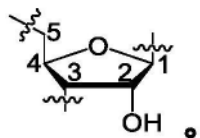
521. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中3'紧邻核苷中的糖是或包含



522. 如实施例1-520中任一项所述的寡核苷酸, 其中3'紧邻核苷中的糖是或包含



523. 如实施例1-520中任一项所述的寡核苷酸, 其中3'-紧邻核苷中的糖是或包含



524. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域能够将ADAR蛋白募集到靶核酸, 或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

525. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域能够使ADAR蛋白与靶核酸相互作用, 或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

526. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域与具有酶活性的结构域接触。

527. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

528. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

529. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域具有约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等)核碱基的长度。

530. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域具有约1-10个(例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)核碱基的长度。

531. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含一个或多个(例如, 1-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)错配。

532. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含两个或更多个错配。

533. 如实施例1-531中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含一个且不多于一个错配。

534. 如实施例1-531中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含两个且不多于两个错配。

535. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含一个或多个(例如, 1-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)凸起。

536. 如实施例535所述的寡核苷酸, 其中每个凸出部分独立地包含一个或多个不是沃森-克里克或摇摆对的碱基对。

537. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含一个或多个(例如, 1-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)摇摆对。

538. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含两个或更多个摇摆对。

539. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸进行互补性比对时, 该第三子结构域包含两个且不多于两个摇摆对。

540. 如实施例1-530中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域与靶核酸完全互补。

541. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域包含约1-50个(例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)独立地具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

542. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中约5%-100%(例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-

85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

543. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50%-100% (例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是具有不是2'-F的修饰的经修饰的糖。

544. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含约1-50个 (例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等)经修饰的糖,其独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

545. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

546. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50%-100% (例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的糖独立地是选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖的经修饰的糖,其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

547. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖,其中每个R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

548. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个

个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-NH<sub>2</sub>修饰的经修饰的糖。

549. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)LNA糖。

550. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)无环糖(例如,UNA糖)。

551. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-F修饰的经修饰的糖。

552. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OH的糖。

553. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含两个2'-H的糖。

554. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OR修饰的经修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

555. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含一个或多个(例如,约1-20,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)包含2'-OMe修饰的经修饰的糖。

556. 如实施例1-546中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。

557. 如实施例556所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OR修饰,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基,或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰,其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。

558. 如实施例556所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中的每个糖独立地包含2'-OMe。

559. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含具有约1-8个核碱基的长度的5'末端部分。

560. 如实施例559所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分具有约1、2或3个核碱基的长度。

561. 如实施例559或560所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分与该第二子结构域键合。

562. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸,其中该5'末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

563. 如实施例562所述的寡核苷酸,其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如,LNA糖)、无环糖(例如,UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖,其中每个

R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

564. 如实施例562所述的寡核苷酸, 其中一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。

565. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分的一个或多个糖独立地包含两个2'-H(例如, 天然DNA糖)。

566. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分的一个或多个糖独立地包含2'-OH(例如, 天然RNA糖)。

567. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分的糖独立地包含两个2'-H(例如, 天然DNA糖)或2'-OH(例如, 天然RNA糖)。

568. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分的糖独立地是天然DNA或RNA糖。

569. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分包含一个或多个错配。

570. 如实施例559-561中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分包含一个或多个摇摆。

571. 如实施例559-570中任一项所述的寡核苷酸, 其中该5'末端部分与靶核酸约60-100%(例如, 66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)互补。

572. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域包含具有约1-8个核碱基的长度的3'末端部分。

573. 如实施例572所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分具有约1、2、3或4个核碱基的长度。

574. 如实施例572或573所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分包含该第三子结构域的3'末端核碱基。

575. 如实施例572-574中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分中的一个或多个糖独立地是经修饰的糖。

576. 如实施例575所述的寡核苷酸, 其中这些经修饰的糖独立地选自双环糖(例如, LNA糖)、无环糖(例如, UNA糖)、具有2'-OR修饰的糖或具有2'-N(R)<sub>2</sub>修饰的糖, 其中每个R独立地是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

577. 如实施例575-576中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或多个经修饰的糖独立地包含2'-F。

578. 如实施例575-576中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中至少20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、90%或95%的糖独立地包含2'-F。

579. 如实施例575-578中任一项所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分中的一个或多个糖独立地包含2'-OR修饰, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基, 或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。

580. 如实施例579所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分中的每个糖独立地包含2'-OR修饰, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基, 或2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰。

581. 如实施例579-580中任一项所述的寡核苷酸, 其中L<sup>B</sup>是任选地经取代的-CH<sub>2</sub>-。

582. 如实施例579-580中任一项所述的寡核苷酸, 其中L<sup>B</sup>是-CH<sub>2</sub>-。

583. 如实施例579所述的寡核苷酸, 其中该3'末端部分中的每个糖独立地包含2'-

OMe。

584. 如实施例572-583中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含一个或多个错配。

585. 如实施例572-584中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分包含一个或多个摇摆。

586. 如实施例572-585中任一项所述的寡核苷酸,其中该3'末端部分与靶核酸约60-100% (例如,66%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多) 互补。

587. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域包含约1-50个 (例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 经修饰的核苷酸间键联。

588. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约5%-100% (例如,约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

589. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中约50%-100% (例如,约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%,50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联。

590. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是手性核苷酸间键联。

591. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域的最后一个核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

592. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

593. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个经修饰的核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或中性核苷酸间键联。

594. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第三子结构域中至少约1-50个 (例如,约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个,或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 手性核苷酸

间键联是手性受控的。

595. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中至少5%-100% (例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的手性核苷酸间键联是手性受控的。

596. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域的最后核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是手性受控的。

597. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个手性核苷酸间键联独立地是手性受控的核苷酸间键联。

598. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中至少约1-50个 (例如, 约5、6、7、8、9或10-约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个, 或约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、30、40或50个等, 约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个等) 手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

599. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中至少5%-100% (例如, 约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

600. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中的每个手性核苷酸间键联是 $S_p$ 。

601. 如实施例1-599中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域的最后核苷与倒数第二个核苷之间的核苷酸间键联是 $R_p$ 。

602. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中连接该第二子结构域的最后核苷和该第三子结构域的第一个核苷的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

603. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在位置-2处的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

604. 如实施例602-603中任一项所述的寡核苷酸, 其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。

605. 如实施例604所述的寡核苷酸, 其中该不带负电荷的核苷酸间键联是 $R_p$ 。

606. 如实施例604所述的寡核苷酸, 其中该不带负电荷的核苷酸间键联是 $S_p$ 。

607. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域中的每个核苷

酸间键联独立地是经修饰的核苷酸间键联。

608. 如实施例1-606中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域包含一个或多个天然磷酸酯键联。

609. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域能够将ADAR蛋白募集到靶核酸, 或促进或有助于将ADAR蛋白募集到靶核酸。

610. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域能够使ADAR蛋白与靶核酸相互作用, 或促进或有助于ADAR蛋白与靶核酸相互作用。

611. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域与具有酶活性的结构域接触。

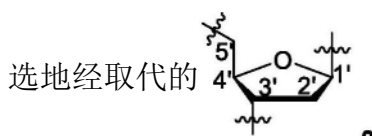
612. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域与具有ADAR1脱氨酶活性的结构域接触。

613. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第三子结构域与具有ADAR2脱氨酶活性的结构域接触。

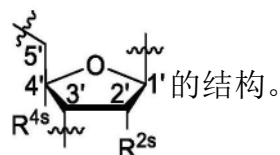
614. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个摇摆碱基对独立地是G-U、I-A、G-A、I-U、I-C、I-T、A-A或反向A-T。

615. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个摇摆碱基对独立地是G-U、I-A、G-A、I-U或I-C。

616. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个环糖或每个糖独立地是任



617. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个环糖或每个糖独立地具有



618. 如实施例617所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{2s}$ 和 $R^{4s}$ 是H。

619. 如实施例617-618中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{2s}$ 是-OR, 并且 $R^{4s}$ 是H。

620. 如实施例617-619中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{2s}$ 是-OR, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-4}$ 烷基并且 $R^{4s}$ 是H。

621. 如实施例617-620中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{2s}$ 是-OMe并且 $R^{4s}$ 是H。

622. 如实施例617-621中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{2s}$ 是-F并且 $R^{4s}$ 是H。

623. 如实施例617-622中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个糖, 其中 $R^{4s}$ 和 $R^{2s}$ 形成具有任选地经取代的2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的结构桥。

624. 如实施例617-622中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个

个糖,其中R<sup>4s</sup>和R<sup>2s</sup>形成具有2'-O-CH<sub>2</sub>-4'的结构的桥。

625.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含另外的化学部分。

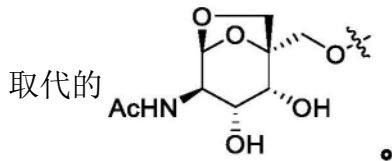
626.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含靶向部分。

627.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含碳水化合物部分。

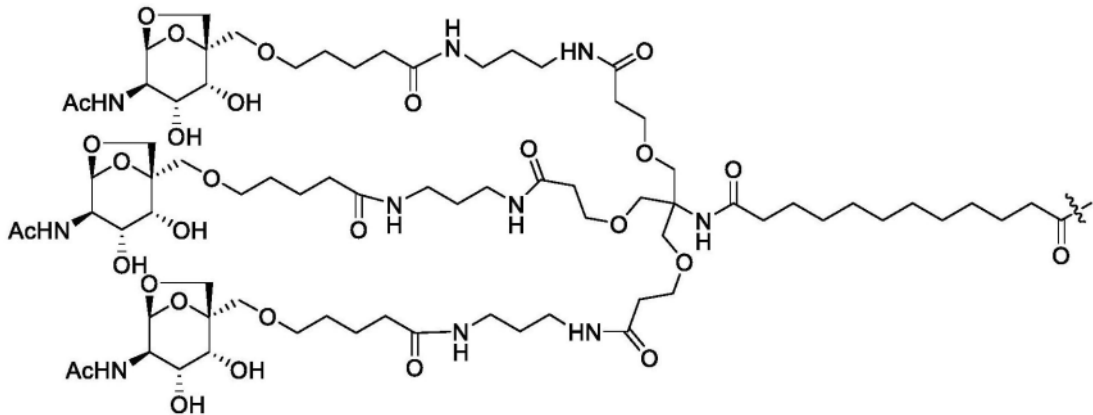
628.如实施例623-627中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含脱唾液酸糖蛋白受体的配体。

629.如实施例623-628中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含GalNAc或其衍生物。

630.如实施例623-629中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含任选地经



631.如实施例623-629中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分是或包含任选地经取代的



632.如实施例623-631中任一项所述的寡核苷酸,其中该部分通过接头连接到寡核苷酸链。

633.如实施例632所述的寡核苷酸,其中该接头是或包含L001。

634.如实施例633所述的寡核苷酸,其中L001通过磷酸酯基团连接到寡核苷酸链的5'末端5'-碳

635.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中另外的化学部分是或包含核酸部分。

636.如实施例635所述的寡核苷酸,其中该核酸是或包含适体。

637.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈盐形式。

638.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

639.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈钠盐形式。

640.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸呈铵盐形式。

641. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中如果有的话, 至少一个或每个中性核苷酸间键联独立地是n001。

642. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中如果有的话, 每个不带负电荷的核苷酸间键联独立地是n001。

643. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中不超过5、6、7、8、9、10、11或12个核苷位于与靶腺苷相对的核苷的3'。

644. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中不超过5、6、7、8、9、10、11或12个核苷位于与靶核苷相对的核苷的3', 其中这些核苷中的每一个独立地是任选地经取代的A、T、C、G、U或其互变异构体。

645. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位于与靶腺苷相对的核苷的3'的约50%-100% (例如, 约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)的核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联。

646. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位于与靶腺苷相对的核苷的3'的约50%-100% (例如, 约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%)的核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联或不带负电荷的核苷酸间键联。

647. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶腺苷相对的核苷的3'不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

648. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶腺苷相对的核苷的3'不超过1、2或3个核苷酸间键联是R<sub>p</sub>核苷酸间键联。

649. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶腺苷相对的核苷的3'不超过1、2或3个核苷酸间键联是R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。

650. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶核苷相对的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是-1位)之间的核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。

651. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶核苷相对的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是-1位)之间的核苷酸间键联是手性受控的R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。

652. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶核苷相对的核苷与其3'紧邻核苷(被认为是-1位)之间的核苷酸间键联是手性受控的S<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。

653. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在其糖的3'-位(被认为是-1位)处键合至与靶核苷相对的核苷的核苷酸间键联是R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联, 并且任选地只有R<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联位于与靶腺苷相对的核苷的3'。

654. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在其糖的3'-位(被认为是-1位)处键合至与靶核苷相对的核苷的核苷酸间键联是S<sub>p</sub>硫代磷酸酯核苷酸间键联。

655. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在其糖的3'-位(被认为是-1位)处键合至与靶核苷相对的核苷的核苷酸间键联是立体随机硫代磷酸酯核苷酸间键联。

656. 如实施例1-649中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶核苷相对的核苷的3'紧邻核苷与下一个3'紧邻核苷之间的核苷酸间键联(例如, 5'...N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>...3'的N<sub>-1</sub>与N<sub>-2</sub>之

间的位置-2,其中 $N_0$ 表示与靶核苷相对的核苷)是不带负电荷的核苷酸间键联。

657.如实施例656所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

658.如实施例656所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。

659.如实施例656所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

660.如实施例656所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。

661.如实施例656-660中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

662.如实施例656-660中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

663.如实施例656-660中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025或n026。

664.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

665.如实施例664所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

666.如实施例664所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。

667.如实施例664所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

668.如实施例664所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。

669.如实施例664-668中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

670.如实施例664-668中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

671.如实施例664-668中任一项所述的寡核苷酸,其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

672.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中最后一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

673.如实施例672所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是立体随机的。

674.如实施例672所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的。

675.如实施例672所述的寡核苷酸,其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

676. 如实施例672所述的寡核苷酸, 其中该不带负电荷的核苷酸间键联是手性受控的并且是Rp。

677. 如实施例672-676中任一项所述的寡核苷酸, 其中不带负电荷的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

678. 如实施例672-676中任一项所述的寡核苷酸, 其中不带负电荷的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

679. 如实施例672-676中任一项所述的寡核苷酸, 其中不带负电荷的核苷酸间键联是n001。

680. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置-3处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

681. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置-6处的核苷酸间键联不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

682. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶核苷相对的核苷的位置-4和/或-5处的核苷酸间键联是经修饰的核苷酸间键联, 例如硫代磷酸酯核苷酸间键联。

683. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶核苷相对的核苷在从5'末端起的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远处。

684. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶核苷相对的核苷在从3'末端起的位置2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30或更远处。

685. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置4。

686. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置5。

687. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置6。

688. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置7。

689. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置8。

690. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置9。

691. 如实施例683或684所述的寡核苷酸, 其中该位置是位置10。

692. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 位于与靶腺苷相对的核苷的5'的约50%-100% (例如, 约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%) 的核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联, 其任选地是手性受控的。

693. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 位于与靶核苷 (例如, 靶腺苷) 相对的核苷的5'的约50%-100% (例如, 约或至少约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%) 的硫代磷酸酯核苷酸间键联各自是手性受控的并且是Sp。

694. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在与靶腺苷相对的核苷的5'没有或不超过1、2或3个核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

695. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 在相对于与靶核苷相对的核苷的位置+5处的核苷酸间键联 (例如, 对于 $\cdots N_{+5} N_{+4} N_{+3} N_{+2} N_{+1} N_0 \cdots$ , 连接 $N_{+4}$ 和 $N_{+5}$ 的核苷酸间键联, 其中 $N_0$ 是与靶核苷相对的核苷) 不是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

696. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是经修饰的核苷酸间键联, 其任选地是手性受控的。

697. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+6至+8处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联, 其任选地是手性受控的。

698. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+6、+7、+8、+9和+11处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

699. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在相对于与靶腺苷相对的核苷的位置+5、+6、+7、+8和+9处的一个或多个或所有核苷酸间键联各自独立地是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

700. 如前述实施例中任一项所述的寡聚核苷酸, 其中该寡聚核苷酸与PiZZ等位基因(例如, atcgacAagaaaggactgaagc)具有约50%-100%(例如, 约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 或至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)的互补性。

701. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列, 其中每个U可以独立地替代为T, 并且反之亦然。

702. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列, 其中每个U可以独立地替代为T, 并且反之亦然。

703. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

704. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

705. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCIUCGA, 其中每个U可以独立地替代为T, 并且反之亦然。

706. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UCCCUUUCTCGUCGA, 其中每个U可以独立地替代为T, 并且反之亦然。

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

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

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

含与UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

710.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

711.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

712.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

713.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCIUCGA,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

714.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含UUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

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

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

717.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

718.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

719.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

720.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

721.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

722.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

723.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTCGUCGA,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

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

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

726.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每

个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

727. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

728. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

729. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含与CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU在不超过1、2、3、4或5个位置处不同的序列。

730. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

731. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

732. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU,其中每个U可以独立地替代为T,并且反之亦然。

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

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

735. 如实施例1-724中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

736. 如实施例1-724中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的碱基序列是CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUUCTUIUCGAU。

737. 如实施例1-724中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的碱基序列是或包含CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUCUAIUCGAU。

738. 如实施例1-724中任一项所述的寡核苷酸,其中所述寡核苷酸的碱基序列是CCCAGCAGCUUCAGUCCCUUCUAIUCGAU。

739. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I和z dnp的核苷的任选地被保护的核碱基。

740. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A和b007C的核苷的任选地被保护的核碱基。

741. 一种寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I和z dnp的核苷的任选地被保护的核碱基。

742. 一种寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A和

b007C的核苷的任选地被保护的核碱基。

743. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b001U。

744. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b002U。

745. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b003U。

746. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b004U。

747. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b005U。

748. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b006U。

749. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b007U。

750. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b008U。

751. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b009U。

752. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b011U。

753. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b012U。

754. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b013U。

755. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b001A。

756. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b002A。

757. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b003A。

758. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b001G。

759. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b002G。

760. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b001C。

761. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b002C。

762. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b003C。

763. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b004C。

764. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b005C。

765. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b006C。

766. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b007C。

767. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b008C。

768. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b009C。

769. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b002I。

770. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b003I。

771. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b004I。

772. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基b014I。

773. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核碱基和zdnP。

774. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含选自aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnP和Tsm18的任选地被保护的核苷。

775. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17和Tsm18的任选地被保护的核苷。

776. 一种寡核苷酸,其包含选自aC、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b010U、b011U、b012U、b013U、b001A、b001rA、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b003mC、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b002I、b003I、b004I、b014I、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm04、Csm11、Gsm11、Tsm11、b009Csm11、b009Csm12、Gsm12、Tsm12、Csm12、rCsm13、rCsm14、Csm15、Csm16、Csm17、L034、zdnP和Tsm18

的任选地被保护的核苷。

777. 一种寡核苷酸,其包含选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17和Tsm18的任选地被保护的核苷。

778. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含选自Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17和Tsm18的核苷的任选地被保护的糖。

779. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷aC。

780. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b001U。

781. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b002U。

782. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b003U。

783. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b004U。

784. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b005U。

785. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b006U。

786. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b007U。

787. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b008U。

788. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b009U。

789. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b010U。

790. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b011U。

791. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b012U。

792. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b013U。

793. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b001A。

794. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b001rA。

795. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b002A。

796. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b003A。

797. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b001G。

798. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b002G。

799. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b001C。

800. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b002C。

801. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b003C。

802. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b003mC。

803. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b004C。

804. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b005C。

805. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b006C。

806. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b007C。

807. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b008C。

808. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b002I。

809. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b003I。
810. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b004I。
811. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b014I。
812. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Asm01。
813. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Gsm01。
814. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷5MSfC。
815. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Usm04。
816. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷5MRdT。
817. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm04。
818. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm11。
819. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Gsm11。
820. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Tsm11。
821. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b009Csm11。
822. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷b009Csm12。
823. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Gsm12。
824. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Tsm12。
825. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm12。
826. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷rCsm13。
827. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷rCsm14。
828. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm15。
829. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm16。
830. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Csm17。
831. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的无碱基核苷。
832. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的L010。
833. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷L034。
834. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷zdnP。
835. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含任选地被保护的核苷Tsm18。
836. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个任选地被保护的核碱基或核苷分别独立地是任选地经取代的核碱基或核苷。
837. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个任选地被保护或经取代的核碱基或核苷分别未被保护或经取代。
838. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含具有 $-Y-P(=W)(-X-R^L)-Z-$ 结构的核苷酸间键联。
839. 一种寡核苷酸,其包含具有 $-Y-P(=W)(-X-R^L)-Z-$ 结构的核苷酸间键联。

840. 如实施例838或839所述的寡核苷酸,其中W是O。
841. 如实施例838或839所述的寡核苷酸,其中W是S。
842. 如实施例838-841中任一项所述的寡核苷酸,其中Y是-O-。
843. 如实施例838-842中任一项所述的寡核苷酸,其中Z是共价键。
844. 如实施例838-842中任一项所述的寡核苷酸,其中Z是-O-。
845. 一种寡核苷酸,其包含含有-X-R<sup>L</sup>的核苷酸间键联。
846. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含含有-X-R<sup>L</sup>的核苷酸间键联。
847. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-N(R')SO<sub>2</sub>R",其中R"是R'、-OR'、或-N(R')<sub>2</sub>。
848. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHSO<sub>2</sub>R",其中R"是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。
849. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHSO<sub>2</sub>R",其中R"是甲基。
850. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHSO<sub>2</sub>R",其中R"是任选地经取代的苯基。
851. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含n002。
852. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含n006。
853. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含n020。
854. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其包含-OP(=O)(NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)O-。
855. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中最前一个、两个或三个核苷酸间键联各自独立地是如实施例847-854中任一项所述的核苷酸间键联。
856. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中最后一个、两个或三个核苷酸间键联各自独立地是如实施例847-854中任一项所述的核苷酸间键联。
857. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中一个或多个内部核苷酸间键联各自独立地是如实施例847-854中任一项所述的核苷酸间键联。
858. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-N(R')C(O)R",其中R"是R'、-OR'或-N(R')<sub>2</sub>。
859. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)R",其中R"是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。
860. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)R",其中R"是甲基。
861. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)R",其中R"是任选地经取代的苯基。
862. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)R",其中R"是-OR'。
863. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-NHC(O)R",其中R"是-N(R')<sub>2</sub>。
864. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中-X-R<sup>L</sup>是-N(R')P(O)(R")<sub>2</sub>,其中每个R"独立地是R'、-OR'或-N(R')<sub>2</sub>。

865. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中 $-X-R^L$ 是 $-N(R')P(S)(R'')_2$ ,其中每个 $R''$ 独立地是 $R'$ 、 $-OR'$ 或 $-N(R')$ 。

866. 如实施例838-846中任一项所述的寡核苷酸,其中 $-X-R^L$ 选自表L-1、L-2、L-3、L-4、L-5或L-6。

867. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约20%-90%(例如,约20%-80%、20%-70%、30%-90%、30%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)是2'-F修饰的糖。

868. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)是2'-F修饰的糖。

869. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约30%-60%(例如,约40%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)是2'-F修饰的糖。

870. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约65%是2'-F修饰的糖。

871. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约70%是2'-F修饰的糖。

872. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约75%是2'-F修饰的糖。

873. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约80%是2'-F修饰的糖。

874. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约85%是2'-F修饰的糖。

875. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的至少约90%是2'-F修饰的糖。

876. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约20%-90%(例如,约20%-80%、20%-70%、30%-90%、30%-80%、30%-70%、30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

877. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约30%-70%(例如,约30%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

878. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有糖中的约30%-60%(例如,约40%-60%、30%-50%、约30%、40%、50%、60%或70%)各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H。

879. 如实施例876-878中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

880. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

881. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是2'-MOE修饰

的糖。

882. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是双环糖。

883. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是LNA糖。

884. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中2'-OR修饰的糖是cEt糖。

885. 如实施例876-878中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

886. 如实施例876-878中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

887. 如实施例876-878中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖,其中至少一个是2'-OMe修饰的糖并且至少一个是一种2'-MOE修饰的糖。

888. 如实施例876-878中任一项所述的寡核苷酸,其中每个2'-OR修饰的糖是2'-OMe修饰的糖。

889. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域包含一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F嵌段和一个或多个(例如,1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)分隔嵌段,其中每个2'-F嵌段中的每个糖独立地是2'-F修饰的糖,并且其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是不同于2'-F的糖的糖。

890. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在2个或更多个2'-F嵌段。

891. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在3个或更多个2'-F嵌段。

892. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在4个或更多个2'-F嵌段。

893. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在5个或更多个2'-F嵌段。

894. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在2个或更多个分隔嵌段。

895. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在3个或更多个分隔嵌段。

896. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在4个或更多个分隔嵌段。

897. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第一结构域中存在5个或更多个分隔嵌段。

898. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-修饰的糖。

899. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中分隔嵌段中的糖独立地是2'-OR糖,其中R不是-H。

900. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖, 其中R不是-H。

901. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的糖独立地是2'-OR糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

902. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段独立地包含2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

903. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖或双环糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

904. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

905. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

906. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

907. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

908. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的糖是2'-OME修饰的糖。

909. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

910. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

911. 如实施例1-897中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-OMe修饰的糖。

912. 如实施例1-897中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个分隔嵌段中的每个糖独立地是2'-MOE修饰的糖。

913. 如实施例889-912中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个2'-F嵌段中独立地存在约1-20个(例如, 1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)2'-F修饰的糖。

914. 如实施例889-912中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个2'-F嵌段中存在约1-10个, 例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个2'-F修饰的糖。

915. 如实施例889-912中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2、3、4或5个2'-F修饰的糖。

916. 如实施例889-912中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个2'-F嵌段中存在约1、2或3个2'-F修饰的糖。

917. 如实施例889-916中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个分隔嵌段中独立地存在约1-20个(例如, 1-20、1-15、1-14、1-13、1-12、1-11、1-10、2-20、3-15、4-15、5-15、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个等)糖。

918. 如实施例889-916中任一项所述的寡核苷酸, 其中在每个分隔嵌段中存在约

1-10个,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个糖。

919.如实施例889-916中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分隔嵌段中存在约1、2、3、4或5个糖。

920.如实施例889-916中任一项所述的寡核苷酸,其中在每个分隔中存在约1、2或3个糖。

921.如实施例889-920中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中与第一结构域中的2'-F嵌段键合的每个嵌段是分隔嵌段。

922.如实施例889-921中任一项所述的寡核苷酸,其中第一结构域中与第一结构域中的分隔嵌段键合的每个嵌段是2'-F嵌段。

923.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含两个或更多个2'-F修饰的糖嵌段,其中每个2'-F修饰的糖嵌段独立地包含以下或由以下组成:2、3、4、5、6、7、8、9或10个连续的2'-F修饰的糖,其中每两个连续的2'-F修饰的糖嵌段被分隔嵌段独立地分隔,该分隔嵌段包含一个或多个独立地不是2'-F修饰的糖的糖并且无连续2'-F修饰的糖。

924.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中所有硫代磷酸酯核苷酸间键联的至少50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%(例如50%-100%、60%-100%、70%-100%、75%-100%、80%-100%、90%-100%、95%-100%、60%-95%、70%-95%、75%-95%、80%-95%、85%-95%、90%-95%、50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或99%,等),或所有硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

925.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域在该第二结构域的5'侧。

926.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该第一结构域在该第二结构域的3'侧。

927.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中在该第二结构域中,该第一子结构域在该第二子结构域的5'侧,并且该第三子结构域在该第二子结构域的3'侧。

928.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3',其中N<sub>-1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>1</sub>中的每个独立地是核苷。

929.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>-3',其中N<sub>2</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>和N<sub>-2</sub>中的每个独立地是核苷。

930.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>N<sub>-3</sub>-3',其中N<sub>3</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>、N<sub>-2</sub>和N<sub>-3</sub>中的每个独立地是核苷。

931.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>4</sub>N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>N<sub>-3</sub>N<sub>-4</sub>-3',其中N<sub>4</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>、N<sub>-2</sub>、N<sub>-3</sub>和N<sub>-4</sub>中的每个独立地是核苷。

932.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>5</sub>N<sub>4</sub>N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>N<sub>-3</sub>N<sub>-4</sub>N<sub>-5</sub>-3',其中N<sub>5</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>、N<sub>-2</sub>、N<sub>-3</sub>、N<sub>-4</sub>和N<sub>-5</sub>中的每个独立地是核苷。

933.如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含5'-N<sub>6</sub>N<sub>5</sub>N<sub>4</sub>N<sub>3</sub>N<sub>2</sub>N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>N<sub>-2</sub>N<sub>-3</sub>N<sub>-4</sub>N<sub>-5</sub>N<sub>-6</sub>-3',其中各N<sub>6</sub>、N<sub>5</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>、N<sub>-2</sub>、N<sub>-3</sub>、N<sub>-4</sub>、N<sub>-5</sub>和N<sub>-6</sub>中的每个独立地是核苷。

934. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该第二子结构域包含5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3', 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中的每个独立地是核苷。

935. 一种寡核苷酸, 其包含如本披露中所述的5'- $N_1N_0N_{-1}$ -3'。

936. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时,  $N_0$ 与靶腺苷相对。

937. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中的每个独立地具有2'-F修饰的糖、天然RNA糖或没有2'-取代基取代天然RNA糖的2'-OH的糖。

938. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中的每个独立地具有2'-F修饰的糖、天然RNA糖或没有2'-取代基的糖。

939. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中的每个独立地具有2'-F修饰的糖、天然RNA糖或天然DNA糖。

940. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中不超过一个具有2'-F修饰的糖。

941. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 、 $N_0$ 和 $N_1$ 中不超过一个具有天然RNA糖。

942. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 的糖是2'-F修饰的糖。

943. 如实施例1-941任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置不包含取代基的糖。

944. 如实施例1-941中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是不包含2'-取代基的糖。

945. 如实施例1-941中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 的糖是天然DNA糖。

946. 如实施例1-941中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 的糖是天然RNA糖。

947. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是经修饰的糖。

948. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是2'-F修饰的糖。

949. 如实施例1-946任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置不包含取代基的糖。

950. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是不包含2'-取代基的糖。

951. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是5'-修饰的糖。

952. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是5'-Me修饰的糖。

953. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是糖是非环状糖。

954. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是糖是sm01。

955. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是糖是sm15。

956. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是糖是经取代的天然DNA糖, 其2'-H中的一个经-OH或-F取代, 并且另一个2'-H未经取代。

957. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是天然DNA糖。

958. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的糖是天然RNA糖。

959. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的核碱基是C。

960. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_0$ 的核碱基是次黄嘌呤。

961. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是T。
962. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是A。
963. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是G。
964. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是U。
965. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b001U。
966. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b002U。
967. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b003U。
968. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b004U。
969. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b005U。
970. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b006U。
971. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b007U。
972. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b008U。
973. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b009U。
974. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b011U。
975. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b012U。
976. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b013U。
977. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b001A。
978. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b002A。
979. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b003A。
980. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b001G。
981. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b002G。
982. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b001C。
983. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b002C。
984. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b003C。
985. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b004C。
986. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b005C。
987. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b006C。
988. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b007C。
989. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b008C。
990. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b009C。
991. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b002I。
992. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b003I。
993. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b004I。
994. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是b014I。
995. 如实施例1-958中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 的核碱基是zndp。
996. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dC。
997. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fU。
998. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dU。
999. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fA。

1000. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dA。
1001. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fT。
1002. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dT。
1003. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fC。
1004. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fG。
1005. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dG。
1006. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是dI。
1007. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是fI。
1008. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是aC。
1009. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是m5dC。
1010. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是5MRm5dC。
1011. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是5MSm5dC。
1012. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b001G。
1013. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b002G。
1014. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b001C。
1015. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b002C。
1016. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b003C。
1017. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b003mC。
1018. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b004C。
1019. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b005C。
1020. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b006C。
1021. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b007C。
1022. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b008C。
1023. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b009C。
1024. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b001A。
1025. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b002A。
1026. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b003A。
1027. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b001U。
1028. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b002U。
1029. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b003U。
1030. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b004U。
1031. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b005U。
1032. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b006U。
1033. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b007U。
1034. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b008U。
1035. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b009U。
1036. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b010U。
1037. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b011U。
1038. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b012U。

1039. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b013U。
1040. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b002I。
1041. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b003I。
1042. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b004I。
1043. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b014I。
1044. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Asm01。
1045. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Gsm01。
1046. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Tsm01。
1047. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是5MSfC。
1048. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Usm04。
1049. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是5MRdT。
1050. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm04。
1051. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm11。
1052. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Gsm11。
1053. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Tsm11。
1054. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b009Csm11。
1055. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b009Csm12。
1056. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Gsm12。
1057. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Tsm12。
1058. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm12。
1059. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是rCsm13。
1060. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是rCsm14。
1061. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm15。
1062. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm16。
1063. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm17。
1064. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是无碱基的。
1065. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是L010。
1066. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是L034。
1067. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Csm15。
1068. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是Tsm18。
1069. 如实施例1-946中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 是b001rA。
1070. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或zdnp。
1071. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是经修饰的核碱基。
1072. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是2'-F修饰的糖。
1073. 如实施例1-1070任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是在对应于天然RNA糖

的2'-OH的位置不包含取代基的糖。

1074. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是不包含2'-取代基的糖。

1075. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是天然DNA糖。

1076. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是天然RNA糖。

1077. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dA、dT、dC、dG、dU、fA、fT、fC、fG或fU。

1078. 如实施例1-1076中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或zdnP。

1079. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b001A。

1080. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b002A。

1081. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b003A。

1082. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b001C。

1083. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b004C。

1084. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b007C。

1085. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b008C。

1086. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b008U。

1087. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b010U。

1088. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b011U。

1089. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b012U。

1090. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Csm11。

1091. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Csm12。

1092. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Csm17。

1093. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b009Csm11。

1094. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b009Csm12。

1095. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Gsm01。

1096. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Gsm11。

1097. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Gsm12。

1098. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Tsm01。

1099. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Tsm11。

1100. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Tsm12。

1101. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是Tsm18。

1102. 如实施例1-1070中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是L010。

1103. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是经修饰的糖。

1104. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是2'-F修饰的糖。

1105. 如实施例1-1102任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的糖是在对应于天然RNA糖的2'-OH的位置不包含取代基的糖。

1106. 如实施例1-1102中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的糖是不包含2'-取代基的糖。

1107. 如实施例1-1102中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的糖是天然DNA糖。

1108. 如实施例1-1102中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的糖是天然RNA糖。

1109. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时, $N_1$ 和 $N_{-1}$ 均与其对应的核苷互补。

1110. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中当该寡核苷酸与靶核酸比对时, $N_1$ 和 $N_{-1}$ 中的至少一个独立地产生错配或摇摆碱基配对。

1111. 如实施例1110的寡核苷酸,其中与参考寡核苷酸相比,该寡核苷酸提供相当或更高的靶腺苷编辑水平,其中该参考寡核苷酸在其他方面相同但具有的 $N_1$ 和 $N_{-1}$ 在该参考寡核苷酸与该靶核酸比对时与其对应的核苷互补,其中该靶腺苷在该寡核苷酸与该靶核酸比对时与 $N_0$ 相对。

1112. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是A、T、C、G、U、次黄嘌呤、b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b007U、b008U、b009U、b011U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b001G、b002G、b001C、b002C、b003C、b004C、b005C、b006C、b007C、b008C、b009C、b002I、b003I、b004I、b014I或zdnp。

1113. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是经修饰的核碱基。

1114. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是次黄嘌呤。

1115. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是C。

1116. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是T。

1117. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是A。

1118. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是G。

1119. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是U。

1120. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b001U。

1121. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b002U。

1122. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b003U。

1123. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b004U。

1124. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b005U。

1125. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b006U。

1126. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b007U。

1127. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b008U。

1128. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b009U。

1129. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b011U。

1130. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b012U。

1131. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b013U。

1132. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b001A。

1133. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b002A。

1134. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 的核碱基是b003A。

1135. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b001G。
1136. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b002G。
1137. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b001C。
1138. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b002C。
1139. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b003C。
1140. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b004C。
1141. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b005C。
1142. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b006C。
1143. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b007C。
1144. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b008C。
1145. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b009C。
1146. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b002I。
1147. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b003I。
1148. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b004I。
1149. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是b014I。
1150. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 的核碱基是zndp。
1151. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dC。
1152. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fU。
1153. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dU。
1154. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fA。
1155. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dA。
1156. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fT。
1157. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dT。
1158. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fC。
1159. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fG。
1160. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dG。
1161. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是dI。
1162. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是fI。
1163. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是aC。
1164. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是m5dC。
1165. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是5MRm5dC。
1166. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是5MSm5dC。
1167. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b001G。
1168. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b002G。
1169. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b001C。
1170. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b002C。
1171. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b003C。
1172. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b003mC。
1173. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 是b004C。

1174. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b005C。
1175. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b006C。
1176. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b007C。
1177. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b008C。
1178. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b009C。
1179. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b001A。
1180. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b002A。
1181. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b003A。
1182. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b001U。
1183. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b002U。
1184. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b003U。
1185. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b004U。
1186. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b005U。
1187. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b006U。
1188. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b007U。
1189. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b008U。
1190. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b009U。
1191. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b010U。
1192. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b011U。
1193. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b012U。
1194. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b013U。
1195. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b002I。
1196. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b003I。
1197. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b004I。
1198. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b014I。
1199. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Asm01。
1200. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Gsm01。
1201. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是5MSfC。
1202. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Usm04。
1203. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是5MRdT。
1204. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm04。
1205. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm11。
1206. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Gsm11。
1207. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Tsm11。
1208. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b009Csm11。
1209. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b009Csm12。
1210. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Gsm12。
1211. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Tsm12。
1212. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm12。

1213. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是rCsm13。

1214. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是rCsm14。

1215. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm15。

1216. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm16。

1217. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm17。

1218. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是无碱基的。

1219. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是L010。

1220. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是L034。

1221. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Csm15。

1222. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是Tsm18。

1223. 如实施例1-1111中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_{-1}$ 是b001rA。

1224. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1225. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1226. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1227. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1228. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_2$ 的糖是经修饰的糖。

1229. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_2$ 的糖是2'-F修饰的糖。

1230. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1231. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1232. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_3$ 的糖是经修饰的糖。

1233. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_3$ 的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1234. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_3$ 的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1235. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_3$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1236. 如实施例1233所述的寡核苷酸,其中 $N_3$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1237. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_2$ 和 $N_3$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1238. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_4$ 的糖是经修饰的糖。

1239. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_4$ 的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1240. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸,其中 $N_4$ 的糖是2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1241. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1242. 如实施例1239所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1243. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_3$ 和 $N_4$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1244. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_5$ 的糖是经修饰的糖。

1245. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_5$ 的糖是2'-F修饰的糖。

1246. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 和 $N_5$ 之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1247. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 和 $N_5$ 之间的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

1248. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 和 $N_5$ 之间的核苷酸间键联是n001。

1249. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 和 $N_5$ 之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1250. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_6$ 的糖是经修饰的糖。

1251. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_6$ 的糖是2'-F修饰的糖。

1252. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_5$ 和 $N_6$ 之间的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1253. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_5$ 和 $N_6$ 之间的核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1254. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 的糖是经修饰的糖。

1255. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1256. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1257. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1258. 如实施例1255所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1259. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1260. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

1261. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1262. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是Rp n004、n008、n025、n026。

1263. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是Sp n004、n008、n025、n026。

1264. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_1$ 和 $N_2$ 之间的核苷酸间键联是n001。

1265. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1266. 如实施例1264所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是Sp n001。

1267. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-3}$ 的糖是经修饰的糖。

1268. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-3}$ 的糖是2'-F修饰的糖。

1269. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-2}$ 和 $N_{-3}$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1270. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 的糖是经修饰的糖。

1271. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1272. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1273. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1274. 如实施例1271所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1275. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-3}$ 和 $N_{-4}$ 之间的键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1276. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-3}$ 和 $N_{-4}$ 之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1277. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 的糖是经修饰的糖。

1278. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1279. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1280. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1281. 如实施例1278所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1282. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 和 $N_{-5}$ 之间的键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1283. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-4}$ 和 $N_{-5}$ 之间的键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1284. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-6}$ 的糖是经修饰的糖。

1285. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-6}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基或双环糖。

1286. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-6}$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1287. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-6}$ 的糖是2'-OMe修饰的糖。

1288. 如实施例1278所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-6}$ 的糖是2'-MOE修饰的糖。

1289. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1290. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 之间的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

1291. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 之间的核苷酸间键联是n001。

1292. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 之间的核苷酸间键联是Rp n001。

1293. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的糖的约20% - 80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-F修饰的糖。

1294. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的糖的约30% - 60%各自独立地是2'-F修饰的糖。

1295. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的糖的约20% - 80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1296. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的糖的约30% - 60%各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1297. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的糖的约30% - 60%各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1298. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的第一结构域中的糖的约20% - 80%、30-70%、30%-60%、30%-50%、40%-60%、20%、30%、40%、50%、60%、70%或80%各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1299. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的第一结构域中的糖的约30% - 60%各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1300. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸的第一结构域中的糖的约30% - 60%各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1301. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域的3'末端核苷是 $N_2$ 。

1302. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域的5'末端核苷是该寡核苷酸的5'末端核苷。

1303. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中约或至少约20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或90%的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 的脂肪族)独立地键合至天然磷酸酯键联。

1304. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 、 $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基, 或双环糖。

1305. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 、 $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1306. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-2}$ 、 $N_{-3}$ 、 $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 和 $N_{-6}$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OMe修饰的糖。

1307. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 和 $N_6$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-MOE修饰的糖。

1308. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_6$ 、 $N_7$ 和 $N_8$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基, 或双环糖。

1309. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_6$ 、 $N_7$ 和 $N_8$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1310. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_6$ 、 $N_7$ 和 $N_8$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-OMe修饰的糖。

1311. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_2$ 、 $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$ 、 $N_6$ 、 $N_7$ 和 $N_8$ 的一个或多个糖中的每个独立地是2'-MOE修饰的糖。

1312. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸或其部分(例如第一结构域、第二结构域等)中约或至少约50%的2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 的脂肪族)独立地键合至天然磷酸酯键联。

1313. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中至少60%、70%、80%或90%或所有天然磷酸酯键联各自独立地键合至至少一个经修饰的糖, 其是2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基)或双环糖。

1314. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10-80%、约10-75%、约10-70%、10%-60%、10-50%、10-40%、10-30%、15-40%、20-30%、25-30%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。

1315. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10-80%、约10-75%、约10-70%、10%-60%、10-50%、10-40%、10-30%、15-40%、20-30%、25-30%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是天然磷酸酯键联。

1316. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或多个位置+3( $N_{+4}$ 、 $N_{+3}$ 之间)、+4、+6、+8、+9、+12、+14、+15、+17和+18处的一个或多个核苷酸间键联独立地是天然磷酸酯键联。

1317. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1318. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、15%-40%、20%-30%、25%-30%、30%-70%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%或65%独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1319. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或多个位置+1( $N_{+1}$ 、 $N_0$ 之

间)、+2、+5、+6、+7、+8、+11、+14、+15、+16、+17、+19、+20、+21和+22处的一个或多个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1320. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1321. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1322. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。

1323. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是磷酸基胍核苷酸间键联。

1324. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中寡核苷酸中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是n001。

1325. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中第一结构域中所有核苷酸间键联的约5%-90%、约10%-80%、约10%-75%、约10%-70%、10%-60%、10%-50%、10%-40%、10%-30%、10%-20%、10%-15%、15%-40%、15%-35%、15%-30%、15%-25%、15%-20%、或约或至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%或50%独立地是n001。

1326. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+5 ( $N_{+5}N_{+4}$ 之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或所有处的一个或多个核苷酸间键联独立地是不带负电荷的核苷酸间键联。

1327. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+5 ( $N_{+5}N_{+4}$ 之间)、+10、+13或+23中的一个或多个或所有处的一个或多个核苷酸间键联独立地是磷酸胍核苷酸间键联。

1328. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+5 ( $N_{+5}N_{+4}$ 之间)、+10、+13

或+23中的一个或多个或所有处的一个或多个核苷酸间键联独立地是n001。

1329. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_4$ 的糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1330. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_3$ 和 $N_4$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1331. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在5个或更多个核苷。

1332. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在6个或更多个核苷。

1333. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在7个或更多个核苷。

1334. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在8个或更多个核苷。

1335. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在3个核苷。

1336. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在4个核苷。

1337. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在5个核苷。

1338. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在6个核苷。

1339. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在7个核苷。

1340. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在8个核苷。

1341. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在9个核苷。

1342. 如实施例1-1330中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的3'侧存在10个核苷。

1343. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在5个或更多个(例如, 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个或更多个)的核苷。

1344. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在8个或更多个核苷。

1345. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在10个或更多个核苷。

1346. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在15个或更多个核苷。

1347. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在16个或更多个核苷。

1348. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在17个或更多个核苷。

1349. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在18个或更多个核苷。

1350. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在19个或更多个核苷。

1351. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在20个或更多

个核苷。

1352. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在21个或更多个核苷。

1353. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在22个或更多个核苷。

1354. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在23个或更多个核苷。

1355. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在24个或更多个核苷。

1356. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在25个或更多个核苷。

1357. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在26个或更多个核苷。

1358. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在20个核苷。

1359. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在21个核苷。

1360. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在22个核苷。

1361. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在23个核苷。

1362. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在24个核苷。

1363. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在25个核苷。

1364. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在26个核苷。

1365. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在27个核苷。

1366. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在28个核苷。

1367. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在29个核苷。

1368. 如实施例1-1343中任一项所述的寡核苷酸, 其中在 $N_0$ 的5'侧存在30个核苷。

1369. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前1、2、3、4或5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1370. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前3个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1371. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前4个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1372. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1373. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前1、2、3、4或5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1374. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前3个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1375. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前4个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的 $C_{1-6}$ 脂肪族基。

1376. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1377. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前3个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1378. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前4个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1379. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前5个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1380. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1381. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1382. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前3个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1383. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前4个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1384. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端处的最前5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1385. 如实施例1-1380中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端的最前1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1386. 如实施例1-1380中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端的最前3个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1387. 如实施例1-1380中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端的最前4个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1388. 如实施例1-1380中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸5'末端的最前5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1389. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1390. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后3个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1391. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后4个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1392. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后5个糖各自独立地是可以增加稳定性的糖。

1393. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1394. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后3个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1395. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后4个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1396. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后5个糖各自独立地选自双环糖和2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1397. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后3个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1398. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后4个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1399. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后5个糖各自独立地是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1400. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1401. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1402. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后3个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1403. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后4个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1404. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端处的最后5个糖各自独立地是2'-OMe修饰的糖。

1405. 如实施例1-1400中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端的最后1、2、3、4或5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1406. 如实施例1-1400中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端的最后3个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1407. 如实施例1-1400中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端的最后4个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1408. 如实施例1-1400中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸3'末端的最后5个糖各自独立地是2'-MOE修饰的糖。

1409. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的5'末端开始的第一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1410. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的5'末端开始的第一个核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1411. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的5'末端开始的第一个核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

1412. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的5'末端开始的第一个核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1413. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的5'末端开始的第一个核苷酸间键联是n001。

1414. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从5'末端开始的第一个核苷

酸间键联是手性受控的并且是Rp。

1415. 如实施例1-1413中任一项所述的寡核苷酸, 其中从5'末端开始的第一个核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。

1416. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与从5'末端开始的第3个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1417. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与从5'末端开始的第4个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1418. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与从5'末端开始的第5个核苷键合的两个核苷酸间键联各自独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1419. 如实施例1416-1418中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的。

1420. 如实施例1419的寡核苷酸, 其中每个硫代磷酸酯核苷酸间键联是Sp。

1421. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的3'末端开始的第一个核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1422. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的3'末端开始的第一个核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1423. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的3'末端开始的第一个核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1424. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的3'末端开始的第一个核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1425. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从该寡核苷酸的3'末端开始的第一个核苷酸间键联是n001。

1426. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中从3'末端开始的第一个核苷酸间键联是手性受控的并且是Rp。

1427. 如实施例1-1426中任一项所述的寡核苷酸, 其中从3'末端开始的第一个核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。

1428. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与靶腺苷(位置0), 这样的核苷: $N_0$ ) 相对的核苷的糖是天然DNA糖。

1429. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+1处( $N_0$ 的紧邻5'侧的核苷; 即,  $5' \cdots N_{+1} N_0 \cdots 3'$ 的 $N_{+1}$ )的核苷的糖是天然DNA糖。

1430. 如实施例1-1428中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+1处( $N_0$ 的紧邻5'侧的核苷; 即,  $5' \cdots N_{+1} N_0 \cdots 3'$ 的 $N_{+1}$ )的核苷的糖是2'-F修饰的糖。

1431. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置+2( $5' \cdots N_{+2} N_{+1} N_0 \cdots 3'$ 的 $N_{+2}$ )的核苷的糖是2'-F修饰的糖。

1432. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置-1( $5' \cdots N_{+2} N_{+1} N_0 N_{-1} \cdots 3'$ 的 $N_{-1}$ )的核苷的糖是天然DNA糖。

1433. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置-2( $5' \cdots N_{+2} N_{+1} N_0 N_{-1} N_{-2} \cdots 3'$ 的 $N_{-2}$ )的核苷的糖是可以增加稳定性的糖。

1434. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置-2位( $5' \cdots N_{+2} N_{+1} N_0 N_{-1} N_{-2} \cdots 3'$ 的 $N_{-2}$ )的核苷的糖是可以增加稳定性的糖。

$1N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是双环糖或  $2'$ -OR 修饰的糖, 其中 R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。

1435. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -2 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是双环糖。

1436. 如实施例 1-1434 任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -2 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是  $2'$ -OR 修饰的糖, 其中 R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。

1437. 如实施例 1-1434 任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -2 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是  $2'$ -OMe 修饰的糖。

1438. 如实施例 1-1434 任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -2 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是  $2'$ -MOE 修饰的糖。

1439. 如实施例 1-1434 任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -2 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}\cdots 3'$  的  $N_{-2}$ ) 的核苷的糖是  $2'$ -MOE 修饰的糖。

1440. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中位置 -3 ( $5' \cdots N_{+2}N_{+1}N_0N_{-1}N_{-2}N_{-3}\cdots 3'$  的  $N_{-3}$ ) 的核苷的糖是  $2'$ -F 修饰的糖。

1441. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的每个糖独立地是可以增加稳定性的糖。

1442. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的每个糖独立地是双环糖或  $2'$ -OR 修饰的糖, 其中 R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。

1443. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的糖是双环糖。

1444. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的糖是  $2'$ -OR 修饰的糖, 其中 R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。

1445. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的糖是  $2'$ -OMe 修饰的糖。

1446. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的糖是  $2'$ -MOE 修饰的糖。

1447. 如实施例 1-1442 中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的每个糖独立地是  $2'$ -OR 修饰的糖, 其中 R 是任选地经取代的  $C_{1-6}$  脂肪族基。

1448. 如实施例 1-1442 中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的每个糖独立地是  $2'$ -OMe 修饰的糖。

1449. 如实施例 1-1442 中任一项所述的寡核苷酸, 其中在  $N_{-3}$  之后 (例如,  $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$  等) 的核苷的每个糖独立地是  $2'$ -MOE 修饰的糖。

1450. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与  $N_{+1}$  或  $N_0$  键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1451. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与  $N_{+1}$  或  $N_0$  键合的每个核苷酸间键联独立地是  $S_p$  硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1452. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中  $N_{-1}$  和  $N_{-2}$  之间的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。

1453. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1454. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。

1455. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1456. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是n001。

1457. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $R_p$ 。

1458. 如实施例1-1456中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

1459. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中 $N_{-2}$ 和 $N_{-3}$ 之间的核苷酸间键联是天然磷酸酯键联。

1460. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中与 $N_{-3}$ 之后(例如, $N_{-4}$ 、 $N_{-5}$ 、 $N_{-6}$ 等)的核苷键合的每个核苷酸间键联独立地是硫代磷酸酯核苷酸间键联, 除了从3'末端开始的第一个核苷酸间键联。

1461. 如实施例1460所述的寡核苷酸, 其中该硫代磷酸酯核苷酸间键联是手性受控的并且是 $S_p$ 。

1462. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中双环糖是LNA糖或cEt糖。

1463. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含1-10个(例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)天然磷酸酯键联。

1464. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含不超过5个(例如, 1、2、3、4或5个)天然磷酸酯键联。

1465. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含不超过10个(例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)n001。

1466. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含不超过10个(例如, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个)磷酸基胍核苷酸间键联。

1467. 一种寡核苷酸, 其包含双链体化区和靶向区, 其中靶向区是或包含如前述实施例中任一项所述的第二区。

1468. 一种寡核苷酸, 其包含双链体化区和靶向区, 其中靶向区是或包含如前述实施例中任一项所述的5' - $N_1N_0N_{-1}$ -3'。

1469. 如实施例1467-1468中任一项所述的寡核苷酸, 其中双链体化区能够与核酸(双链体化核酸)形成双链体。

1470. 如实施例1467-1469中任一项所述的寡核苷酸, 其中靶向区能够与包含靶腺苷的靶核酸形成双链体。

1471. 如实施例1467-1470中任一项所述的寡核苷酸, 其中双链体化核酸不是靶核酸。

1472. 如实施例1467-1470中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸是如实施例

1-1466中任一项所述的寡核苷酸。

1473. 如实施例1467-1472中任一项所述的寡核苷酸, 其中靶向区的长度是约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1474. 如实施例1467-1473中任一项所述的寡核苷酸, 其中双链体化区的长度是约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1475. 如实施例1467-1474中任一项所述的寡核苷酸, 其中双链体化寡核苷酸的长度是约或至少约10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷。

1476. 如实施例1467-1475中任一项所述的寡核苷酸, 其中双链体化寡核苷酸包含阶茎环。

1477. 如实施例1467-1476中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖、一个或多个经修饰的核苷酸间键联和一个或多个天然磷酸酯键联。

1478. 如实施例1467-1477中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸不是手性受控的。

1479. 如实施例1467-1478中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸包含一个或多个经修饰的糖和一个或多个经修饰的核苷酸间键联。

1480. 如实施例1467-1479中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有糖是经修饰的糖。

1481. 如实施例1467-1479中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有糖是2'-F修饰的糖。

1482. 如实施例1467-1479中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有糖是2'-OR修饰的糖, 其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1483. 如实施例1467-1479中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有糖是2'-OMe修饰的糖

1484. 如实施例1467-1483中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有核苷酸间键联被修饰。

1485. 如实施例1467-1484中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1486. 如实施例1467-1485中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸是手性受控的。

1487. 如实施例1467-1486中任一项所述的寡核苷酸, 其中该双链体化寡核苷酸中的大多数或所有核苷酸间键联是Sp硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1488. 如实施例1467-1487中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸及其双链体化寡核苷酸作为双链体施用。

1489. 如实施例1467-1487中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸及其双链体化寡核苷酸分开施用。

1490. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖、2'-F修饰的糖和2'-OR修饰的糖, 其中R任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。

1491. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个糖独立地选自天然DNA糖、天然RNA糖、2'-F修饰的糖和2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。

1492. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、不带负电荷的核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1493. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、中性核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1494. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、磷酸基胍核苷酸间键联和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1495. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个核苷酸间键联独立地选自天然磷酸酯键联、n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1496. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfU n001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1497. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmA\*SfG\*SfCmU\*SfU n001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1498. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SmCfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1499. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SmCmU\*SfU n001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1500. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SmCfC\*SfUn001RfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1501. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SfU\*SfUn001RfC\*SfAfGn001RfUmCmCfC\*SfU\*SmUmU\*SfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1502. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SfCmA\*SfG\*SfCmU\*SfUn001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfU\*SfU\*SmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1503. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofU n001RmCfA\*SfGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1504. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*SmCmAfG\*SfC\*SmUfUn001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RmUmUfC\*ST\*Sb008U\*SI n001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1505. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofU n001RmCfA\*SmGn001RfUmC\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*

SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1506. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofU n001RmCfA\*SmGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1507. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUmCmC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1508. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SmCTeo\*SmUn001RmCfA\*SfGn001RmUm5CeomC\*SfC\*SfU\*STeoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1509. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*Sm5CeoTeo\*SmUn001Rm5CeofA\*SfGn001RmUm5Ceom5Ceo\*SfC\*SfU\*STeoTeof C\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1510. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*SmUm Un001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SmCmUn001RmUTEofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1511. 一种寡核苷酸, 其具有Mod001L001mCn001RmC\*SmC\*SfA\*SfG\*Sm5CeoAeofG\*SfC\*STeofU n001RmCfA\*SfGn001RfUm5Ceo\*SfC\*SfC\*SfUn001RteoTeofC\*ST\*Sb008U\*SIn001SmUfC\*SmG\*SmAn001RmU的结构。

1512. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸呈盐形式。

1513. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸呈药学上可接受的盐形式。

1514. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或多个(例如, 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多)手性键联磷中心的非对映体过量独立地是约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1515. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或多个(例如, 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多)手性键联磷中心的非对映体过量独立地是约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1516. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个硫代磷酸酯键联磷的非对映体过量独立地是约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1517. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个硫代磷酸酯键联磷的非对映体过量独立地是约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1518. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个手性键联磷中心的非对映体过量独立地是约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1519. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个手性键联磷中心的非对映体过量独立地是约或至少约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

1520. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约10%-100% (例如, 约10%-95%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 或约或至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的纯度。

1521. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸, 其中该寡核苷酸具有约50%-100% (例如, 约50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 或至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等) 的纯度。

1522. 一种药物组合物, 该药物组合物包含或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或其药学上可接受的盐和药学上可接受的载剂。

1523. 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每个寡核苷酸独立地是如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

1524. 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每个寡核苷酸独立地是如实施例1637-1662中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

1525. 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”);

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,该部分包含靶腺苷。

1526.如实施例1525所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-10个(例如,0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10,0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等)不是沃森-克里克碱基对的错配。

1527.如实施例1525所述的组合物,其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补,具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

1528.如实施例1525所述的组合物,其中除了与靶腺苷相对的核苷,该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1529.如实施例1525所述的组合物,其中该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1530.如实施例1523-1529中任一项所述的组合物,其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时,该组合物能够靶向A至I。

1531.如实施例1523-1530中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

1532.如实施例1523-1531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共享相同的碱基修饰和糖修饰。

1533.如实施例1523-1532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共享相同的骨架手性中心模式。

1534.如实施例1523-1533中任一项所述的组合物,其中与没有核苷酸间键联是手性受控的寡核苷酸的立体随机制备物相比,该组合物富集该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1535.如实施例1523-1533中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同碱基序列以及相同碱基和糖修饰的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1536.如实施例1523-1533中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1537.如实施例1523-1536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的寡核苷酸或其一种或多种药学上可接受的盐。

1538.如实施例1523-1536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。

1539.如实施例1523-1536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构成。

1540.如实施例1539所述的组合物,其中该组合物中与该多个寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1541.如实施例1539所述的组合物,其中该组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1542.如实施例1523-1536中任一项所述的组合物,其中该多个寡核苷酸中的寡核

昔酸具有相同结构。

1543. 如实施例1523-1542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。

1544. 如实施例1523-1543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在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1545. 如实施例1523-1544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。

1546. 如实施例1523-1545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在一个或多个或不带负电荷的核苷酸间键联处不共享相同的键联磷立体化学。

1547. 一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列, 和

2) 独立地在一个或多个(例如, 约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联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每个寡核苷酸独立地是如前述权利要求中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

1548. 一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列, 和

2) 独立地在一个或多个(例如, 约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联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每个寡核苷酸独立地是如前述实施例和实施例1637-1662中任一项所述的寡核苷酸, 或其酸、碱或盐形式。

1549. 一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列, 和

2) 独立地在一个或多个(例如, 约1-50、1-40、1-30、1-25、1-20、1-15、1-10、5-50、5-40、5-30、5-25、5-20、5-15、5-10, 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25个或更多个)手性核苷酸间键联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每个寡核苷酸独立地是如实施例1637-1662中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

1550. 一种包含一种或多种多个寡核苷酸的寡核苷酸组合物, 其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享:

1) 共同碱基序列, 和

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

其中每种多个寡核苷酸的共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补, 该部分包含靶腺苷。

1551. 如实施例所述的组合物, 其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补, 具有0-10个(例如, 0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等) 不是沃森-克里克碱基对的错配。

1552. 如实施例1551所述的组合物, 其中每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地与核酸的一部分的碱基序列互补, 具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

1553. 如实施例1551所述的组合物, 其中除了与靶腺苷相对的核苷, 每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1554. 如实施例1551所述的组合物, 其中每种多个寡核苷酸的该共同碱基序列独立地在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1555. 如实施例1547-1554中任一项所述的组合物, 其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时, 每种多个寡核苷酸可以独立地编辑靶标A至I。

1556. 如实施例1547-1555中任一项所述的组合物, 其中靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

1557. 如实施例1547-1556中任一项所述的组合物, 其中该组合物包含两种或更多种(例如, 2、3、4、5、6、7、8、9、10种或更多种) 多个寡核苷酸。

1558. 如实施例1547-1557中任一项所述的组合物, 其中至少两种多个寡核苷酸的共同碱基序列是不同的。

1559. 如实施例1547-1558中任一项所述的组合物, 其中没有两种多个寡核苷酸共享相同的共同碱基序列。

1560. 如实施例1547-1559中任一项所述的组合物, 其中至少两种多个寡核苷酸靶向不同的腺苷。

1561. 如实施例1547-1560中任一项所述的组合物, 其中没有两种多个寡核苷酸靶向相同的腺苷。

1562. 如实施例1547-1561中任一项所述的组合物, 其中至少两种多个寡核苷酸靶向不同的转录物。

1563. 如实施例1547-1562中任一项所述的组合物, 其中没有两种多个寡核苷酸靶向相同的转录物。

1564. 如实施例1547-1563中任一项所述的组合物, 其中至少两种多个寡核苷酸靶向来自不同多核苷酸的转录物中的腺苷残基。

1565. 如实施例1547-1566中任一项所述的组合物, 其中没有两种多个寡核苷酸靶向来自相同多核苷酸的转录物。

1566. 如实施例1547-1565中任一项所述的组合物,其中至少两种多个寡核苷酸靶向来自不同基因的转录物中的腺苷残基。

1567. 如实施例1547-1566中任一项所述的组合物,其中没有两种多个寡核苷酸靶向来自相同基因的转录物。

1568. 如实施例1547-1567中任一项所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享该多个寡核苷酸内的相同碱基和糖修饰。

1569. 如实施例1547-1568中任一项所述的组合物,其中每种多个寡核苷酸中的寡核苷酸独立地共享该多个寡核苷酸内的相同骨架手性中心模式。

1570. 如实施例1547-1569中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,与没有核苷酸间键联是手性受控的多个寡核苷酸的立体随机制备物相比,该组合物富集该多个寡核苷酸。

1571. 如实施例1547-1570中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享该共同碱基序列以及相同碱基和糖修饰的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1572. 如实施例1547-1570中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1573. 如实施例1547-1572中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是相同的寡核苷酸或其一种或多种药学上可接受的盐。

1574. 如实施例1547-1573中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸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。

1575. 如实施例1547-1572中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同构成。

1576. 如实施例1575所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸共享相同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1577. 如实施例1575所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该组合物中共享相同构成的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1578. 如实施例1547-1577中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同结构。

1579. 如实施例1547-1578中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸各自独立地是药学上可接受的盐形式。

1580. 如实施例1547-1578中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸是钠盐。

1581. 如实施例1547-1580中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1582. 如实施例1547-1581中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核

苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸在10个或更多个手性核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1583.如实施例1547-1582中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1584.如实施例1547-1583中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸在每个硫代磷酸酯核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1585.如实施例1547-1584中任一项所述的组合物,其中独立地对于一种或两种或所有多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸不在一个或多个或任何不带负电荷的核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1586.如实施例1547-1585中任一项所述的组合物,其中独立地对于每种多个寡核苷酸,该多个寡核苷酸中的寡核苷酸不在一个或多个或任何不带负电荷的核苷酸间键联处共享相同的键联磷立体化学。

1587.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷酸的特征在于:

- a) 共同碱基序列;
- b) 共同骨架键联模式;
- c) 共同骨架手性中心模式;
- d) 共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性受控的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸;以及

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

1588.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷酸的特征在于:

- a) 共同碱基序列;
- b) 共同骨架键联模式;
- c) 共同骨架手性中心模式;
- d) 共同骨架磷修饰模式;

该组合物是手性受控的,因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物,富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸,或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸;以及

其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是如实施例1637-1662中任一项所述的寡核苷酸或其酸、碱或盐形式。

1589.一种包含属于特定寡核苷酸类型的多个寡核苷酸的组合物,该多个寡核苷

酸的特征在于：

- a) 共同碱基序列；
- b) 共同骨架键联模式；
- c) 共同骨架手性中心模式；
- d) 共同骨架磷修饰模式；

该组合物是手性受控的，因为该组合物相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物，富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸，或在该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸；以及

其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补，该部分包含靶腺苷。

1590. 如实施例1589所述的组合物，其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补，具有0-10个（例如，0-1、0-2、0-3、0-4、0-5、0-6、0-7、0-8、0-9、0-10、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4、2-5、2-6、2-7、2-8、2-9、2-10、3-4、3-5、3-6、3-7、3-8、3-9、3-10，0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个等）不是沃森-克里克碱基对的错配。

1591. 如实施例1589所述的组合物，其中该共同碱基序列与核酸的一部分的碱基序列互补，具有0-5个不是沃森-克里克碱基对的错配。

1592. 如实施例1589所述的组合物，其中除了与靶腺苷相对的核苷，该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1593. 如实施例1589所述的组合物，其中该共同碱基序列在该共同碱基序列的整个长度上与核酸的一部分的碱基序列100%互补。

1594. 如实施例1587-1593中任一项所述的组合物，其中当在表达ADAR的系统中与核酸接触时，该组合物能够靶向A至I。

1595. 如实施例1587-1594中任一项所述的组合物，其中该靶腺苷是与病症、障碍或疾病相关联的G至A突变。

1596. 如实施例1587-1595中任一项所述的组合物，其中相对于具有相同的共同碱基序列、骨架键联模式和骨架磷修饰模式的寡核苷酸的基本上外消旋的制备物，该组合物富集该特定寡核苷酸类型的寡核苷酸。

1597. 一种包含多个寡核苷酸的组合物，其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是如实施例1-1513中任一项所述的寡核苷酸。

1598. 一种包含多个寡核苷酸的组合物，其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐，其中该特定寡核苷酸是如实施例1-1513中任一项所述的寡核苷酸，其中该组合物中共享特定寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-

60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1599. 一种包含多个寡核苷酸的组合物,其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐,其中该特定寡核苷酸是如实施例1-1513中任一项所述的寡核苷酸,其中该组合物中共享该特定寡核苷酸或其盐的构成的所有寡核苷酸的至少约5%-100%、10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-100%、5%-90%、10%-90%、20-90%、30%-90%、40%-90%、50%-90%、5%-85%、10%-85%、20-85%、30%-85%、40%-85%、50%-85%、5%-80%、10%-80%、20-80%、30%-80%、40%-80%、50%-80%、5%-75%、10%-75%、20-75%、30%-75%、40%-75%、50%-75%、5%-70%、10%-70%、20-70%、30%-70%、40%-70%、50%-70%、5%-65%、10%-65%、20-65%、30%-65%、40%-65%、50%-65%、5%-60%、10%-60%、20-60%、30%-60%、40%-60%、50%-60%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1600. 一种包含多个寡核苷酸的组合物,其中该多个寡核苷酸中的每个寡核苷酸独立地是特定寡核苷酸或其盐,其中该特定寡核苷酸是表1的寡核苷酸。

1601. 如实施例1587-1600中任一项所述的组合物,其中该组合物中共享该共同碱基序列的所有寡核苷酸中的非随机水平是该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1602. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸的水平为约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

1603. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同碱基序列的多个寡核苷酸中的寡核苷酸的水平独立地是约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

1604. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸的水平为约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

1605. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中对于每种多个寡核苷酸,该组合物的寡核苷酸中共享该多个寡核苷酸的共同构成的多个寡核苷酸中的寡核苷酸的水平独立地是约或至少约(DS)<sup>nc</sup>,其中DS为约85%-100%(例如,约85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)并且nc为手性受控的核苷酸间键联的数目。

1606. 如实施例1523-1605中任一项所述的组合物,其中DS为约90%-100%(例如,约90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99.5%或更多)。

1607. 如实施例1602-1606中任一项所述的组合物,其中nc为约5-40(例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、

31、32、33、34、35、36、37、38、39或40)或更大。

1608. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中该水平为至少约10%-100%,或至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

1609. 如实施例1523-1601中任一项所述的组合物,其中该水平为至少约50%-100%,或至少约50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%。

1610. 一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的至少约10%-100%(例如约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等)独立地是该特定寡核苷酸或其盐。

1611. 一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的约30%-90%独立地是特定寡核苷酸或其盐。

1612. 一种包含特定寡核苷酸的组合物,其中该组合物中共享该寡核苷酸的碱基序列的所有寡核苷酸的约40%-90%独立地是特定寡核苷酸或其盐。

1613. 如实施例1610-1612中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸是如实施例1-1521中任一项所述的寡核苷酸。

1614. 如实施例1610-1613中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸是选自表1的寡核苷酸。

1615. 如实施例1610-1614中任一项所述的组合物,其中该特定寡核苷酸包含约或至少约5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30或更多个手性核苷酸间键联。

1616. 如实施例1610-1615中任一项的组合物,其中每种盐独立地是药学上可接受的盐。

1617. 如实施例1523-1616中任一项所述的组合物,其中当该组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时,该靶腺苷残基被修饰。

1618. 如实施例1617所述的组合物,其中该修饰是或包括由ADAR1进行的修饰。

1619. 如实施例1617或1618所述的组合物,其中该修饰是或包括由ADAR2进行的修饰。

1620. 如实施例1617-1619中任一项所述的组合物,其中该修饰在体外进行。

1621. 如实施例1617-1619中任一项所述的组合物,其中该样品是细胞。

1622. 如实施例1617-1621中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷被转化成肌苷。

1623. 如实施例1617-1622中任一项所述的组合物,其中该靶腺苷被修饰至比用可比较的参考寡核苷酸组合物所观察到的更大的程度。

1624. 如实施例1623所述的组合物,其中该参考寡核苷酸组合物不含该多个寡核苷酸中的寡核苷酸或包含更低水平的该多个寡核苷酸中的寡核苷酸。

1625. 如实施例1623-1624中任一项所述的组合物, 其中该参考组合物不含具有与该多个寡核苷酸相同的构成的寡核苷酸。

1626. 如实施例1623-1625中任一项所述的组合物, 其中该参考组合物不含具有与该多个寡核苷酸相同的结构的寡核苷酸。

1627. 如实施例1623所述的组合物, 其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物, 其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的2'-F修饰。

1628. 如实施例1623-1627中任一项所述的组合物, 其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物, 其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的2'-OMe修饰。

1629. 如实施例1623-1628中任一项所述的组合物, 其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物, 其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比具有不同的糖修饰模式。

1630. 如实施例1623-1629中任一项所述的组合物, 其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物, 其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的经修饰的核苷酸间键联。

1631. 如实施例1623-1630中任一项所述的组合物, 其中该参考寡核苷酸组合物是这样的组合物, 其与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同碱基序列的寡核苷酸与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸相比包含更低水平的硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1632. 如实施例1623-1631中任一项所述的组合物, 其中该参考组合物是立体随机寡核苷酸组合物。

1633. 如实施例1623所述的组合物, 其中该参考组合物是与该多个寡核苷酸中的寡核苷酸具有相同构成的寡核苷酸的立体随机寡核苷酸组合物。

1634. 如前述实施例中任一项所述的组合物, 其中该组合物不引起核酸的显著降解(例如, 不超过约5%-100%(例如, 不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

1635. 如前述实施例中任一项所述的组合物, 其中该组合物不引起该靶核酸中显著的外显子跳跃或改变的外显子包含(例如, 不超过约5%-100%(例如, 不超过约10%-100%、20-100%、30%-100%、40%-100%、50%-80%、50%-85%、50%-90%、50%-95%、60%-80%、60%-85%、60%-90%、60%-95%、60%-100%、65%-80%、65%-85%、65%-90%、65%-95%、65%-100%、70%-80%、70%-85%、70%-90%、70%-95%、70%-100%、75%-80%、75%-85%、75%-90%、75%-95%、75%-100%、80%-85%、80%-90%、80%-95%、80%-100%、85%-90%、85%-95%、85%-100%、90%-95%、90%-100%, 10%、20%、30%、40%、50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%等))。

1636. 如实施例1523-1635中任一项所述的组合物, 其中该组合物是药物组合物, 并且进一步包含药学上可接受的载剂。

1637. 一种寡核苷酸, 其中除了在经修饰的核苷酸间键联的位置处是具有 $-O^5-P^L(R^{CA})-O^3-$ 的结构键联外, 该寡核苷酸在其他方面与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸相同, 其中:

$P^L$ 是P或 $P(=W)$ ;

W是O、S或 $W^N$ ;

$R^{CA}$ 是或包含任选地经取代的或封端的手性助剂部分,

$O^5$ 是键合至糖的5'-碳的氧, 并且

$O^3$ 是键合至糖的3'-碳的氧。

1638. 如实施例1637所述的寡核苷酸, 其中该手性助剂被去除, 该键联被转化成经修饰的核苷酸间键联。

1639. 如实施例1637所述的寡核苷酸, 其中经修饰的核苷酸间键联是硫代磷酸酯核苷酸间键联。

1640. 如实施例1639所述的寡核苷酸, 其中当W被-SH代替并且 $R^{CA}$ 被O代替时,  $P^L$ 具有与该硫代磷酸酯核苷酸间键联的键联磷相同的构型。

1641. 如实施例1637-1640中任一项所述的寡核苷酸, 其中经修饰的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。

1642. 如实施例1637-1640中任一项所述的寡核苷酸, 其中经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。

1643. 如实施例1637-1640中任一项所述的寡核苷酸, 其中经修饰的核苷酸间键联是n004、n008、n025、n026。

1644. 如实施例1637-1640中任一项所述的寡核苷酸, 其中经修饰的核苷酸间键联是n001。

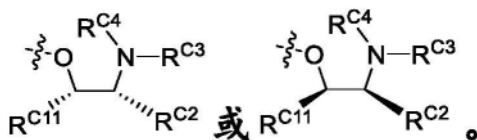
1645. 如实施例1637-1644中任一项所述的寡核苷酸, 其中在硫代磷酸酯核苷酸间键联的每个位置处独立地是具有 $-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$ 的结构键联。

1646. 如实施例1637-1644中任一项所述的寡核苷酸, 其中在经修饰的核苷酸间键联的每个位置处独立地是具有 $-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$ 的结构键联。

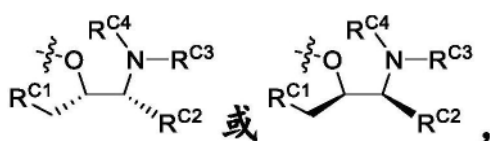
1647. 如实施例1637-1646中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个或每个W是S。

1648. 如实施例1637-1647中任一项所述的寡核苷酸, 其中一个且仅一个 $P^L$ 是P。

1649. 如实施例1637-1648中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个 $R^{CA}$ 独立地是



1650. 如实施例1637-1648中任一项所述的寡核苷酸, 其中每个 $R^{CA}$ 独立地是



其中 $R^{C1}$ 是R、 $-Si(R)_3$ 或 $-SO_2R$ ,  $R^{C2}$ 和 $R^{C3}$ 与居于它们之间

的原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和或部分不饱和环,该环除了氮原子外还具有0-2个杂原子, $R^{C4}$ 是-H或-C(O)R'。

1651.如实施例1649或1650所述的寡核苷酸,其中在键联中, $R^{C4}$ 是-C(O)R并且 $P^L$ 是P。

1652.如实施例1650-1651中任一项所述的寡核苷酸,其中在键联中, $R^{C4}$ 是-C(O)R并且W是S。

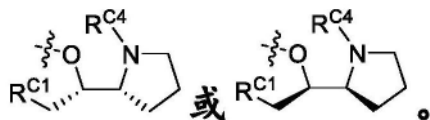
1653.如实施例1650-1652中任一项所述的寡核苷酸,其中在W是S的每个键联中, $R^{C4}$ 是-C(O)R'。

1654.如实施例1650-1653中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C4}$ 是-C(O)CH<sub>3</sub>。

1655.如实施例1650所述的寡核苷酸,其中在键联中, $R^{C4}$ 是-H并且 $P^L$ 是P。

1656.如实施例1650-1655中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C2}$ 和 $R^{C3}$ 与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元环。

1657.如实施例1650-1656中任一项所述的寡核苷酸,其中每个 $R^{CA}$ 独立地是



1658.如实施例1650-1657中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SiPh<sub>2</sub>Me。

1659.如实施例1650-1657中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SO<sub>2</sub>R。

1660.如实施例1650-1657中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SO<sub>2</sub>R,其中R是任选地经取代的C<sub>1-10</sub>脂肪族基。

1661.如实施例1650-1657中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SO<sub>2</sub>R,其中R是任选地经取代的苯基。

1662.如实施例1650-1657中任一项所述的寡核苷酸,其中 $R^{C1}$ 是-SO<sub>2</sub>R,其中R是苯基。

1663.一种亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的核碱基是如实施例1-1521中任一项所述的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

1664.一种亚磷酰胺,其中核碱基是或包含环BA,其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构,或环BA的互变异构体,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

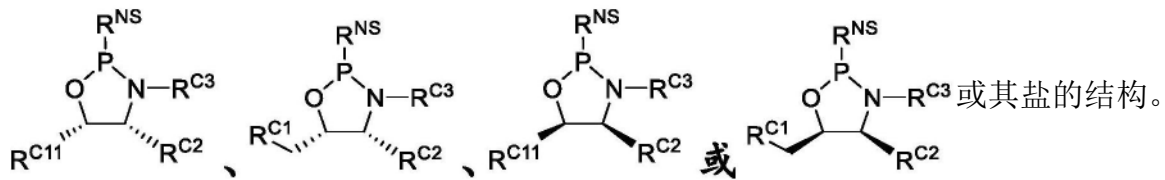
1665.如实施例1663-1664中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺的糖是如实施例1-1521中任一项所述的糖,其中该糖是任选地被保护的。

1666.如实施例1663-1665中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有 $R^{NS}$ -P(OR)N(R)<sub>2</sub>的结构,其中 $R^{NS}$ 是任选地被保护的核苷部分,并且每个R如本文所述。

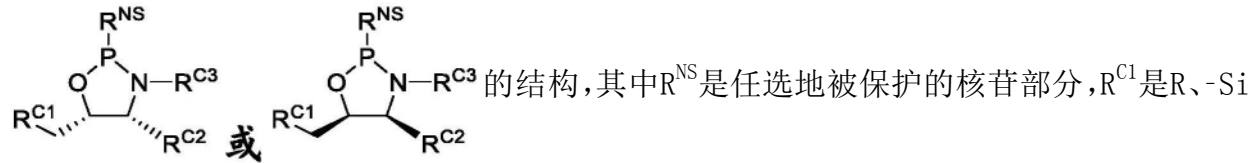
1667.如实施例1663-1665中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有 $R^{NS}$ -P(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)N(i-Pr)<sub>2</sub>的结构。

1668.如实施例1663-1665中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺包含手性助剂部分,其中该磷键合至该手性助剂部分的氧和氮原子。

1669.如实施例1663-1665或1668中任一项所述的亚磷酰胺,其中该亚磷酰胺具有



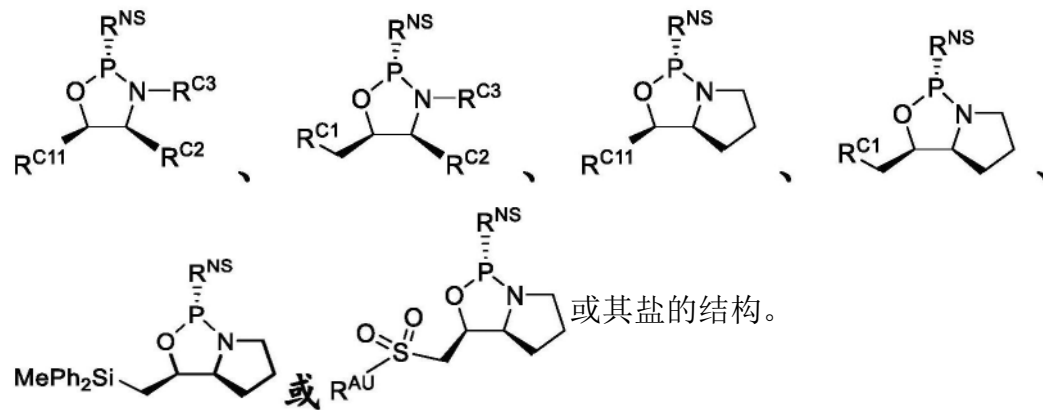
1670. 如实施例1663-1665或1668中任一项所述的亚磷酰胺, 其中该亚磷酰胺具有



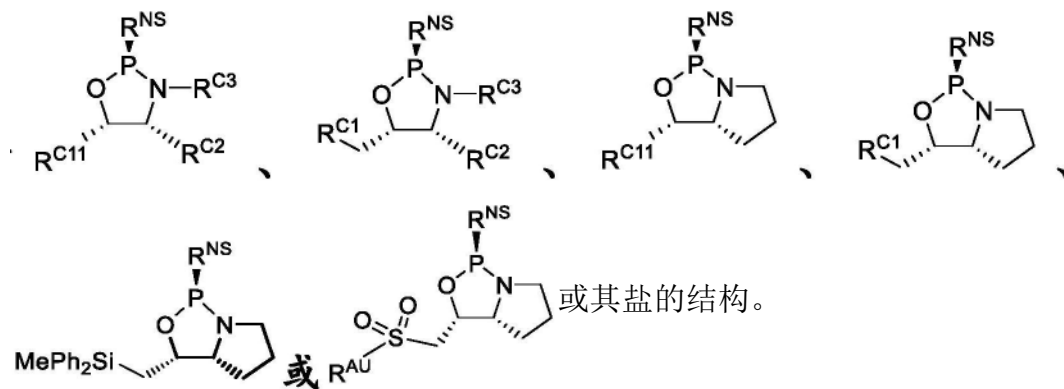
(R)<sub>3</sub>或-SO<sub>2</sub>R, R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>与居于它们之间的原子合在一起形成任选地经取代的3-7元饱和或部分不饱和环, 该环除了氮原子外还具有0-2个杂原子。

1671. 如实施例1669-1670中任一项所述的亚磷酰胺, 其中R<sup>C2</sup>和R<sup>C3</sup>与居于它们之间的原子合在一起形成除氮原子外不具有杂原子的任选地经取代的5元饱和环。

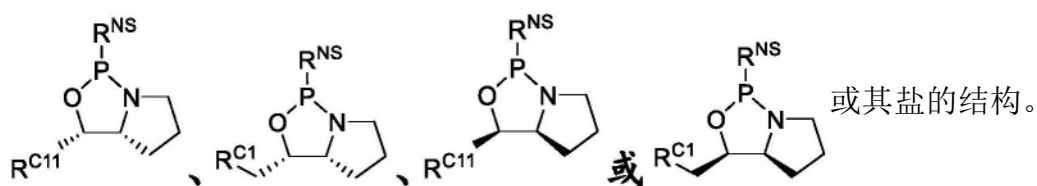
1672. 如实施例1669-1671中任一项所述的亚磷酰胺, 其中该亚磷酰胺具有



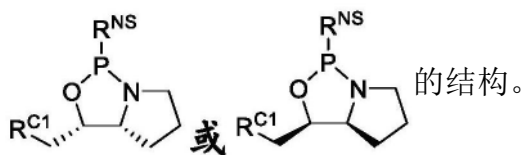
1673. 如实施例1669-1671中任一项所述的亚磷酰胺, 其中该亚磷酰胺具有



1674. 如实施例1669-1671中任一项所述的亚磷酰胺, 其中该亚磷酰胺具有



1675. 如实施例1669-1671中任一项所述的亚磷酰胺, 其中该亚磷酰胺具有



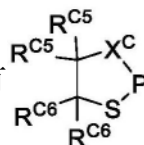
1676. 如实施例1669-1675中任一项所述的亚磷酰胺,其中 $R^{C1}$ 是 $-\text{SiPh}_2\text{Me}$ 。

1677. 如实施例1669-1675中任一项所述的亚磷酰胺,其中 $R^{C1}$ 是 $-\text{SO}_2\text{R}$ 。

1678. 如实施例1669-1675中任一项所述的亚磷酰胺,其中 $R^{C1}$ 是 $-\text{SO}_2\text{R}$ ,其中R是任选地经取代的 $\text{C}_{1-10}$ 脂肪族基。

1679. 如实施例1669-1675中任一项所述的亚磷酰胺,其中 $R^{C1}$ 是 $-\text{SO}_2\text{R}$ ,其中R是任选地经取代的苯基。

1680. 如实施例1669-1675任一项所述的亚磷酰胺,其中 $R^{C1}$ 是 $-\text{SO}_2\text{R}$ ,其中R是苯基。

1681. 一种具有  结构的化合物或其盐,其中 $R^{NS}$ 是任选的经取代/

被保护的核苷, $X^C$ 是O或S,并且 $R^{C5}$ 和 $R^{C6}$ 中的每个独立地是R。

1682. 如实施例1681所述的化合物,其中 $X^C$ 是O。

1683. 如实施例1681所述的化合物,其中 $X^C$ 是S。

1684. 如实施例1681-1683中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C5}$ 不是氢。

1685. 如实施例1681-1684中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C5}$ 是氢。

1686. 如实施例1681-1685中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C6}$ 不是氢。

1687. 如实施例1681-1686中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C6}$ 是氢。

1688. 如实施例1681-1687中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C5}$ 和一个 $R^{C6}$ 连同居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的3-20(例如,3-15、3-10、5-10、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20)元的具有0-5杂原子的单环、双环或多环。

1689. 如实施例1681-1687中任一项所述的化合物,其中一个 $R^{C5}$ 和一个 $R^{C6}$ 连同居于它们之间的原子一起形成任选地经取代的环己基环。

1690. 如实施例1681所述的化合物,其中 $-\text{X}^C-\text{C}(\text{R}^{C5})_2-\text{C}(\text{R}^{C6})_2-\text{S}-$ 是 $-\text{OCH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{S}-$ 。

1691. 如实施例1681所述的化合物,其中 $-\text{X}^C-\text{C}(\text{R}^{C5})_2-\text{C}(\text{R}^{C6})_2-\text{S}-$ 是 $-\text{SCH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{S}-$ 。

1692. 如实施例1666-1691中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中 $R^{NS}$ 的羟基被保护。

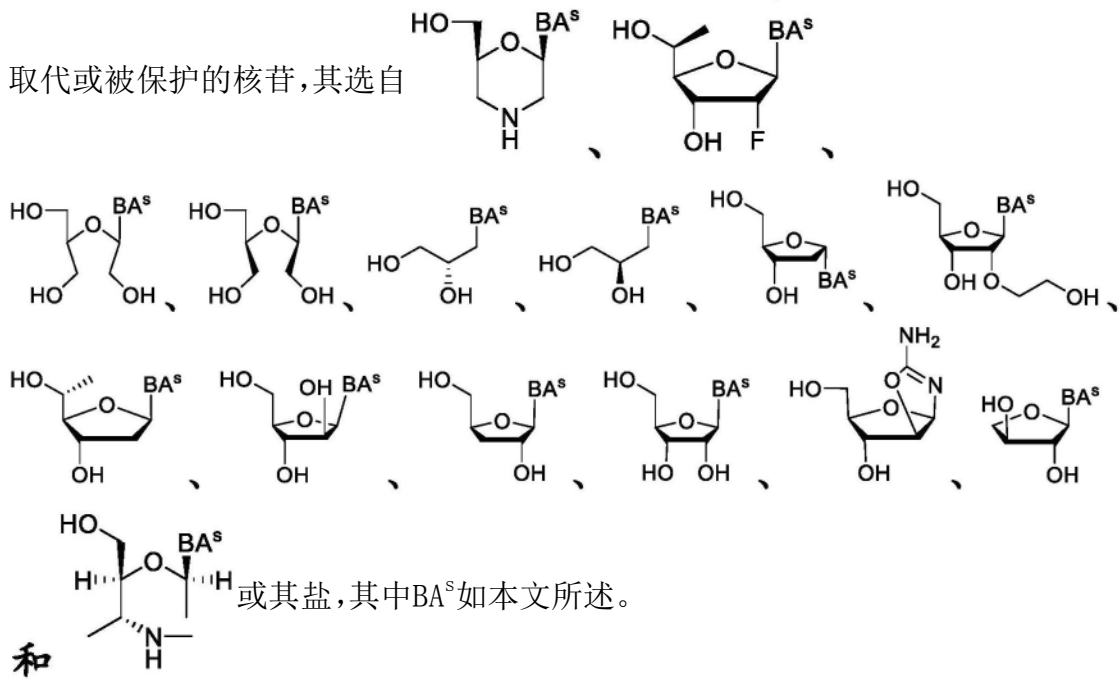
1693. 如实施例1666-1691中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中 $R^{NS}$ 的羟基被保护为 $-\text{ODMTr}$ 。

1694. 如实施例1666-1691中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中 $R^{NS}$ 的5'-OH被保护。

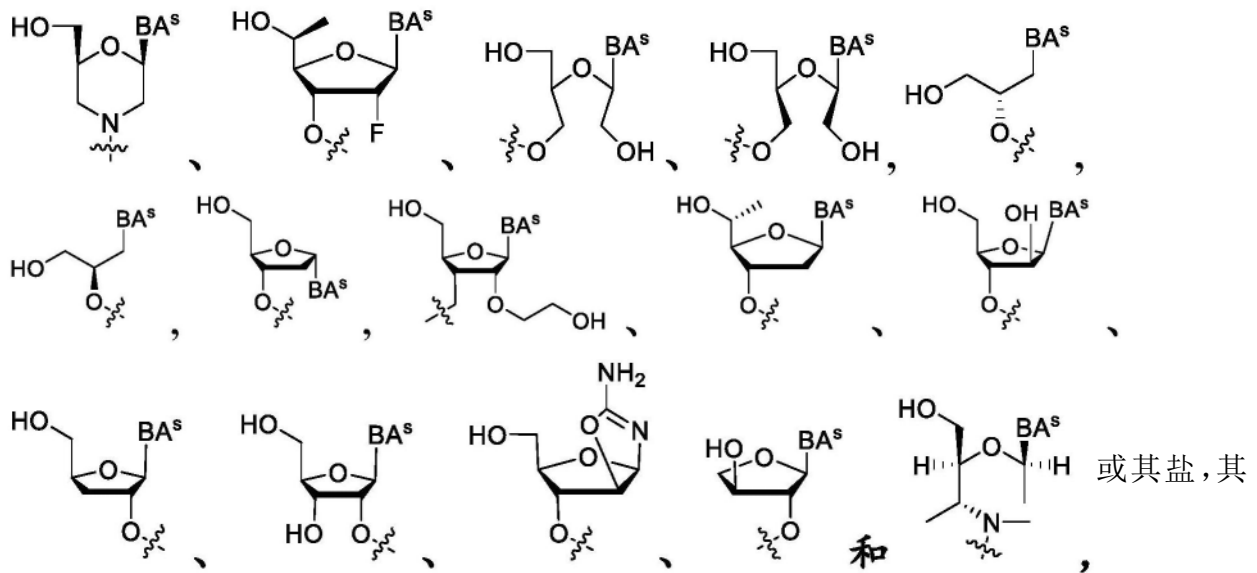
1695. 如实施例1694所述的亚磷酰胺或化合物,其中 $R^{NS}$ 的5'-OH被保护为 $-\text{ODMTr}$ 。

1696. 如实施例1666-1695中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中 $R^{NS}$ 是任选地经

取代或被保护的核苷,其选自

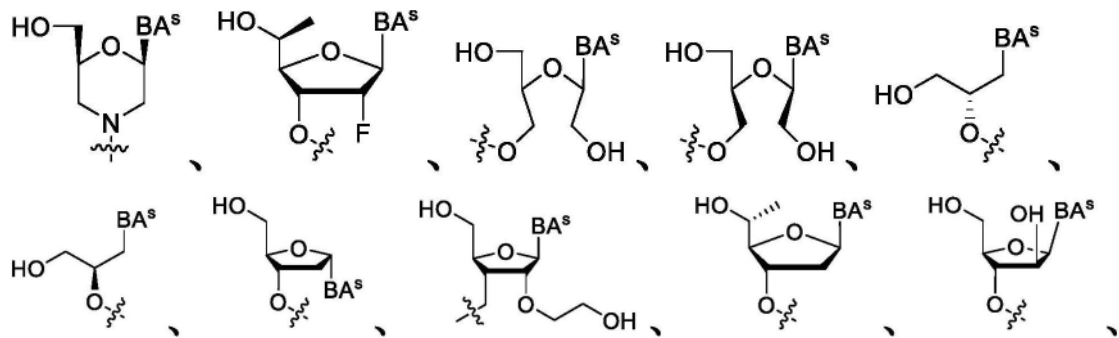


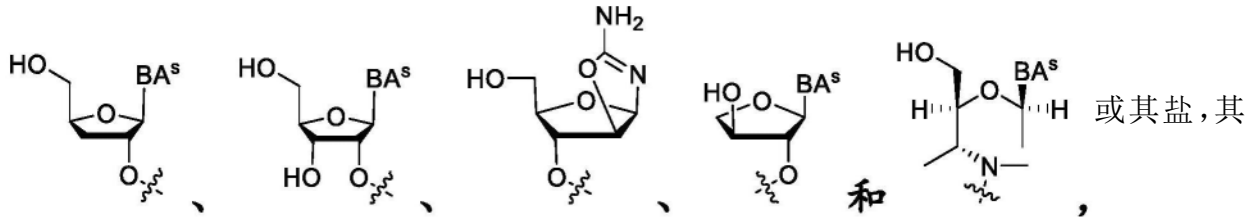
1697. 如实施例1666-1696中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>选自



中BA<sup>s</sup>如本文所述。

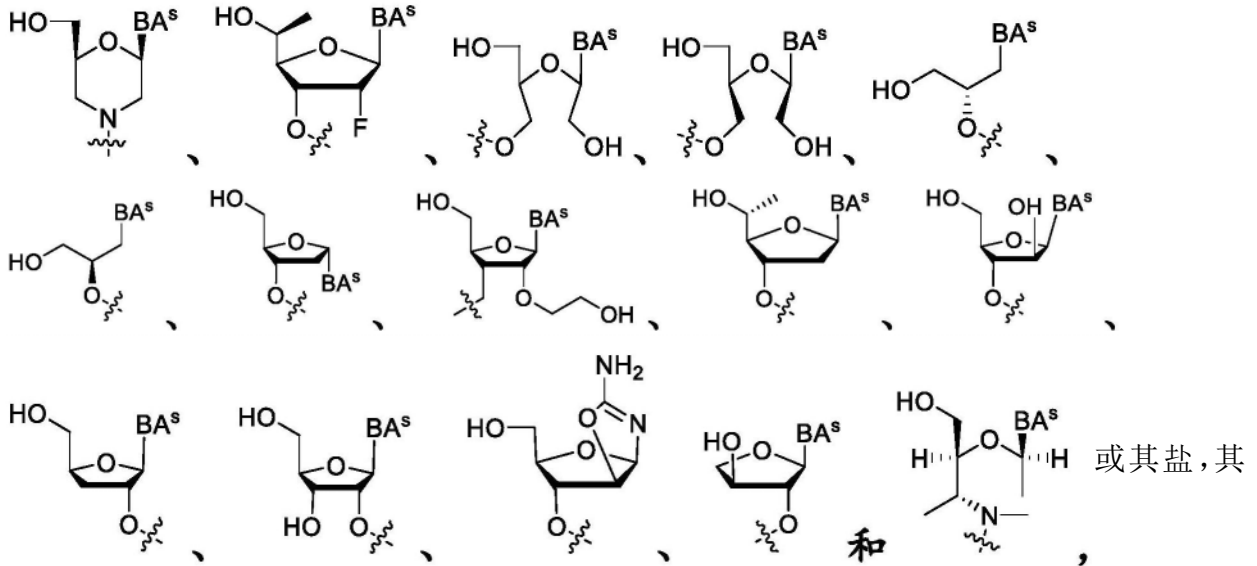
1698. 如实施例1666-1697中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>选自





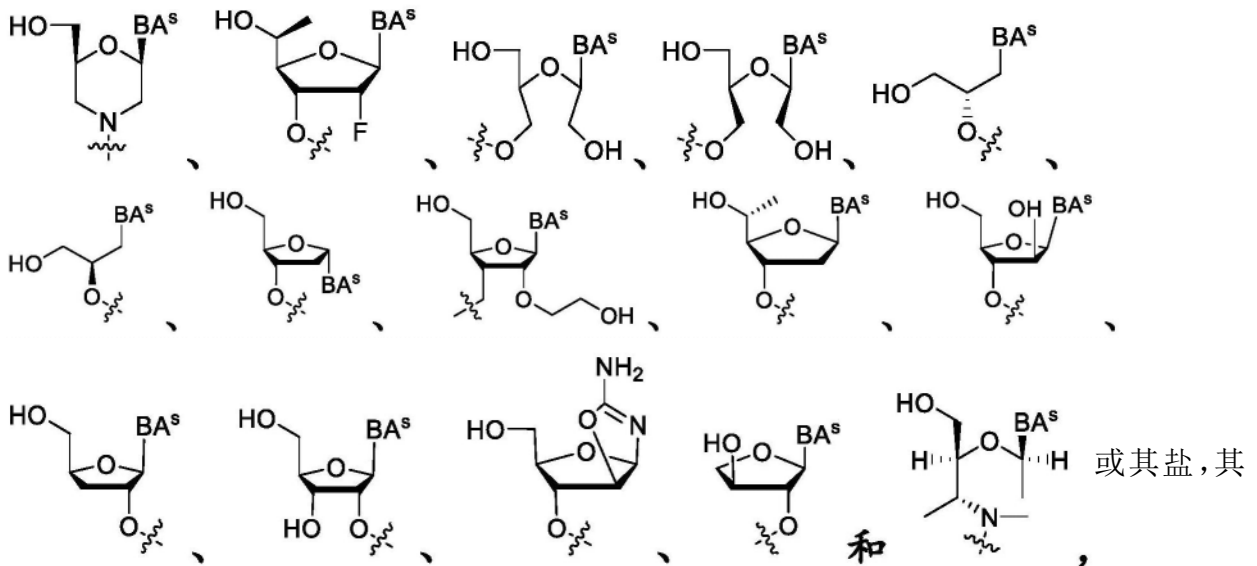
中BA<sup>s</sup>是任选地经取代或被保护的核碱基,并且每个-OH任选且独立地经取代或被保护。

1699. 如实施例1666-1698中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>选自



中BA<sup>s</sup>是任选地经取代或被保护的核碱基,并且该核苷的每个-OH独立地被保护,其中至少一个-OH被保护为DMTrO-。

1700. 如实施例1666-1699中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>选自



中BA<sup>s</sup>是来自A、T、C、G、U及其互变异构体的任选地被保护的核碱基,并且该核苷的每个-OH独立地被保护,其中至少一个-OH被保护为DMTrO-。

1701. 如实施例1666-1700中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含如实施例1-1521中任一项所述的核碱基或其互变异构体,其中该核碱基或其互变异构体是任选地经取代的或被保护的。

1702. 如实施例1666-1701中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含核碱基,其中核碱基是或包含环BA,其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。

1703. 如实施例1666-1702中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含核碱基,其中核碱基是或包含环BA,其中环BA具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构,或环BA的互变异构体,其中核碱基是任选地经取代的或被保护的。

1704. 如实施例1666-1703中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中BA<sup>S</sup>具有BA-I、BA-I-a、BA-I-b、BA-II、BA-II-a、BA-II-b、BA-III、BA-III-a、BA-III-b、BA-IV、BA-IV-a、BA-IV-b、BA-V、BA-V-a、BA-V-b或BA-VI的结构,或环BA的互变异构体,其中该核碱基是任选地经取代的或被保护的。

1705. 如实施例1666-1701中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含次黄嘌呤。

1706. 如实施例1666-1701中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O<sup>6</sup>被保护的次黄嘌呤。

1707. 如实施例1666-1701中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O<sup>6</sup>被保护的次黄嘌呤,其中O<sup>6</sup>保护基是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(R)<sub>3</sub>,其中-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-任选地经取代并且每个R不是-H。

1708. 如实施例1666-1701中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物包含O<sup>6</sup>被保护的次黄嘌呤,其中O<sup>6</sup>保护基是-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(Me)<sub>3</sub>。

1709. 如实施例1666-1708中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺或化合物含糖,其是如实施例1-1521中任一项所述的糖。

1710. 如实施例1666-1695中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>是选自A、T、C、G和U的任选地经取代或被保护的核苷。

1711. 如实施例1666-1695中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>是选自b001U、b002U、b003U、b004U、b005U、b006U、b008U、b002A、b001G、b004C、b007U、b001A、b001C、b002C、b003C、b002I、b003I、b009U、b003A、b007C、Asm01、Gsm01、5MSfC、Usm04、5MRdT、Csm15、Csm16、rCsm14、Csm17和Tsm18的任选地经取代或被保护的核苷。

1712. 如实施例1666-1711中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中R<sup>NS</sup>通过其3'-O-与磷键合。

1713. 如实施例1669-1712中任一项所述的亚磷酰胺或化合物,其中该亚磷酰胺的纯度为至少85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%。

1714. 一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的-OH基团与如实施例1663-1713中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

1715. 一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括使寡核苷酸或核苷的5'-OH与如实施例1663-1713中任一项所述的亚磷酰胺或化合物偶联。

1716. 一种用于制备寡核苷酸或组合物的方法,该方法包括从如实施例1523-1662中任一项所述的寡核苷酸去除手性助剂部分。

1717. 如实施例1714-1716中任一项所述的方法, 其中该寡核苷酸或该组合物中的寡核苷酸包含含有2'-OH的糖。

1718. 如实施例1714-1717中任一项所述的方法, 其中该寡核苷酸或该组合物中的寡核苷酸包含含有2'-OH的糖, 其中该糖键合至手性受控的核苷酸间键联。

1719. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸、组合物或方法, 其中每个杂原子独立地选自氮、氧、硅、磷和硫。

1720. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸、组合物或方法, 其中每个核碱基独立地包含具有至少一个氮的任选地经取代的环。

1721. 一种方法, 其包括:

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

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

1722. 一种方法, 其包括:

向易患或患有病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的用于预防或治疗该病症、障碍或疾病的药剂或组合物, 其中在细胞、组织或动物中评估该药剂或组合物, 其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官, 和/或包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列。

1723. 如实施例1721-1722所述的方法, 其中该受试者是人。

1724. 如实施例1721-1723中任一项所述的方法, 其中病症、障碍或疾病与G至A突变相关。

1725. 如实施例1721-1724中任一项所述的方法, 其中病症、障碍或疾病与人SERPINA1基因中的1024G>A (E342K) 突变相关。

1726. 如实施例1721-1725中任一项所述的方法, 其中病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症。

1727. 如实施例1721-1723中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是癌症。

1728. 一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法, 该方法包括:

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

1729. 如实施例1721-1728中任一项所述的方法, 其中细胞是啮齿动物细胞。

1730. 如实施例1721-1728中任一项所述的方法, 其中细胞是大鼠细胞。

1731. 如实施例1721-1728中任一项所述的方法, 其中细胞是小鼠细胞。

1732. 如实施例1721-1731中任一项所述的方法, 其中该细胞的基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

1733. 一种用于表征寡核苷酸或组合物的方法, 该方法包括:

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

1734. 如实施例1733所述的方法, 其中该动物是小鼠。

1735. 如实施例1733-1734中任一项所述的方法,其中该动物的基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

1736. 如实施例1733-1734中任一项所述的方法,其中该动物的种系基因组包含编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。

1737. 如实施例1721-1736中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 Z-DNA结合结构域中的一者或两者。

1738. 如实施例1721-1737中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 dsRNA结合结构域中的一者或多者或全部。

1739. 如实施例1721-1738中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人脱氨酶结构域。

1740. 如实施例1721-1739中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1。

1741. 如实施例1721-1740中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p110。

1742. 如实施例1721-1740中任一项所述的方法,其中ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人ADAR1 p150。

1743. 如实施例1721-1742中任一项所述的方法,其中与在工程化之前的细胞或工程化之前的动物的细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平相比,从细胞或动物的细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平与在可比较的人细胞或其群体中观察到的寡核苷酸或组合物的活性水平更相似。

1744. 如实施例1743所述的方法,其中可比较的人细胞与细胞或动物的细胞具有相同的类型。

1745. 如实施例1721-1744中任一项所述的方法,其中该细胞、组织或动物是或包含与病症、障碍或疾病相关的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官。

1746. 如实施例1745所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的细胞、组织或器官或病症、障碍或疾病的细胞、组织或器官是或包含肿瘤。

1747. 如实施例1721-1746中任一项所述的方法,其中该细胞、组织或动物包含与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列。

1748. 如实施例1747所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是纯合的。

1749. 如实施例1747所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是杂合的。

1750. 如实施例1747所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是半合的。

1751. 如实施例1747-1750中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列在基因组中。

1752. 如实施例1747-1751中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列在一些但不是所有细胞的基因组中。

1753. 如实施例1747-1752中任一项所述的方法,其中与病症、障碍或疾病相关的

核苷酸序列在种系基因组中。

1754. 如实施例1747-1753中任一项所述的方法, 其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是突变。

1755. 如实施例1747-1754中任一项所述的方法, 其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是G至A突变。

1756. 如实施例1747-1755中任一项所述的方法, 其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是SERPINA1中的G至A突变。

1757. 如实施例1747-1756中任一项所述的方法, 其中与病症、障碍或疾病相关的核苷酸序列是人SERPINA1中的1024G>A (E342K) 突变。

1758. 如实施例1721-1756中任一项所述的方法, 其中该细胞、组织或动物包含人SERPINA1基因中的1024G>A (E342K) 突变。

1759. 如实施例1758所述的方法, 其中该细胞、组织或动物包含NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ。

1760. 如实施例1721-1759中任一项所述的方法, 其中该受试者包含人SERPINA1中的1024G>A (E342K) 突变。

1761. 如实施例1760所述的方法, 其中该受试者关于人SERPINA1中的1024G>A (E342K) 突变是纯合子。

1762. 如实施例1760所述的方法, 其中该受试者关于人SERPINA1中的1024G>A (E342K) 突变是杂合子。

1763. 如实施例1760所述的方法, 其中该受试者关于SERPINA1中的1024G>A (E342K) 突变是杂合子, 并且一个等位基因是野生型。

1764. 一种用于修饰靶核酸中的靶腺苷的方法, 该方法包括使该靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

1765. 一种用于使靶核酸中的靶腺苷脱氨的方法, 该方法包括使该靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触。

1766. 一种用于产生特定核酸的产物、或者恢复或增加特定核酸的产物的水平的方法, 该方法包括使靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触, 其中该靶核酸包含靶腺苷, 并且该特定核酸与该靶核酸的不同之处在于该特定核酸具有I或G而不是该靶腺苷。

1767. 一种用于降低靶核酸的产物的水平的方法, 该方法包括使靶核酸与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触, 其中该靶核酸包含靶腺苷。

1768. 如实施例1766或1767所述的方法, 其中该产物是蛋白。

1769. 如实施例1766或1767所述的方法, 其中该产物是mRNA。

1770. 如实施例1764-1769中任一项所述的方法, 其中该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与该靶核酸的碱基序列基本上互补。

1771. 如实施例1764-1770中任一项所述的方法, 其中该靶核酸在样品中。

1772. 一种方法, 其包括:

使如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物与包含靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触, 其中:

该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与该靶核酸的碱基序列基本上互补;以及

该靶核酸包含靶腺苷;

其中该靶腺苷被修饰。

1773.一种方法,其包括

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联;以及

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

1774.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性核苷酸间键联。

1775.一种方法,其包括

1) 获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2) 获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控

的手性核苷酸间键联;以及

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

1776.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含比该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸更多的具有2'-F修饰的糖,更多的具有2'-OR修饰的糖,其中R不是-H,和/或更多的手性受控的手性核苷酸间键联。

1777.一种方法,其包括

1)获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

2)获得靶核酸中靶腺苷的参考修饰水平,该水平是当参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键联;以及

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”);以及

与该参考寡核苷酸组合物的寡核苷酸相比,该第一寡核苷酸组合物提供更高水平的修饰。

1778.一种方法,其包括

获得靶核酸中靶腺苷的第一修饰水平,该水平是当第一寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该第一寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的第一多个寡核苷酸;以及

其中靶腺苷的该第一修饰水平高于该靶腺苷的参考修饰水平,其中该参考水平是在参考寡核苷酸组合物与包含该靶核酸和腺苷脱氨酶的样品接触时观察到的,其中该参考寡核苷酸组合物包含共享相同的与该靶核酸的碱基序列基本上互补的碱基序列的参考多个寡核苷酸;

其中:

该第一多个寡核苷酸中的寡核苷酸包含一个或多个手性受控的手性核苷酸间键

联;以及

该参考多个寡核苷酸中的寡核苷酸不含手性受控的手性核苷酸间键联(参考寡核苷酸组合物是“立体随机组合物”)。

1779.如实施例1773-1778中任一项所述的方法,其中第一寡核苷酸组合物是如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸组合物。

1780.如实施例1773-1779中任一项所述的方法,其中该参考寡核苷酸组合物是如实施例1624-1633中任一项所述的参考寡核苷酸组合物。

1781.如实施例1764-1780中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR酶。

1782.如实施例1764-1780中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR1。

1783.如实施例1764-1780中任一项所述的方法,其中该脱氨酶是ADAR2。

1784.如实施例1764-1783中任一项所述的方法,其中该靶核酸是或包含RNA。

1785.如实施例1764-1784中任一项所述的方法,其中样品是细胞。

1786.如实施例1764-1785中任一项所述的方法,其中与不同于该靶核酸的核酸相比,该靶核酸与病症、障碍或疾病,或所需的特性或功能的减弱,或不期望的特性或功能的增强更相关,该不同在于其在靶腺苷的位置具有I或G而不是该靶腺苷。

1787.如实施例1764-1785中任一项所述的方法,其中该靶腺苷是G至A突变。

1788.一种用于预防或治疗病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1789.一种用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1790.一种用于预防或治疗适合G至A突变的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1791.一种用于增加受试者血清或血液中 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1792.如实施例1791所述的方法,其中与参考A1AT多肽相比,A1AT多肽提供一种或多种更高的活性。

1793.如实施例1791或1792所述的方法,其中A1AT多肽是野生型A1AT多肽。

1794.如实施例1791-1793中任一项所述的方法,其中该方法增加血清中A1AT多肽的量。

1795.如实施例1791-1793中任一项所述的方法,其中该方法减少血清中参考A1AT多肽的量。

1796.如实施例1791-1795中任一项所述的方法,其中该方法增加血清或血液中A1AT多肽相比于参考A1AT多肽的比率。

1797.如实施例1791-1796中任一项所述的方法,其中该参考A1AT多肽是突变的。

1798.如实施例1791-1797中任一项所述的方法,其中该参考A1AT多肽是E342K

A1AT多肽。

1799. 一种用于降低受试者血清或血液中突变体 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶(A1AT)多肽的水平和/或活性的方法,该方法包括向该受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1800. 如实施例1799所述的方法,其中该突变体A1AT多肽是E342K A1AT多肽。

1801. 如实施例1791-1800中任一项所述的方法,其中该受试者易患或患有病症、障碍或疾病。

1802. 一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用或递送有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1803. 一种用于预防或治疗与G至A突变相关联的病症、障碍或疾病的方法,该方法包括向易患或患有该病症、障碍或疾病的受试者施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1804. 如实施例1788-1803中任一项所述的方法,其中该寡核苷酸组合物中的一个或多个寡核苷酸的碱基序列与包含作为突变的靶腺苷的靶核酸的碱基序列基本上互补。

1805. 如实施例1803-1804中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病适合A至G或A至I修饰。

1806. 如实施例1788-1805中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR蛋白。

1807. 如实施例1788-1805中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR1。

1808. 如实施例1788-1805中任一项所述的方法,其中与该病症、障碍或疾病相关联的细胞包含或表达ADAR2。

1809. 如实施例1788-1808中任一项所述的方法,其中该受试者是人受试者。

1810. 如实施例1788-1809中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症或与之相关。

1811. 如实施例1764-1810中任一项所述的方法,该方法包括将靶腺苷转化成I。

1812. 如实施例1764-1811中任一项所述的方法,其中靶向并编辑两种或更多种不同的腺苷。

1813. 如实施例1764-1811中任一项所述的方法,其中靶向并编辑两种或更多种不同的转录物。

1814. 如实施例1764-1811中任一项所述的方法,其中靶向并编辑来自两种或更多种不同多核苷酸的转录物。

1815. 如实施例1764-1811中任一项所述的方法,其中靶向并编辑来自两种或更多种基因的转录物。

1816. 如实施例1812-1815中任一项所述的方法,该方法包括施用两种或更多种寡核苷酸,每种寡核苷酸独立地靶向不同的靶标,并且每种寡核苷酸独立地是如实施例1-1521中任一项所述的寡核苷酸或其盐。

1817. 如实施例1812-1815中任一项所述的方法,该方法包括施用两种或更多种寡

核苷酸组合物,每种寡核苷酸组合物独立地靶向至少一种不同的靶标,并且每种寡核苷酸组合物独立地是如实施例1522-1636中任一项所述的组合物。

1818.如实施例1812-1817中任一项所述的方法,该方法包括施用如实施例1547-1636中任一项所述的组合物。

1819.如实施例1812-1818中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物同时施用。

1820.如实施例1812-1819中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物在单一组合物中同时施用。

1821.如实施例1812-1819中任一项所述的方法,其中两种或更多种寡核苷酸或组合物作为分开的组合物施用。

1822.如实施例1812-1818中任一项所述的方法,其中一种或多种寡核苷酸或组合物在一种或多种其他寡核苷酸或组合物之前或之后施用。

1823.如实施例1788-1822中任一项所述的方法,其中该受试者包含人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变。

1824.如实施例1823所述的方法,其中该受试者关于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是纯合子。

1825.如实施例1823所述的方法,其中该受试者关于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合子。

1826.如实施例1823所述的方法,其中该受试者关于人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变是杂合子,并且一个等位基因是野生型。

1827.如实施例1788-1826中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病与SERPINA1中的G至A突变相关。

1828.如实施例1788-1827中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病与人SERPINA1中的1024G>A(E342K)突变相关。

1829.如实施例1788-1828中任一项所述的方法,其中该病症、障碍或疾病是 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症。

1830.如实施例1788-1829中任一项所述的方法,其中该受试者具有杂合ZZ基因型。

1831.如实施例1788-1829中任一项所述的方法,其中该受试者具有纯合ZZ基因型。

1832.如实施例1788-1831中任一项所述的方法,其中该方法增加或恢复野生型在肝的水平或活性。

1833.如实施例1788-1832中任一项所述的方法,其中该方法减少Z-AAT聚集。

1834.如实施例1788-1833中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肝损伤。

1835.如实施例1788-1834中任一项所述的方法,其中该方法减少或预防肝硬化。

1836.如实施例1788-1835中任一项所述的方法,其中该方法增加血液中野生型AAT的水平。

1837.如实施例1788-1836中任一项所述的方法,其中该方法增加血液中循环的、肺结合的野生型AAT的水平。

1838. 如实施例1788-1837中任一项所述的方法, 其中该方法减少或预防肺损伤。

1839. 如实施例1788-1838中任一项所述的方法, 其中该方法减少或预防蛋白酶引起的肺损伤。

1840. 如实施例1788-1839中任一项所述的方法, 其中该方法减少或预防肺炎症。

1841. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是隐性或显性遗传定义的病症、障碍或疾病。

1842. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是肝病、障碍或疾病。

1843. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是代谢性肝病、障碍或疾病。

1844. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是神经元病症、障碍或疾病。

1845. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是神经发育病症、障碍或疾病。

1846. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是与离子通道渗透性相关的病症、障碍或疾病。

1847. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是家族性癫痫。

1848. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是神经性疼痛。

1849. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是单倍体不足病症、障碍或疾病。

1850. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是神经肌肉病症、障碍或疾病。

1851. 如实施例1788-1826中任一项所述的方法, 其中该病症、障碍或疾病是痴呆。

1852. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向部分。

1853. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向肝的靶向部分。

1854. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向在肝中表达的一个或多个受体的一个或多个配体。

1855. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸包含一个或多个靶向脱唾液酸糖蛋白受体的配体。

1856. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸是GalNAc缀合的寡核苷酸。

1857. 如实施例1788-1851中任一项所述的方法, 其中施用于该受试者的寡核苷酸包含靶向在肝中表达的一个或多个受体的一个或多个配体。

1858. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于改变mRNA剪接的用途, 其中mRNA的靶腺苷被编辑。

1859. 如实施例1860所述的用途,其中跳跃外显子,或包含外显子,或恢复框架。

1860. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于改变mRNA剪接的用途,其中mRNA的靶腺苷被编辑。

1861. 如实施例1860所述的用途,其中RNA和/或由其编码的多肽的水平降低。

1862. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于沉默蛋白质表达的用途,其中编码蛋白质的mRNA的靶腺苷被编辑。

1863. 如实施例1862所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

1864. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于固定无义突变的用途,其中编辑RNA的靶腺苷以使得该无义突变被固定。

1865. 如实施例1864所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

1866. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于固定错义突变的用途,其中编辑RNA的靶腺苷以使得该错义突变被固定。

1867. 如实施例1866所述的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加或恢复。

1868. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑密码子中的靶腺苷的用途。

1869. 如实施例1868所述的用途,其中蛋白质的序列、表达、水平和/或活性被改变。

1870. 如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物用于编辑上游ORF中的靶腺苷的用途。

1871. 如实施例1870的用途,其中蛋白质的表达、水平和/或活性增加。

1872. 一种用于调节系统中蛋白质-蛋白质相互作用的方法,其中蛋白质从其编码RNA翻译而来,该方法包括使该编码RNA与如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物接触,其中该编码RNA中的腺苷被编辑,其中蛋白质从编码的mRNA翻译而来(“经编辑的蛋白质”),其中该经编辑的蛋白质在参与该蛋白质-蛋白质相互作用的氨基酸残基处不同于未经编辑的蛋白质。

1873. 一种用于调节系统中蛋白质与其伴侣蛋白之间的相互作用的方法,该方法包括向该系统施用如前述实施例中任一项所述,其中该寡核苷酸或组合物能够编辑编码该蛋白质或其伴侣蛋白的核酸中的腺苷,并且经编辑的核酸编码在参与该蛋白质与其伴侣蛋白之间相互作用的至少一个氨基酸残基处与未经编辑的核酸所编码的蛋白质不同的蛋白质。

1874. 如实施例1872-1873中任一项所述的方法,其中经编辑的腺苷位于编码参与该蛋白质与其伴侣蛋白之间相互作用的氨基酸残基的密码子中。

1875. 如实施例1874所述的方法,其中经编辑的腺苷位于编码参与该蛋白质与其伴侣蛋白之间相互作用的氨基酸残基的密码子中,并且该编辑将该氨基酸改变为不同的氨基酸。

1876. 如实施例1872-1875中任一项所述的方法,其中该蛋白质-蛋白质相互作用被减少或破坏。

1877. 如实施例1872-1876中任一项所述的方法,其中该蛋白质是转录因子。

1878. 如实施例1872-1877中任一项所述的方法,其中该蛋白质的水平增加。

1879. 如实施例1872-1878中任一项所述的方法, 其中由该蛋白质调节的一个或多个核酸的表达被调节。

1880. 如实施例1872-1879中任一项所述的方法, 其中一个或多个受该蛋白质调节的核酸的表达增加。

1881. 如实施例1872-1880中任一项所述的方法, 其中该蛋白质是NRF2。

1882. 如实施例1872-1881中任一项所述的方法, 其中NRF2的编辑是或包括编辑编码Glu82(例如, 至Gly)、Glu79(例如, 至Gly)、Glu78(例如, 至Gly)、Asp76(例如, 至Gly)、Ile28(至Val)、Asp27(例如, 至Gly)或Gln26(例如, 至Arg)的密码子。

1883. 如实施例1872-1882中任一项所述的方法, 其中该伴侣蛋白是Keap1。

1884. 如实施例1872-1883中任一项所述的方法, 其中编辑Keap1是或包括编辑编码Ser603(例如, 至Gly)、Tyr572(例如, 至Cys)、Tyr525(例如, 至Cys)、Ser508(例如, 至Gly)、His436(例如, 至Arg)、Asn382(例如, 至Asp)、Arg380(例如, 至Gly)或Tyr334的密码子。

1885. 如实施例1872-1883中任一项所述的方法, 其中该系统是或包含细胞。

1886. 如实施例1872-1883中任一项所述的方法, 其中该系统是或包含组织。

1887. 如实施例1872-1883中任一项所述的方法, 其中该系统是器官或包含器官。

1888. 如实施例1872-1883中任一项所述的方法, 其中该系统是或包含生物体。

1889. 一种用于在免疫细胞中编辑转录物的方法, 该方法包括向免疫细胞施用有效量的如前述实施例中任一项所述的寡核苷酸或组合物。

1890. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是PBMC。

1891. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是CD4+细胞。

1892. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是CD8+细胞。

1893. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是CD14+细胞。

1894. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是CD19+细胞。

1895. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是NK细胞。

1896. 如实施例1889所述的方法, 其中该免疫细胞是Treg细胞。

1897. 如实施例1889-1896中任一项所述的方法, 其中该细胞是活化的。

1898. 如实施例1889-1896中任一项所述的方法, 其中该细胞是未活化的。

1899. 如实施例1889-1898中任一项所述的方法, 其中该寡核苷酸或组合物靶向并编辑FAS、BID、CTLA4、PDCD1、CBLB、PTPN6、TRAC或TRBC。

1900. 一种提高寡核苷酸编辑水平的方法, 该方法包括掺入如前述实施例中任一项所述的结构元件。

1901. 一种本披露中描述的化合物、寡核苷酸、组合物、核碱基、糖、核苷、核苷酸间键联或方法。

1902. 一种寡核苷酸, 其包含如本文所述的核碱基。

1903. 一种寡核苷酸, 其包含如本文所述的糖。

1904. 一种寡核苷酸, 其包含如本文所述的核苷酸间键联。

1905. 一种寡核苷酸, 其包含如本文所述的核苷酸间键联和键合至如本文所述的该核苷酸间键联的糖(例如, sm01n001)。

## 实例

[1114] 本文呈现了所提供的技术(化合物(寡核苷酸、试剂等)、组合物、方法(制备方法、使用方法、评估方法等)等)的某些实例。本领域技术人员理解许多技术,例如描述于US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252、WO 2021/071858等中的那些,根据本披露可用于制备和/或评估所提供技术的特性和/或活性。

[1115] 实例1.用于评估腺苷编辑的有用技术。

[1116] 可以使用多种系统来评估寡核苷酸设计。在一些实施例中,在HEK293T细胞中制备和评估cLuc寡核苷酸。在一些实施例中,在用针对人ADAR1或人ADAR2的质粒和cLuc荧光素酶报告质粒转染的293T细胞中评估靶向cLuc(海萤(Cypridina))的寡核苷酸。cLuc报告质粒由与荧光素酶相关的(高斯(Gaussia))gLuc-p2A-cLuc(W85X)组成。cLuc报告子由ADAR介导的A>I编辑激活。使用以下等式计算寡核苷酸的编辑活性:

$$\text{倍数变化} = \text{经处理的寡核苷酸(cLuc/gLuc)} / \text{模拟(cLuc/gLuc)}$$

[1117] 在一些实施例中,使用Lipofectamine 2000转染方案(Thermo 11668030)将报告质粒和ADAR1或ADAR2质粒一起转染到HEK293T细胞中。在合适的时间段(例如,24小时)后,将表达报告子和ADAR质粒的HEK293T细胞用适量的寡核苷酸针对每个实验反向转染。在48、72和/或96小时后分别使用Pierce<sup>TM</sup>高斯荧光素酶辉光测定试剂盒(Pierce<sup>TM</sup>16161)或Pierce<sup>TM</sup>海萤荧光素酶辉光测定试剂盒(Pierce<sup>TM</sup>16170)测量cLuc和gLuc活性。

[1118] 在一些实施例中,寡核苷酸和组合物被评估和确认为在各种细胞(例如,小鼠或人原代肝细胞、原代人视网膜色素上皮细胞、细胞系等)中提供编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物被评估和确认为在受试者中提供编辑。在一些实施例中,评估寡核苷酸和组合物并确认其在动物(例如,小鼠、非人灵长类动物(例如,食蟹猴)等)中提供编辑。在一些实施例中,动物是转基因动物,例如,表达人ADAR1的小鼠。在一些实施例中,动物是模型动物,其包含与病症、障碍或疾病相关的靶腺苷,例如,在许多情况下,G至A突变。在一些实施例中,所提供的技术可以在有或没有外源性ADAR多肽的情况下提供有效编辑。在一些实施例中,所提供的技术可以在没有外源性ADAR1或ADAR2的情况下提供有效编辑。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物通过转染递送(例如,使用转染组合物如Lipofectamine RNAimax)。在一些实施例中,寡核苷酸和组合物通过裸式游离摄取(gymnotic free uptake)递送。尤其是,本披露提供了用于评估药剂(例如寡核苷酸)及其组合物的编辑(例如A至I(G)编辑)的技术。在一些实施例中,本披露提供了可用于评估药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物的技术,这些药剂及其组合物与如本文所述的ADAR多肽(例如,ADAR1多肽)相互作用和/或调节或利用该多肽的一种或多种功能。在一些实施例中,本披露提供了经工程化以包含和/或表达ADAR1多肽或其特征性部分,或编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的非人动物细胞和/或非人动物。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含灵长类动物ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是灵长类动物ADAR1。在一些实施例中,灵长类动物是非人灵长类动物。在一些实施例中,灵长类动物是人。在一些实施例中,ADAR1多肽或

其特征性部分是或包含人p110 ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p110 ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是人p110ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p150 ADAR1或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是或包含人p150 ADAR1。在一些实施例中,ADAR1多肽或其特征性部分是人p150 ADAR1。在一些实施例中,非人动物是啮齿类动物。在一些实施例中,它是大鼠。在一些实施例中,它是小鼠。在一些实施例中,本披露提供经工程化以表达人ADAR1的小鼠。在一些实施例中,本披露提供经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞。

[1119] 尤其是,本实例展示了所提供的技术特别可用于评估可用于编辑(例如,实例中所述的腺苷编辑)的药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物。尤其是,本披露指出并且本实例证实,可在多种人细胞中提供编辑的多种药剂(例如,寡核苷酸)及其组合物可能在不含或不表达人ADAR(例如,人ADAR1)的某些细胞(例如,小鼠细胞)和某些动物诸如啮齿类动物(例如,小鼠)中不会显示出编辑或显示出低得多的编辑水平;特别是,小鼠是一种常用的动物模型,在评估用于人中编辑的各种药剂(例如寡核苷酸)方面可能用途有限,因为在人中具有活性的药剂可能没有活性或活性水平非常低。在一些实施例中,本披露提供了经工程化以表达人ADAR1(例如,人ADAR1 p110、p150等)的细胞和非人动物(例如,啮齿类动物诸如小鼠),以及它们用于评估编辑剂(诸如寡核苷酸)及其组合物的用途。尤其是,这样的工程化的细胞和/或动物与未如此工程化的细胞和/或动物相比可展示出与人细胞中的活性更相关和/或更可预测人细胞中的活性的活性。

[1120] 表达人ADAR1的非人小鼠的产生:可根据本披露使用多种技术来提供经工程化以表达人ADAR1多肽或其特征性部分的小鼠。在本披露和优先权申请中描述了某些有用的技术,其中每一个的全部内容通过援引独立地并入。

[1121] 在一些实施例中,在经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞和动物中,与未经工程化以表达人ADAR1的参考小鼠细胞和动物相比,多种寡核苷酸显示出与其在人细胞中的活性谱非常相似的活性谱,例如,与表达人ADAR1的人细胞和/或经工程化以表达人ADAR1的小鼠细胞和动物相比,许多寡核苷酸在未经工程化以表达人ADAR1的参考小鼠细胞和动物中未显示出活性或显示出低得多的活性水平。

[1122] 本领域技术人员可以获得用于生成包括动物在内的转基因系统的各种有用技术,并且可以根据本披露利用这些技术,包括在优先权申请和WO 2021/071858中描述的技术等,所述文献中的每一个的全部内容通过引用并入本文。

[1123] 如本文所述,经工程化为包含ADAR1多肽或其特征性部分,或以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物可以与各种动物(例如,各种病症、障碍或疾病的模型动物)杂交,以提供,尤其是,既包含与各种病症、障碍或疾病相关的特征性元件又包含ADAR1多肽或其特征性部分或其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的动物模型。在一些实施例中,动物是包含SERPINA1-Pi\*Z的模型动物。在一些实施例中,动物包含人SERPINA1的1024G>A(E342K)突变和其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。尤其是,这样的动物可用于评估用于编辑人SERPINA1的1024G>A(E342K)突变的各种药剂,例如寡核苷酸。尤其是,所提供的技术,例如,非人动物被工程化为包含或表达ADAR1多肽或其特征性部分,对于评估腺苷编辑剂特别有用。

[1124] 在一些实施例中,本文所述的huADAR小鼠与另一只包含目的核苷酸序列(例如,与病症、障碍或疾病相关的突变)的小鼠杂交。在某些实施例中,根据本披露,使用本领域已知的体外受精进行这种杂交。在某些实施例中,这样的小鼠包含人丝氨酸蛋白酶抑制剂家族A成员1(SERPINA1)多核苷酸序列或其特征性部分。在某些实施例中,这样的小鼠是SERPINA1-Pi\*Z小鼠,包含含有对应于1024G>A(E342K)突变的G至A突变的人SERPINA1基因。在一些实施例中,所得后代包含人SERPINA1-Pi\*Z多核苷酸序列或其特征性部分(例如,包含突变(例如与病症、障碍或疾病相关的1024G>A)的部分)和huADAR1多核苷酸序列或其片段。在一些实施例中,双转基因动物(例如,包含人ADAR1序列或其特征性部分和与病症、障碍或疾病相关的序列)也可以包含杂合、半合和/或纯合形式的另外背景突变或等位基因(这赋予它们人源化(即具有免疫缺陷表型)),这类基因型包括但不限于NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rgtm1<sup>Wj1</sup>/SzJ或NOD/ShiLtJ,替代性合适人源化小鼠品系是本领域已知的。在一些实施例中,包含其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸的小鼠与包含SERPINA1突变(例如,与病症、障碍或疾病(例如, $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症)相关的1024G>A)的小鼠杂交。在一些实施例中,杂交的第二小鼠是杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ(另见Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1Antitrypsin Deficiency.[人肝细胞异种移植和基因组编辑的肝细胞治疗 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优势]Mol Ther[分子疗法]25(11):2477-2489PubMed:29032169MGI:J:243726,和Li S;Ling C;Zhong L;Li M;Su Q;He R;Tang Q;Greiner DL;Shultz LD;Brehm MA;Flotte TR;Mueller C;Srivastava A;Gao G.2015.Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors.[用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝]Mol Ther[分子疗法]23(12):1867-76PubMed:26403887MGI:J:230567)。如本文所述,在一些实施例中,huADAR小鼠经工程化为包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p110多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,huADAR小鼠被工程化以包含和/或表达其序列编码人ADAR1 p150多肽或其特征性部分的多核苷酸。

[1125] 在一些实施例中,本文所述的huADAR小鼠与另一只包含目的核苷酸序列的小鼠杂交。在一些实施例中,包含其序列编码ADAR1多肽的多核苷酸的小鼠与包含SERPINA1突变(例如,与病症、障碍或疾病(例如, $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶(A1AT)缺乏症)相关的1024G>A)的小鼠杂交。在一些实施例中,根据本披露,使用本领域已知的体外受精进行这种杂交。在一些实施例中,这样的小鼠包含人丝氨酸蛋白酶抑制剂家族A成员1(SERPINA1)多核苷酸序列或其特征性部分。在一些实施例中,这样的小鼠是SERPINA1-Pi\*Z小鼠,包含含有对应于例如1024G>A(E342K)突变的G至A突变或与其相应的遗传特征的人SERPINA1基因。在一些实施例中,所得后代包含人SERPINA1-Pi\*Z多核苷酸序列和huADAR1多核苷酸序列。在一些实施例中,双转基因动物还包含杂合、半合和/或纯合(野生型或突变体)形式的另外背景突变或等位基因,这赋予它们人源化(例如,具有免疫缺陷表型)。在一些实施例中,这样的基因型包括NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rgtm1<sup>Wj1</sup>/SzJ。

[1126] 如本领域技术人员所理解的,根据本披露可以使用多种技术进行杂交繁育。在一

些实施例中,技术是或包括IVF(例如,使用杂合或纯合huADAR小鼠的精子是来自另一小鼠的卵母细胞,或反之亦然)。在一些实施例中,技术是或包括自然繁育(例如,使用杂合或纯合huADAR小鼠的精子是来自另一小鼠的卵母细胞,或反之亦然)。

[1127] 例如,在一些实施例中,利用来自huADAR雄性小鼠的杂合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ (NSG-PiZ, 货号028842) 雌性小鼠的卵母细胞经由例如IVF生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。在一些实施例中,利用来自huADAR雄性小鼠的纯合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ (NSG-PiZ, 货号028842) 雌性小鼠的卵母细胞经由例如IVF生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。在一些实施例中,利用来自品系“hADAR”雄性小鼠的纯合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ (NSG-PiZ, 货号028842) 雌性小鼠的卵母细胞,并且使得到的小鼠与例如NOD/ShiLtJ(杰克逊实验室货号001976) 小鼠杂交以建立一系列克隆。在一些实施例中,生成的小鼠是(假设Prkdcscid/Il2rgtm1Wjl/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/hADAR基因顺序) HET HET HET HET、HET WILD HET HET、WILD HET HET HET、WILD WILD HET HET、HET HEMI HET HET、HET HEMI HET WILD、HET HET HET WILD和/或WILD HEMI HET HET。本领域技术人员理解,雄性或雌性配子可以从任一品系中提供,例如在一些实施例中卵母细胞可以从huADAR品系提供,而精子可以从其他基因型提供,例如NOD.Cg-Prkdc<sup>scid</sup> Il2rg<sup>tm1Wjl</sup> Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ (NSG-PiZ, 货号028842)。在一些实施例中,huADAR(或hADAR)小鼠被工程化以包含和/或表达其序列编码ADAR1多肽或其特征性部分的多核苷酸。在一些实施例中,动物在其基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,动物在其种系基因组中包含多核苷酸,该多核苷酸的序列编码ADAR1多肽或其特征性部分。在一些实施例中,ADAR1多肽是人ADAR1。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1p110。在一些实施例中,人ADAR1是人ADAR1 p150。例如,使用本文所述的一种或多种方案(例如,使用杂合的hADAR1精子和IVF)生成了许多包含人ADAR1 p110和人SERPINA1中的1024G>A (E342K)突变的动物。如本领域技术人员所理解的,在一些实施例中,可以进一步繁育产生的动物以产生具有期望基因型的动物,例如,杂合、半合或纯合小鼠。在一些实施例中,使用IVF,将来自huADAR雄性小鼠的杂合精子和来自NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/SzJ (NSG-PiZ, 货号028842) 雌性小鼠的卵母细胞进行杂交以生成Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl杂合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雌性小鼠和Prkdcscid杂合/Il2rgtm1Wjl半合/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw杂合/hADAR杂合雄性小鼠。此外,产生的幼仔具有基因型(假设Prkdcscid/Il2rgtm1Wjl/Tg (SERPINA1\*E342K) #Slcw/hADAR基因顺序) HET HET HET HET、HET WILD HET HET、WILD HET HET HET、WILD WILD HET HET、HET HEMI HET HET、HET HEMI HET WILD、HET HET HET WILD和/或WILD HEMI HET HET。使用本文所述的一种或多种方案(例如,使用杂合的hADAR1精子和IVF)生成了许多包含人ADAR1 p110和人SERPINA1中的1024G>A (E342K)突变的动物。

[1128] 在一些实施例中,所提供的技术,例如寡核苷酸及其组合物,在这样的动物模型中

进行评估。在一些实施例中,以观察量(例如,血清中的ng/mL)和/或相对量(例如,占总蛋白质或总A1AT蛋白质的百分比)提高所需产物(例如,血清中正确折叠的野生型A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性,和/或降低不需要的产物(例如,血清中的突变体(例如,E342K)A1AT蛋白)的水平、特性和/或活性。

[1129] 所提供的技术可以在各种类型的细胞、组织、器官、生物体等(例如,肝、肾、CNS、神经元细胞、星形胶质细胞、肝细胞等)中提供活性,例如腺苷编辑。在一些实施例中,在免疫细胞例如CD8+T细胞(在一些情况下用细胞因子预刺激例如24或96小时)中确认了编辑。在一些实施例中,在成纤维细胞系中确认了编辑。在一些实施例中,在离体NHP眼睛(视网膜)中确认了编辑。观察到各种靶转录物中靶腺苷的编辑,确认了所提供的技术普遍适用。某些靶转录物在本文和例如优先权申请和WO 2021/071858中描述。

[1130] 寡核苷酸和组合物可以根据本披露利用许多技术来递送。例如,在一些实施例中,它们通过转染递送。在一些实施例中,它们通过裸式摄取递送。在一些实施例中,寡核苷酸包含可促进递送的部分。例如,在一些实施例中,部分是多肽的配体,例如,在许多情况下,细胞表面上的受体。在一些实施例中,多肽由一类或一群细胞、组织等以更高水平表达,因此它可用于递送。在一些实施例中,配体是ASGPR配体。在一些实施例中,配体是或包含GalNAc或其衍生物。在一些实施例中,寡核苷酸可包含两个或更多个配体部分,每个配体部分独立地是多肽的配体。在一些实施例中,寡核苷酸包含配体部分的两个或更多个拷贝。在一些实施例中,部分靶向位置或环境的一个或多个特征(例如,pH、氧化还原等)。

[1131] 在一些实施例中,所提供技术的技术可以提供增加的稳定性、高水平的编辑等。在一些实施例中,所提供的技术可在最后一剂后长时间(例如,约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45天或更多天)提供所需的编辑活性。在一些实施例中,所需的编辑活性/编辑水平可以在最后一剂后长时间维持,例如约或至少约2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45天或更多天。

[1132] 在一些实施例中,所提供的技术可以提供高水平的选择性。在一些实施例中,约或至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%或99.9%观察到的腺苷编辑是在靶腺苷处。在一些实施例中,编码区中约或至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%观察到的腺苷编辑是在靶腺苷处。在一些实施例中,靶核酸(例如,靶基因的转录物)中约或至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%观察到的腺苷编辑是在靶腺苷处。在一些实施例中,靶核酸(例如,靶基因的转录物)的编码区中约或至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%观察到的腺苷编辑是在靶腺苷处。本领域技术人员可以使用各种技术,例如RNA-Seq来评估选择性;某些这样的技术在本文或在优先权申请或WO 2021/071858中描述,其中每一个的全部内容均通过引用独立地并入本文。在一些实施例中,本文所述的选择性的百分比为至少约80%。在一些实施例中,它是至少约85%。在一些实施例中,它是至少约90%。在一些实施例中,它是至少约95%。在一些实施例中,它是至少约96%。在一些实施例中,它是至少约97%。在一些实施例中,它是至少约98%。在一些实施例中,它是至少约99%。在一些实施例中,它是至少约99.5%。在一些实施例中,它是至少约99.9%。在一些实施例中,它是约100%。在一些实施例中,没有观察到脱靶编辑。在一些实施例中,所提供的技术提供高体内选择性。

[1133] 在一些实施例中,本披露提供多重编辑。在一些实施例中,多个靶腺苷被一起编

辑,其中一个或多个或每一个以与单独编辑时相比相当的水平独立编辑。

[1134] 各种结果呈现在例如本文的图和表中,作为示例说明提供的技术可以提供的各种益处和优势。

[1135] 如本文所证明的,尤其是,本披露提供了可提供有效编辑的包含各种修饰(例如,核碱基修饰、糖修饰、键联修饰等,及其组合和模式)的寡核苷酸。

[1136] 在一些实施例中,在编辑位点处和/或附近利用某些糖,例如天然DNA糖、2'-F修饰的糖等提供编辑活性。在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3',其中N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个独立地是核苷,N<sub>1</sub>和N<sub>0</sub>与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N<sub>1</sub>和N<sub>0</sub>与如本文所述的核苷酸间键联键合,并且N<sub>0</sub>与靶腺苷相对。在一些实施例中,N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,N<sub>1</sub>的糖是2'-修饰的糖(例如,2'-F修饰的糖),并且N<sub>0</sub>和N<sub>-1</sub>中的每一个的糖独立地是天然DNA糖。在一些实施例中,这样的寡核苷酸提供高编辑水平。在一些实施例中,2'-OR修饰的糖(其中R不是-H)在第二子结构域或编辑区之外使用,例如在第一结构域、第一子结构域和/或第三子结构域中。这样的经修饰的糖可以在这些结构域/子结构域的不同位置使用并且耐受性良好并且在多种情况下可以改善寡核苷酸的特性和/或活性。

[1137] 如本文所证明的,与各种先前报道的技术相比,所提供的技术可以使用显著更短的寡核苷酸来提供有效的编辑。在一些实施例中,各种长度(例如,27、28、29、20、31、32或更多个核苷)的寡核苷酸可以提供编辑。

[1138] 在一些实施例中,寡核苷酸的碱基序列与靶核酸的碱基序列具有足够的互补性,使得寡核苷酸可以在合适的条件下形成双链体,例如体内或体外编辑条件下。在一些实施例中,寡核苷酸相对于非靶核酸选择性地与靶核酸形成双链体。尽管对于包括靶腺苷编辑在内的各种用途优选或需要与靶核酸的某些水平的互补性,但通常不需要完全互补。在一些实施例中,存在如本文所述的一个或多个错配、凸起等。在一些实施例中,与靶腺苷相对的核苷的核碱基N<sub>0</sub>不与靶腺苷互补。在一些实施例中,次黄嘌呤被用来代替G,特别是如果接近或接近N<sub>0</sub>。在一些实施例中,第一结构域、第一子结构域和/或第三子结构域包含一个或多个,例如,1、2、3、4或更多个错配。

[1139] 在一些实施例中,寡核苷酸以手性受控的寡核苷酸组合物的形式提供。在一些实施例中,如本文所示,手性受控的寡核苷酸组合物提供各种期望的特性和/或活性。在一些实施例中,手性受控的寡核苷酸组合物与对应的立体随机寡核苷酸组合物(例如,具有相同构成但在手性键联磷处不是手性受控的寡核苷酸的组合物)相比提供改进的特性和/或活性。

[1140] 尤其是,申请人已经证实,包含各种修饰的寡核苷酸的组合物可以提供靶标编辑,并且与靶腺苷相对的核苷可以放置在寡核苷酸中的不同位置(例如,在一些情况下,距3'末端的位置5、6、7、8、9或更多)。还确认的是,不同版本的GalNAc(例如,在Mod001或L025中)可用于提供递送和/或活性。如本领域技术人员所理解的以及本文描述和证实的,在编辑后,所编辑的核碱基可执行G的多种功能(并且在一些情况下,编辑可称为A至G)。在各种实施例中,天然RNA糖可用于所提供的寡核苷酸中,并且在一些情况下,用于与靶腺苷相对的核苷中。在一些实施例中,RNA或DNA核苷在3'紧邻位置(N<sub>-1</sub>)处使用并且具有次黄嘌呤作为它们的核碱基。在一些实施例中,3'紧邻I或dI核苷通过S<sub>p</sub>不带负电荷的核苷酸间键联例如磷酸

基胍核苷酸间键联(诸如n001)与其3'紧邻核苷键合。尤其是,已证实了根据本披露可以在不同部分利用不同数目的不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,除了编辑区或第二子结构域之外,还利用非互补碱基配对(例如,摇摆和/或错配)。在一些实施例中,已证实了移除非互补碱基配对(例如,摇摆和/或错配)可以改善编辑效率。在一些实施例中,观察到某些核碱基提供改善的特性和/或活性。尤其是,已证实了一些实施例中,在N<sub>0</sub>处包含多种经修饰的核碱基(或无碱基核苷)的寡核苷酸可以提供编辑。在一些实施例中,观察到包含某些碱基修饰(诸如b001A、b002A、b008U等)的寡核苷酸与参考组合物相比增加了编辑活性。在一些实施例中,观察到在N<sub>0</sub>处包含某些碱基修饰(诸如b001A、b002A、b008U等)的寡核苷酸与参考组合物相比增加了编辑活性。在一些实施例中,所提供的寡核苷酸在包含核碱基的核苷之间包含无碱基部分。评估包含一个或多个无碱基单元代替包含核碱基的核苷的各种寡核苷酸并确认其能够提供编辑活性。在一些实施例中,观察到在某些位置的无碱基单元提供比其他位置更高的活性。在一些实施例中,观察到在某些情况下寡核苷酸可能通过ADAR1-p110、ADAR1-p150和ADAR2提供不同的绝对编辑水平和/或相对编辑水平。

[1141] 在一些实施例中,寡核苷酸与靶核酸中相同长度的序列完全互补。

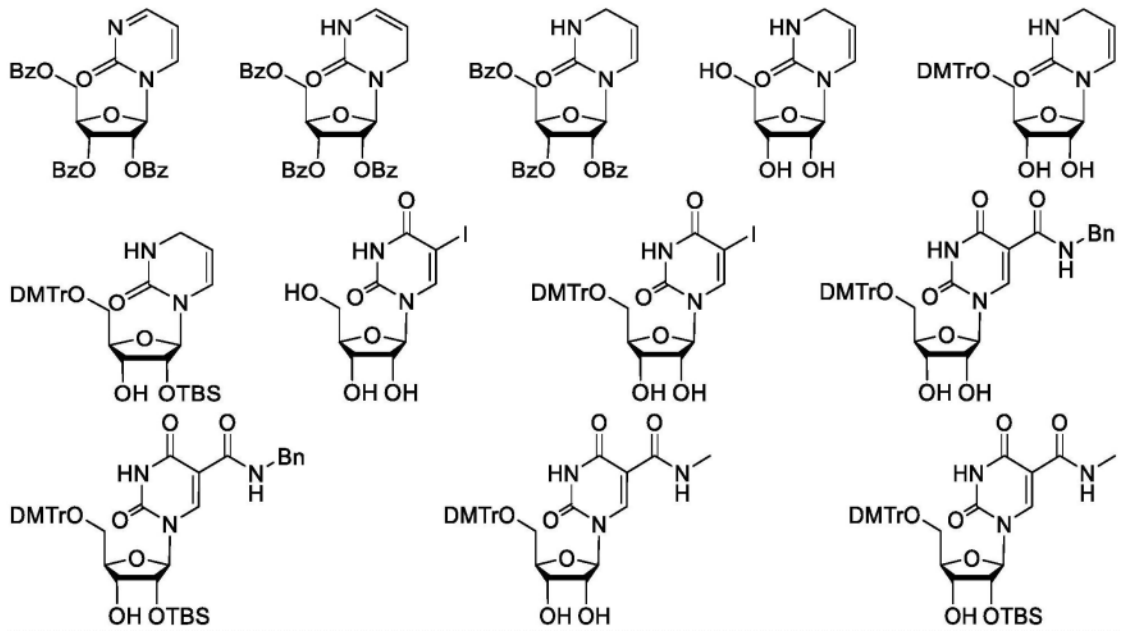
[1142] 所提供的技术可以在存在ADAR1和/或ADAR2的情况下提供稳健编辑。所提供的技术可以在存在ADAR1-p110和/或ADAR1-p150的情况下提供稳健编辑。

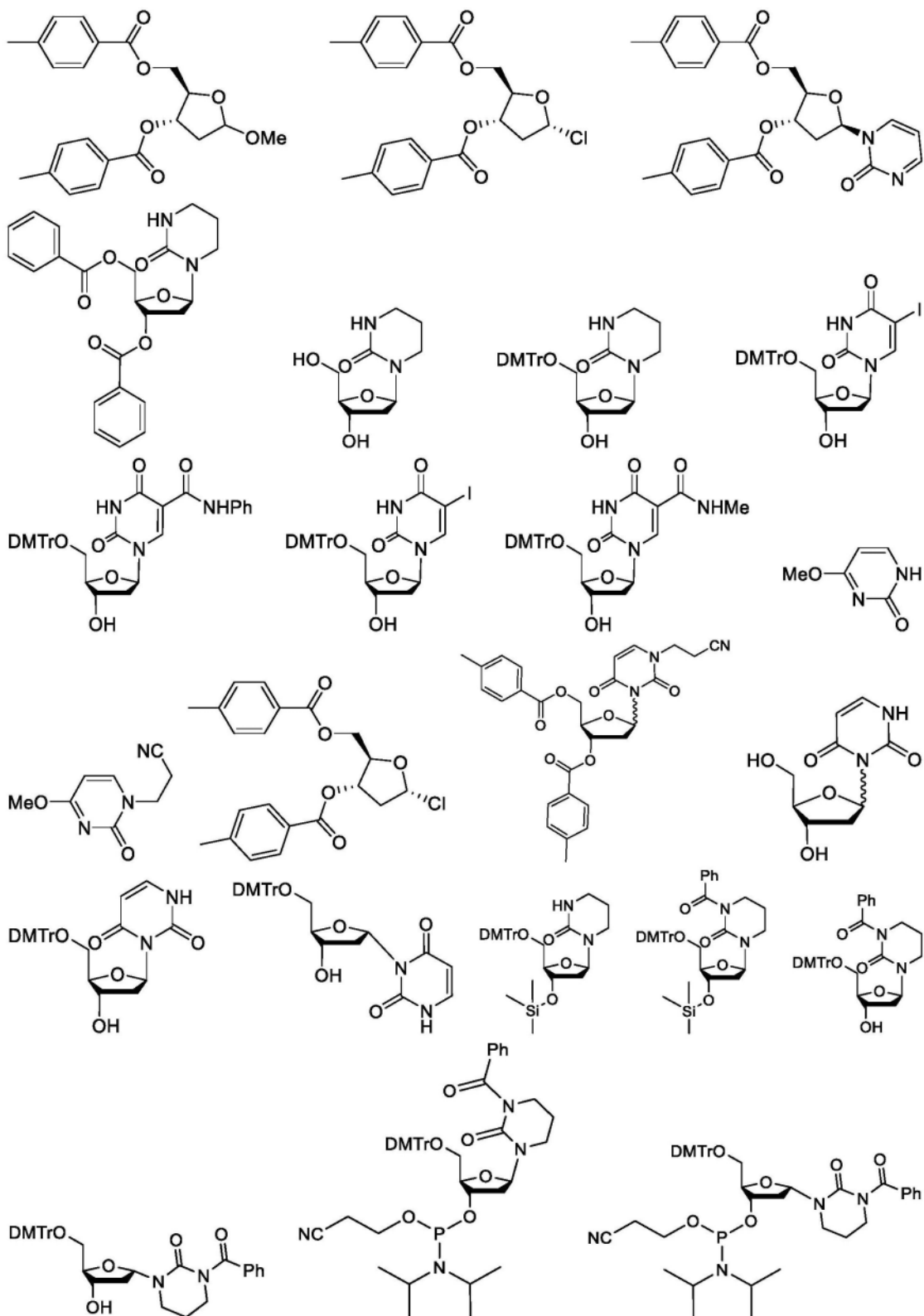
[1143] 确认本披露的技术的各种特性、活动、优点等的的数据作为各种实例和图中的示例提供,包括优先权申请中的那些,其中每一个的整体通过引用独立地并入本文。WO 2021/071858(其整体通过引用并入本文)中描述了可根据本披露使用的某些有用技术,例如结构元件、测定、靶标等。

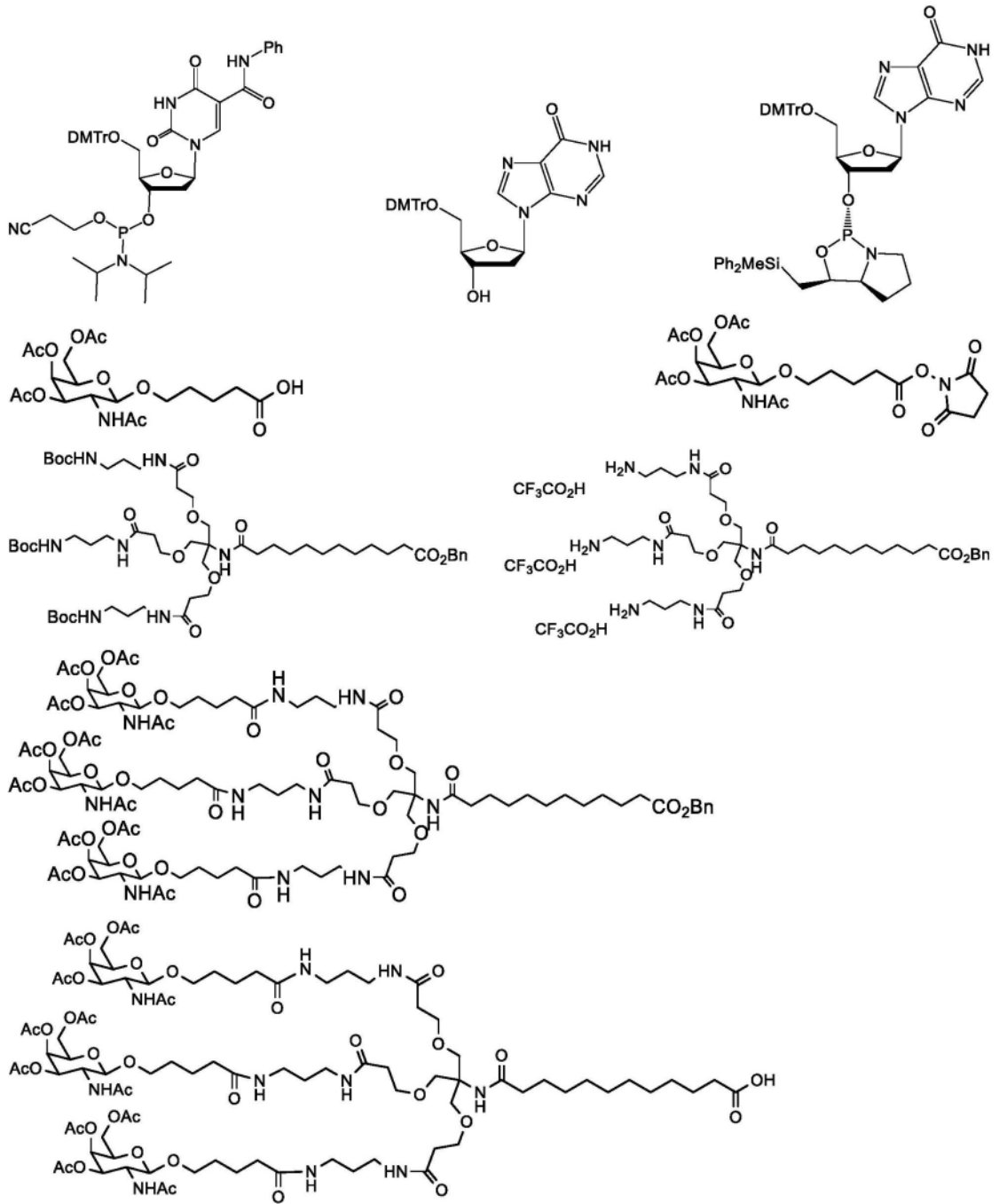
[1144] 实例2. 制备寡核苷酸和组合物的技术。

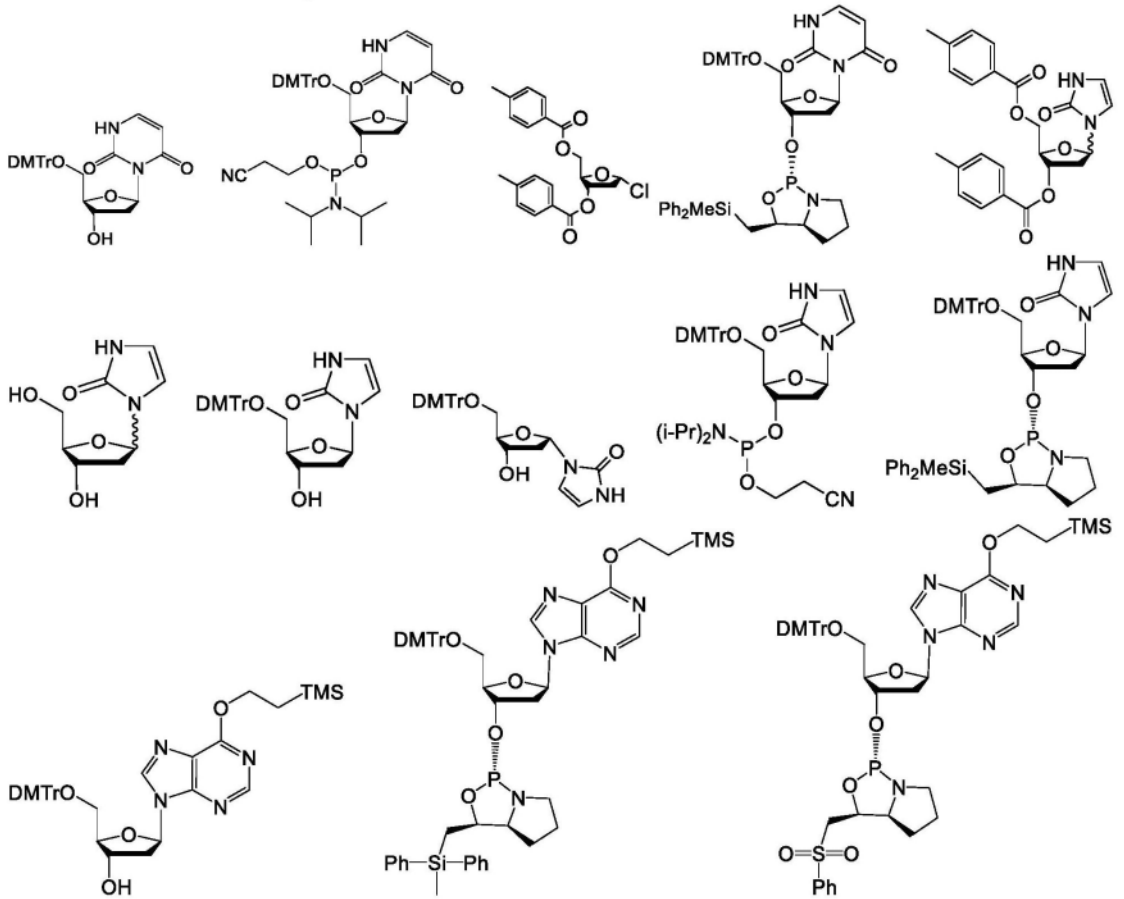
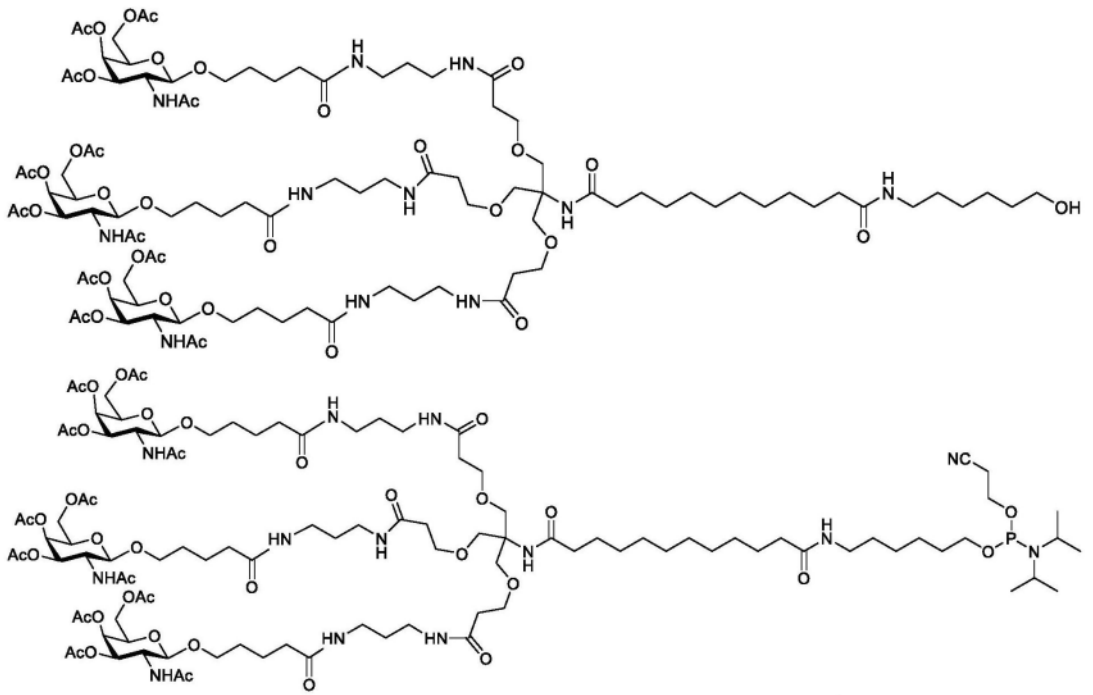
[1145] 可以根据本披露利用用于制备提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物(例如,寡核苷酸组合物、药物组合物等)等)的各种技术(例如,亚磷酰胺、核碱基、核苷等),包括例如在以下文献中描述的方法和试剂:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,它们各自的方法和试剂通过援引并入本文。在一些实施例中,本披露提供了用于制备寡核苷酸及其组合物的有用技术。

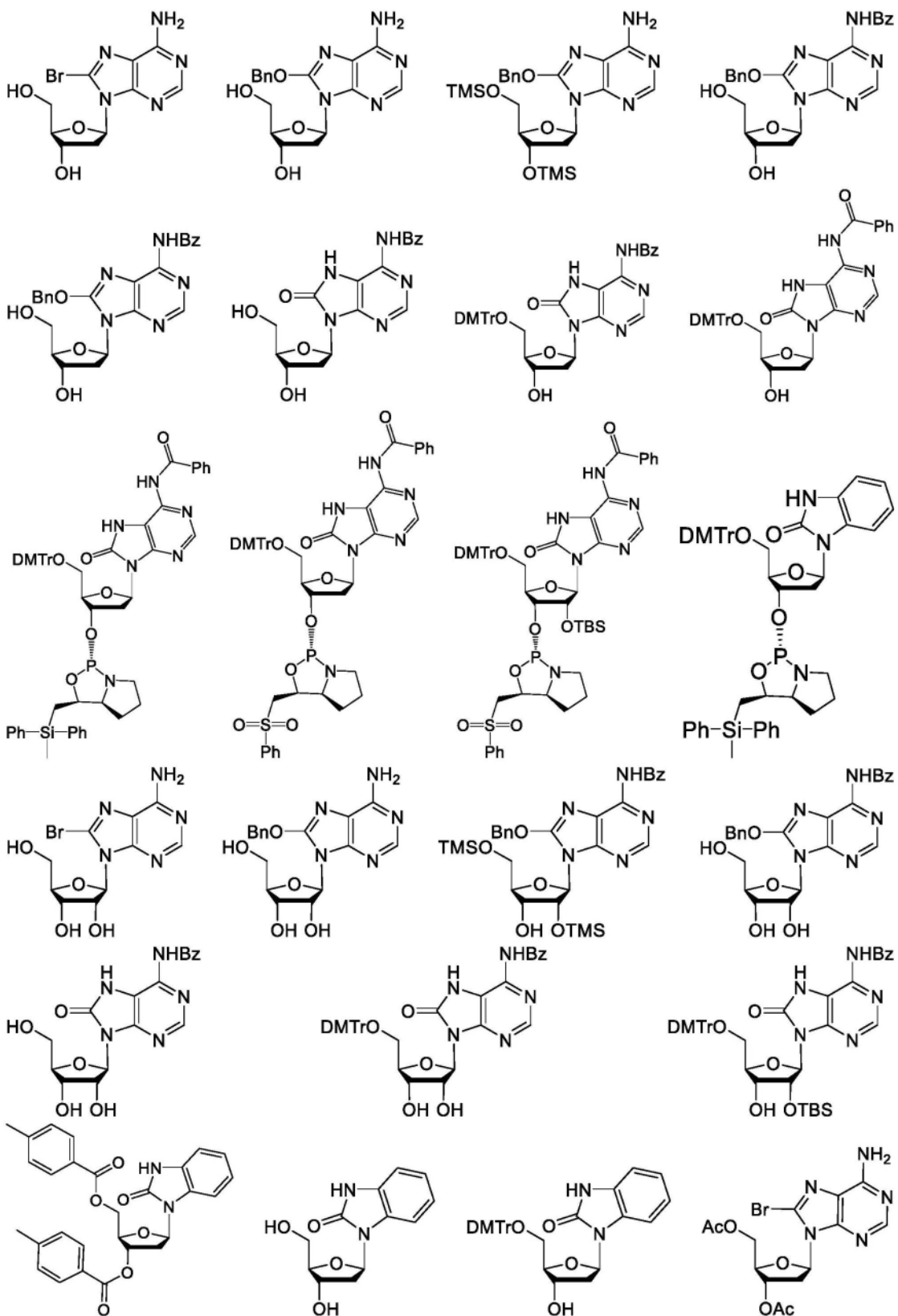
[1146] 在一些实施例中,有用的化合物包括下述那些或其盐。在一些实施例中,化合物是利用优先权申请和WO 2021/071858(其每一个的整体通过引用并入本文)中描述的技术制备的。

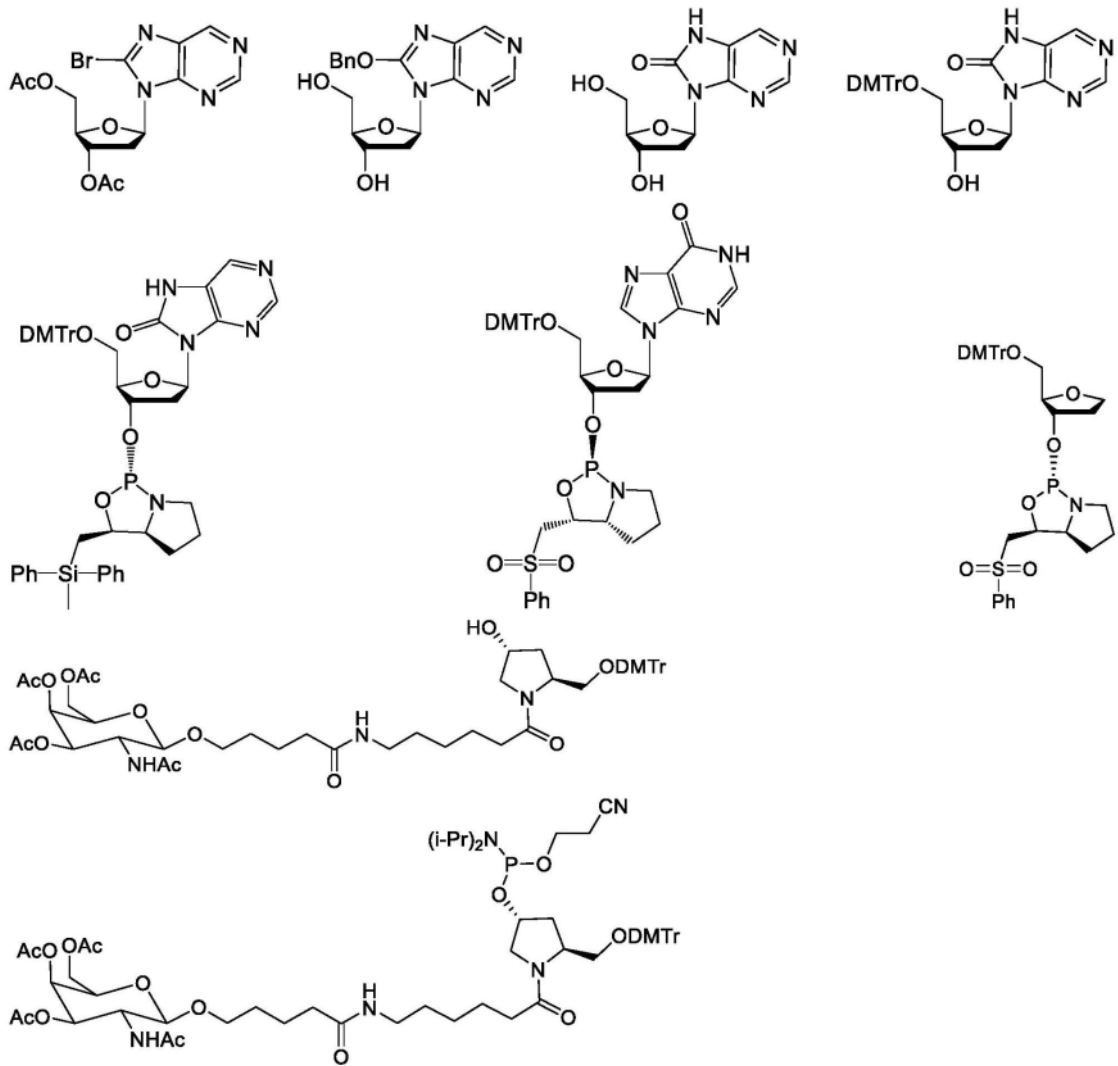






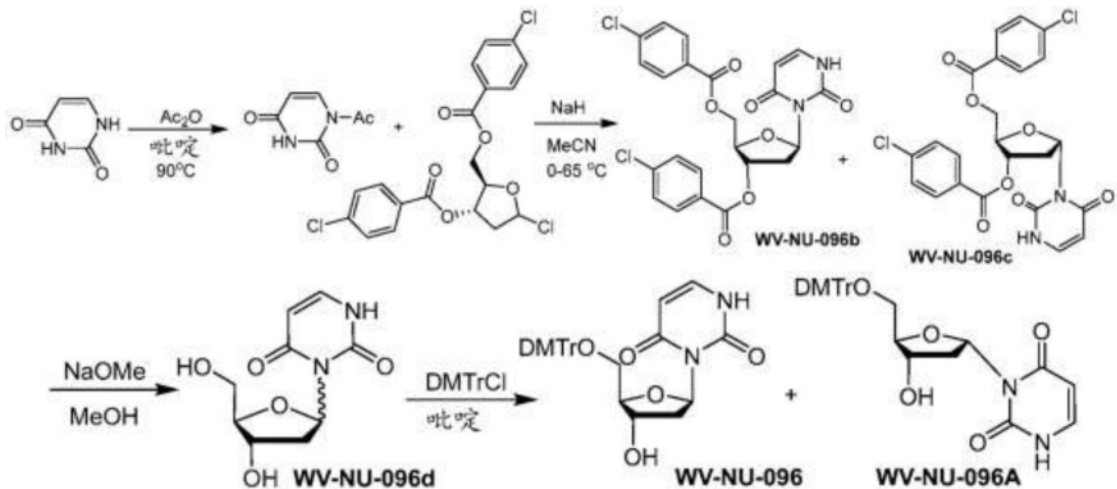






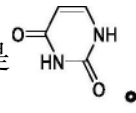
[1147] 用于制备各种另外的有用化合物的某些有用技术在下面作为实例描述。

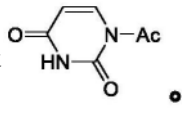
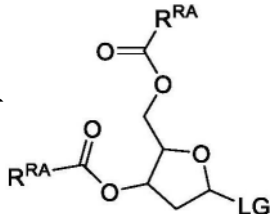
[1148] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢咪喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096)和3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢咪喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096A)的合成



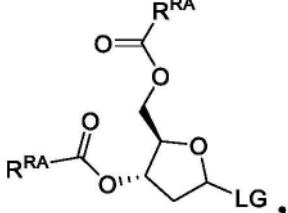
[1149] 在一些实施例中,本披露提供用于制备核碱基、糖、核苷等的化合物和方法。在一些实施例中,化合物具有 $\text{NH}(\text{R}')_2$ 或其盐的结构,其中每个 $\text{R}'$ 如本文所述。在一些实施例中,

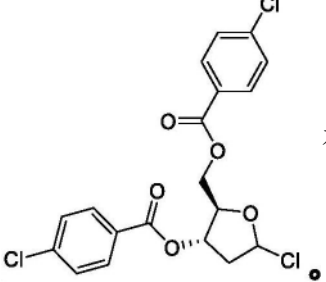
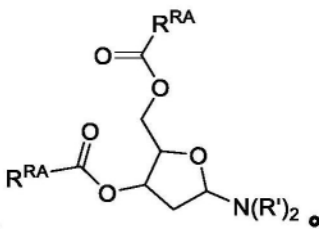
两个R'连同它们所连接的氮一起形成任选地经取代的环。在一些实施例中,形成的环是任选地经取代的单环饱和的、部分不饱和的和或芳香族的环,其除氮外还具有0-2个杂原子。在

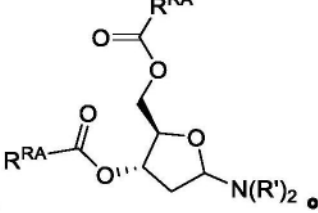
一些实施例中,NH(R')<sub>2</sub>是核碱基。在一些实施例中,化合物是  在一些实施例中,NH(R')或核碱基被适当地保护,使得反应选择性地发生在所期望的氨基处。在一些实施例中,

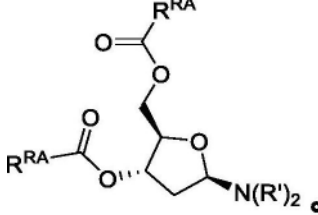
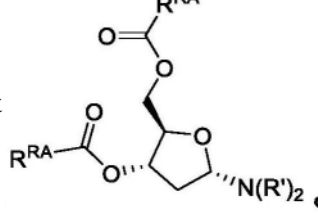
化合物是  在一些实施例中,化合物具有  的结构,其中LG是

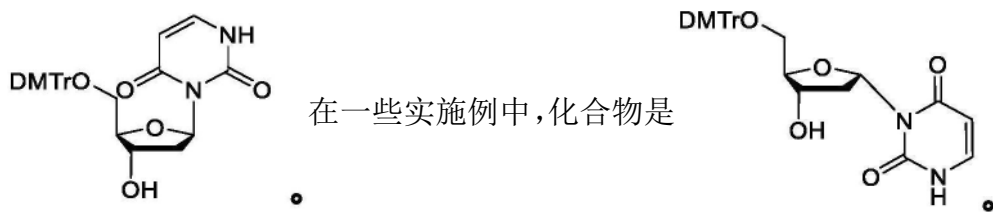
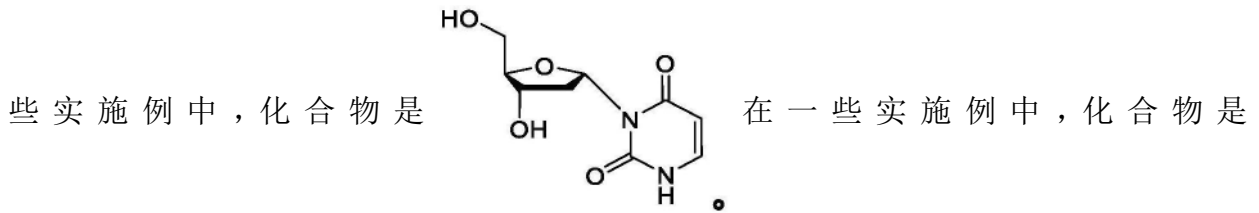
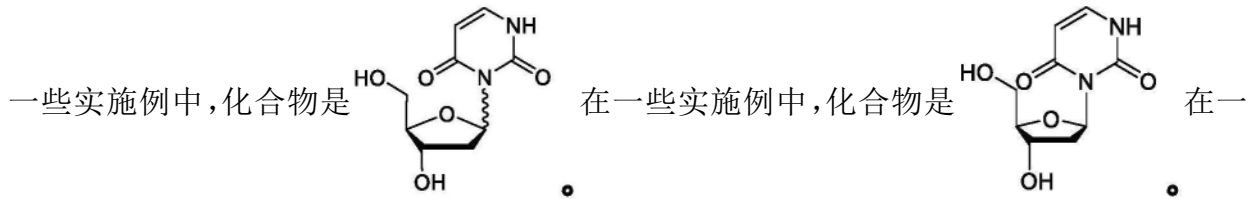
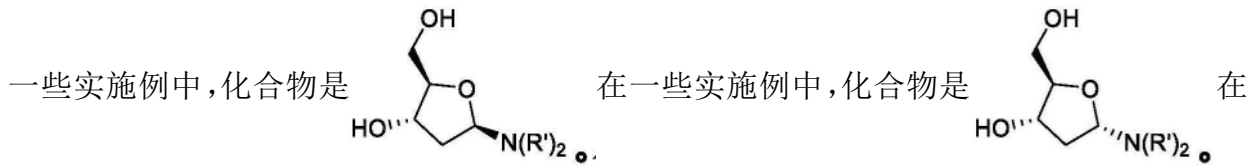
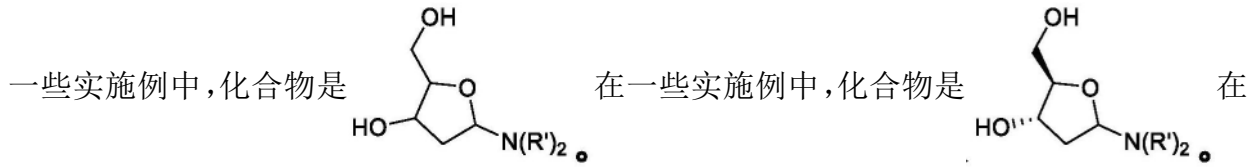
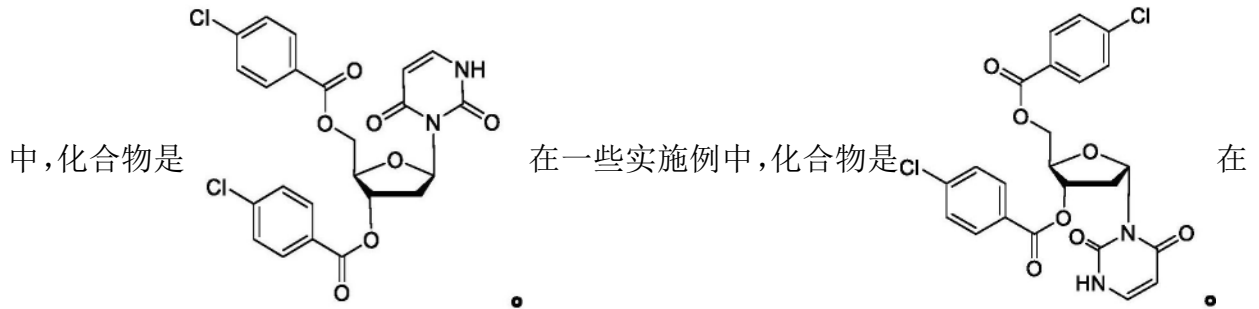
离去基团,并且每个R<sup>RA</sup>独立地是经取代的C<sub>6-10</sub>芳基或C<sub>5-10</sub>杂芳基(具有1-6个杂原子),其中至少一个取代基独立地是吸电子基团。在一些实施例中,每个取代基独立地是吸电子基团。在一些实施例中,R<sup>RA</sup>是经取代的芳基,其中取代基是吸电子基团。在一些实施例中,每个R<sup>RA</sup>独立地是经取代的芳基,其中取代基是吸电子基团。在一些实施例中,吸电子基团是-Cl。在一些实施例中,R<sup>RA</sup>是对氯苯基。在一些实施例中,每个R<sup>RA</sup>是对氯苯基。在一些实施例中,离去基团是-Cl。本领域技术人员理解根据本披露可以使用各种吸电子基团和离去基团。在一

些实施例中,化合物是  其中每个变量独立地如本文所述。在一些实施

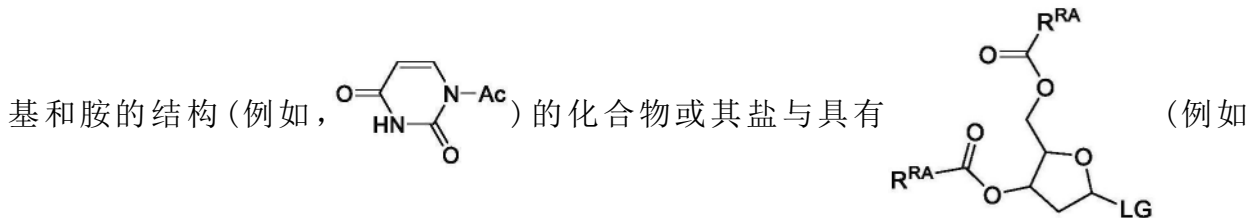
例中,化合物是  在一些实施例中,化合物是 

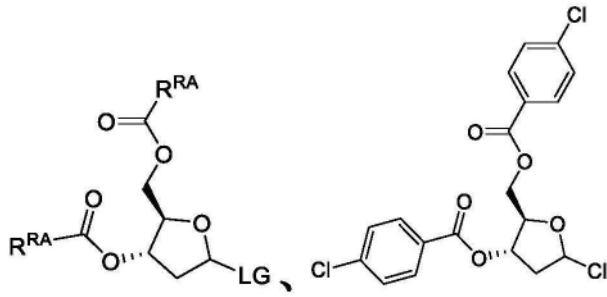
在一些实施例中,化合物是  在一些实施例中,化合物是

 在一些实施例中,化合物是  在一些实施例

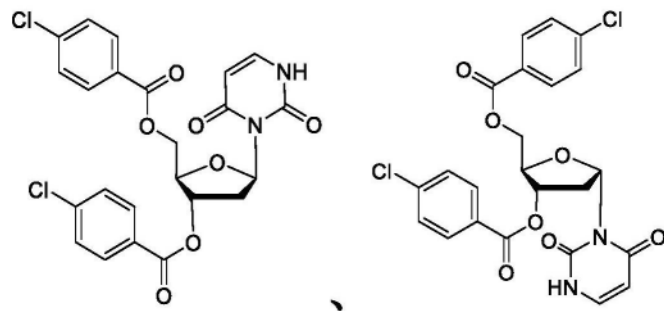
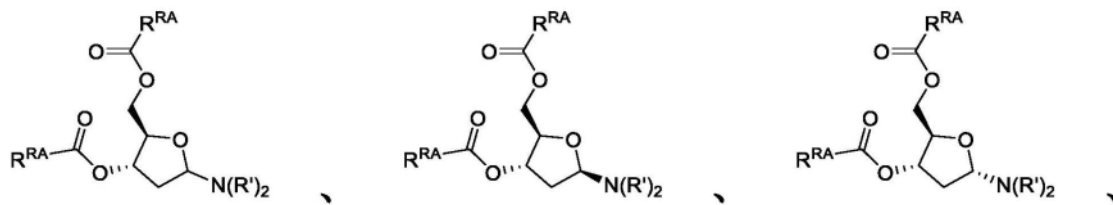
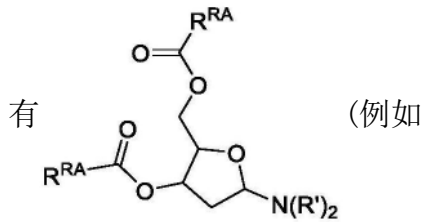


[1150] 在一些实施例中,本披露提供了一种方法,该方法包括使选自具有NH(R')<sub>2</sub>、核碱



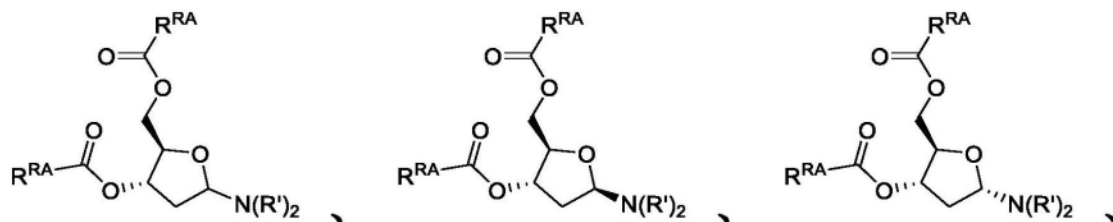
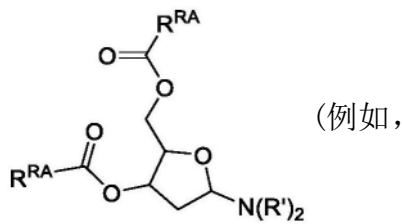


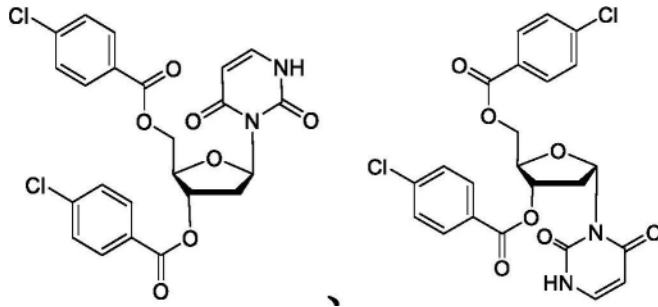
等) 的结构化合物或其盐进行反应以提供具



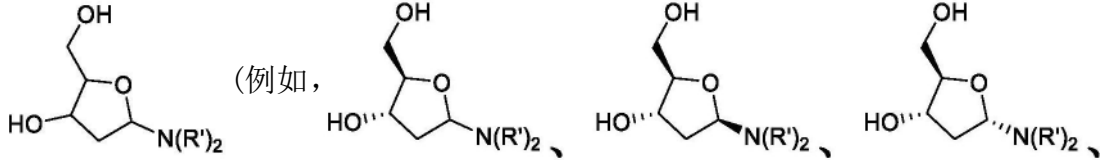
等) 的结构化合物或其盐。在一些实施例

中, 反应在碱性条件下进行, 例如在NaH的存在下。在一些实施例中, 合适的溶剂是MeCN。在一些实施例中, 合适的温度是0至65°C。在一些实施例中, 所提供的方法包括将具有

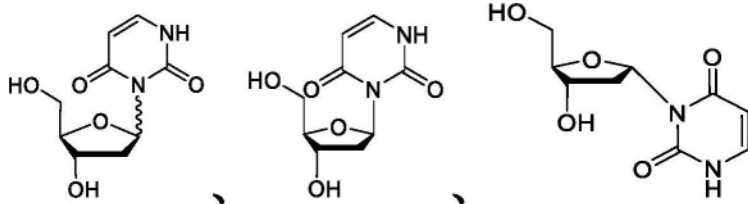




等) 的结构的化合物或其盐转化为具有

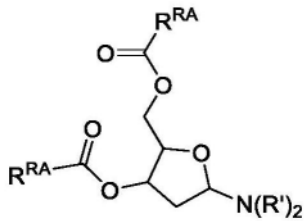


(例如,



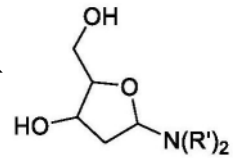
等) 的结构的化合物或其盐。在一些

实施例中, 转化在酯水解条件下进行。在一些实施例中, 转化包括使具有

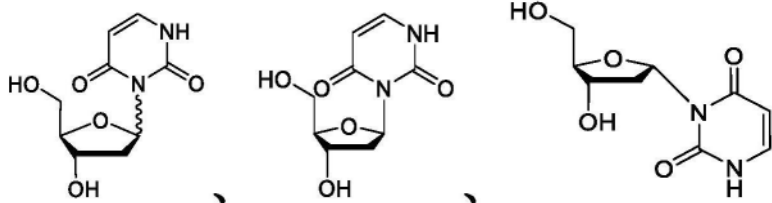
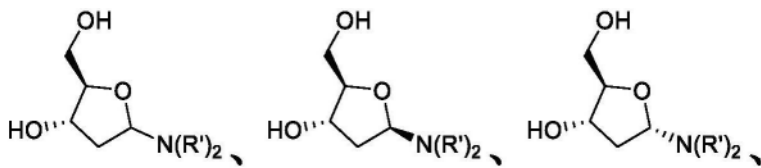


结构的化合物或其盐与碱 (例如NaOMe) 在合适的溶剂 (例如醇如

MeOH) 中接触。在一些实施例中, 方法包括保护具有

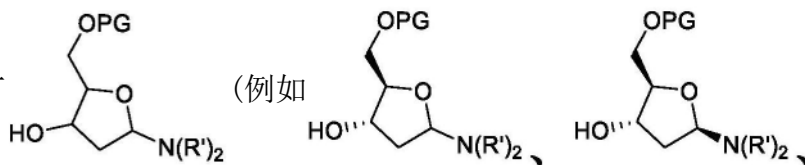


(例如,

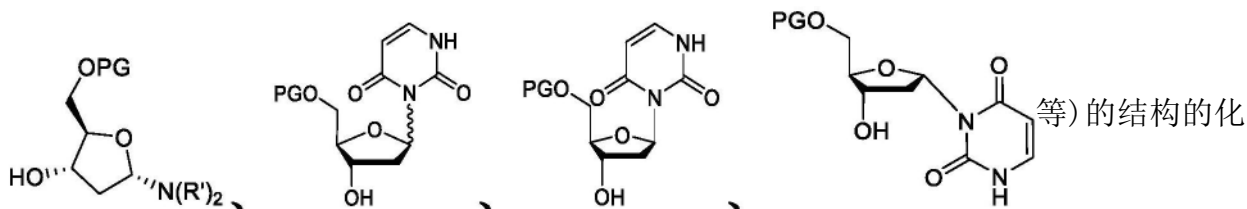


等) 的结构的化合物或其盐的5'-

OH以提供具有



(例如



合物或其盐,其中PGO是被保护的-OH基团。在一些实施例中,PGO作为DMTrO。

[1151] 步骤1. 向嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(100g,892.17mmol,1当量)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加Ac<sub>2</sub>O(546.48g,5.35mol,501.36mL,6当量)。将混合物在120℃搅拌3小时。将反应混合物减压浓缩得到粗产物,并且将残余物用EtOAc(100mL)洗涤,过滤并将滤饼减压干燥得到产物。获得呈白色固体的1-乙酰嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(100g,648.83mmol,72.73%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=11.55(br s,1H),8.12(d,J=8.4Hz,1H),5.80(dd,J=2.2,8.5Hz,1H),2.70-2.55(m,3H);TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1),R<sub>f</sub>=0.72。

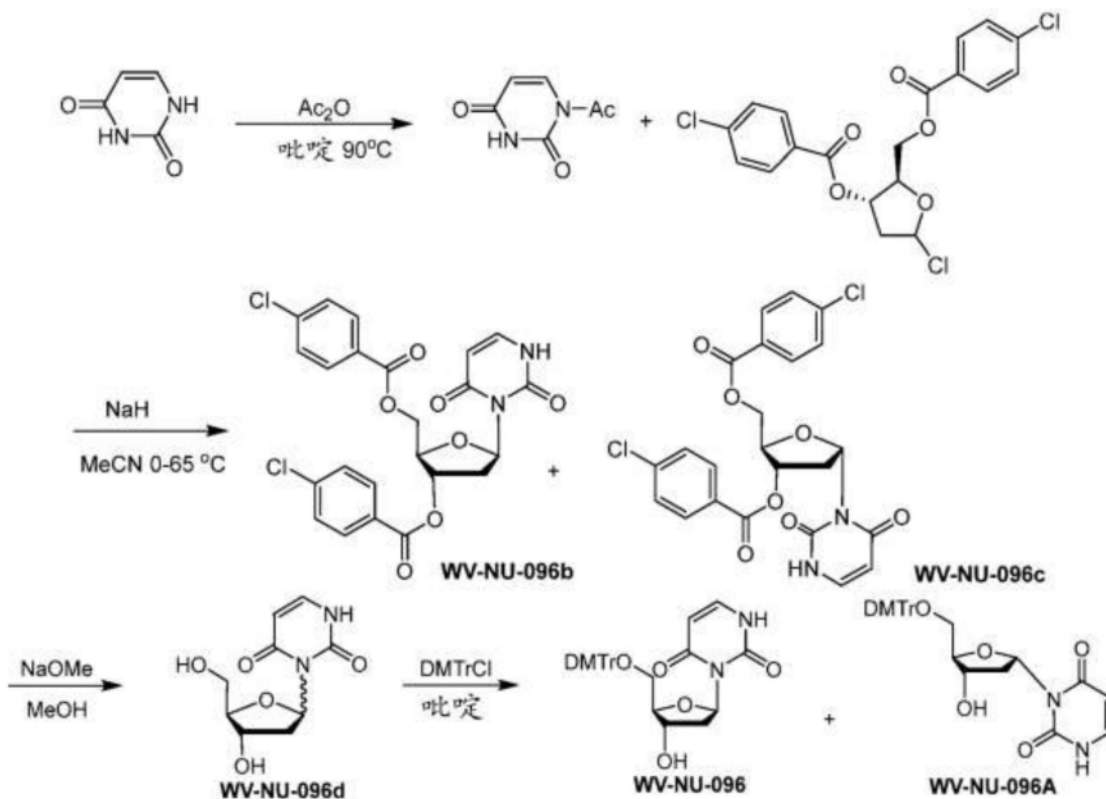
[1152] 步骤2. 在氩气氛下将清洁干燥的三颈3升圆底烧瓶装载1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(17g,110.30mmol,1当量)并溶解到干MeCN(1700mL)中。使用冰浴将反应混合物冷却至0℃。将NaH(6.62g,165.45mmol,60%纯度,1.5当量)分批加入反应混合物中并在0℃搅拌30分钟。分批添加(2R,3S)-5-氯-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基4-氯苯甲酸酯(65.88g,153.32mmol,1.39当量)并且将反应混合物在0℃搅拌30分钟,并在65℃搅拌3小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1,R<sub>f</sub>=0.24)显示反应物1被消耗,并形成新的斑点。然后,将反应混合物冷却至室温并使用Whatman滤纸通过烧结漏斗过滤。减压浓缩滤液,以给出粗产物。将粗产物通过硅胶柱色谱(100-200目)纯化。将产物用以下洗脱:50%至80%EtOAc:石油醚,然后将固体与DCM(30mL)一起研磨,以给出呈黄色固体的化合物WV-NU-096b和化合物WV-NU-096c(50g)的混合物。

[1153] 步骤3. 向WV-NU-096b和WV-NU-096c(45g,89.06mmol,1当量)在MeOH(500mL)中的混合物溶液中加入NaOMe(12.03g,222.65mmol,2.5当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。添加12.03g NH<sub>4</sub>Cl,搅拌30分钟,过滤,并且将滤液减压浓缩得残余物。将残余物通过柱色谱(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/1至0/1,然后乙酸乙酯/甲醇=5/1)纯化得到呈黄色固体的WV-NU-096d(20g,87.64mmol,产率98.41%)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>)=227.0

[1154] 步骤4. 向WV-NU-096d(20.00g,87.64mmol,1当量)在吡啶(200mL)中的溶液中加入DMTC1(35.26g,104.07mmol,1.19当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。将反应混合物用水(200mL)淬灭并用乙酸乙酯400mL(200mL\*2)萃取。将合并的有机层用50mL饱和盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并减压浓缩,以给出残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex Titank C18 Bulk250\*70mm 10u;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:45%-75%,20min)得到呈白色固体的WV-NU-096(30g,55.27mmol,63.06%产率,97.75%纯度)和WV-NU-096A(5g,9.20mmol,10.50%产率,97.61%纯度)。WV-NU-096:<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=11.14-10.94(m,1H),7.47-7.31(m,3H),7.27-7.21(m,6H),7.20-7.13(m,1H),6.86-6.77(m,4H),6.61-6.52(m,1H),5.57-5.49(m,1H),5.08-5.02(m,1H),4.29-4.19(m,1H),3.87-3.76(m,1H),3.74-3.69(m,6H),3.24-3.16(m,1H),3.08-3.01(m,1H),2.62-2.52(m,1H),2.04-1.92(m,1H);LCMS(M-H<sup>+</sup>):529.2,LCMS纯度:97.75%。WV-NU-096A:<sup>1</sup>H NMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=11.25-11.01(m,1H),7.49-7.43(m,1H),7.41-7.35(m,2H),7.33-

7.28 (m, 2H), 7.27-7.17 (m, 5H), 6.95-6.84 (m, 4H), 6.57-6.44 (m, 1H), 5.63-5.56 (m, 1H), 5.28-5.19 (m, 1H), 4.34-4.24 (m, 1H), 4.12-3.99 (m, 1H), 3.77-3.69 (m, 6H), 3.17-3.10 (m, 1H), 2.98-2.89 (m, 1H), 2.60-2.53 (m, 1H), 2.38-2.30 (m, 1H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 529.2, LCMS纯度: 97.61%。

[1155] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096)和3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-096A)的合成



[1156] 步骤1. 向嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(100g, 892.17mmol, 1当量)在吡啶(1000mL)中的溶液中添加Ac<sub>2</sub>O(546.48g, 5.35mol, 501.36mL, 6当量)。将混合物在120°C搅拌3小时。将反应混合物减压浓缩得到粗产物,并且将残余物用EtOAc(100mL)洗涤,过滤并将滤饼减压干燥得到产物。获得呈白色固体的1-乙酰嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(100g, 648.83mmol, 72.73%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=11.55(br s, 1H), 8.12(d, J=8.4Hz, 1H), 5.80(dd, J=2.2, 8.5Hz, 1H), 2.70-2.55(m, 3H); TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1), R<sub>f</sub>=0.72。

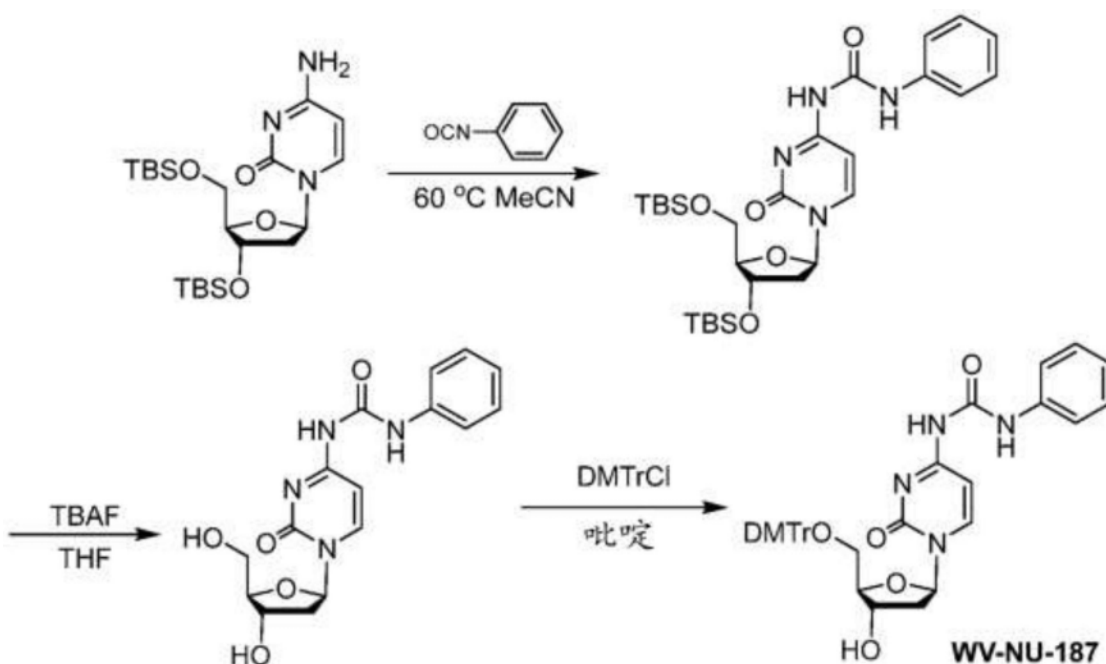
[1157] 步骤2. 在氩气氛下将清洁干燥的三颈3升圆底烧瓶装载1-乙酰基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(17g, 110.30mmol, 1当量)并溶解到干MeCN(1700mL)中。使用冰浴将反应混合物冷却至0°C。将NaH(6.62g, 165.45mmol, 60%纯度, 1.5当量)分批加入反应混合物中并在0°C搅拌30分钟。分批添加(2R,3S)-5-氯-2-(((4-氯苯甲酰基)氧基)甲基)四氢呋喃-3-基4-氯苯甲酸酯(65.88g, 153.32mmol, 1.39当量)并且将反应混合物在0°C搅拌30分钟,然后在65°C搅拌3小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1, R<sub>f</sub>=0.24)显示反应物1被消耗,并形成新的斑点。然后,将反应混合物冷却至室温并使用Whatman滤纸通过烧结漏斗过滤。减压浓缩滤液得到粗产物。将粗产物通过硅胶柱色谱(100-200目)纯化。将产物用以下洗脱:50%至80% EtOAc:石油醚,然后将固体与DCM(30mL)一起研磨,得到呈黄色固体的化合物WV-NU-096b和

化合物WV-NU-096c (50g)的混合物。

[1158] 步骤3.向WV-NU-096b和WV-NU-096c (45g, 89.06mmol, 1当量) 在MeOH(500mL) 中的混合物溶液中加入NaOMe (12.03g, 222.65mmol, 2.5当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。添加12.03g NH<sub>4</sub>Cl, 搅拌30分钟, 过滤, 并且将滤液减压浓缩得残余物。将残余物通过柱色谱 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/1至0/1, 然后乙酸乙酯/甲醇=5/1) 纯化得到呈黄色固体的WV-NU-096d (20g, 87.64mmol, 产率98.41%)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>) = 227.0

[1159] 步骤4.向WV-NU-096d (20.00g, 87.64mmol, 1当量) 在吡啶 (200mL) 中的溶液中加入DMTrCl (35.26g, 104.07mmol, 1.19当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。将反应混合物用水 (200mL) 淬灭并用乙酸乙酯400mL (200mL\*2) 萃取。将合并的有机层用50mL饱和盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 以给出残余物。将残余物通过制备型HPLC纯化 (柱: Phenomenex Titank C18 Bulk250\*70mm 10u; 流动相: [水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>) - ACN]; B%: 45% - 75%, 20min) 得到呈白色固体的WV-NU-096 (30g, 55.27mmol, 63.06%产率, 97.75%纯度) 和WV-NU-096A (5g, 9.20mmol, 10.50%产率, 97.61%纯度)。WV-NU-096: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 11.14-10.94 (m, 1H), 7.47-7.31 (m, 3H), 7.27-7.21 (m, 6H), 7.20-7.13 (m, 1H), 6.86-6.77 (m, 4H), 6.61-6.52 (m, 1H), 5.57-5.49 (m, 1H), 5.08-5.02 (m, 1H), 4.29-4.19 (m, 1H), 3.87-3.76 (m, 1H), 3.74-3.69 (m, 6H), 3.24-3.16 (m, 1H), 3.08-3.01 (m, 1H), 2.62-2.52 (m, 1H), 2.04-1.92 (m, 1H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 529.2, LCMS纯度: 97.75%。WV-NU-096A: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 11.25-11.01 (m, 1H), 7.49-7.43 (m, 1H), 7.41-7.35 (m, 2H), 7.33-7.28 (m, 2H), 7.27-7.17 (m, 5H), 6.95-6.84 (m, 4H), 6.57-6.44 (m, 1H), 5.63-5.56 (m, 1H), 5.28-5.19 (m, 1H), 4.34-4.24 (m, 1H), 4.12-3.99 (m, 1H), 3.77-3.69 (m, 6H), 3.17-3.10 (m, 1H), 2.98-2.89 (m, 1H), 2.60-2.53 (m, 1H), 2.38-2.30 (m, 1H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 529.2, LCMS纯度: 97.61%。

[1160] 1-(1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢咪喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲(WV-NU-187)的合成



[1161] 步骤1.向4-氨基-1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁

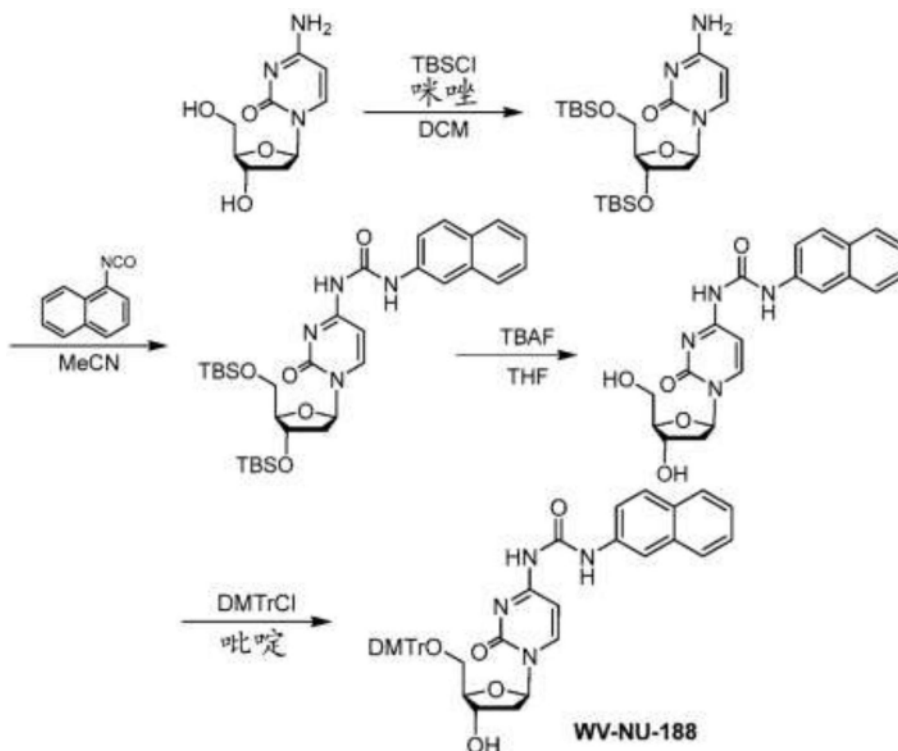
基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(98g, 215.04mmol, 1当量)在ACN(1000mL)中的溶液中添加异氰酸基苯(29.93g, 251.26mmol, 27.21mL, 1.17当量)。将混合物在20℃搅拌6小时。过滤反应混合物,需要固体。将滤液通过添加100mL水来淬灭。用ACN(300mL\*3)洗涤固体。获得呈白色固体的1-(1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲(90g,粗品)。LCMS(M-H<sup>+</sup>):573.2

[1162] 步骤2.向1-(1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲(90g, 156.56mmol, 1当量)在THF(900mL)中的溶液中添加TBAF(1M, 391.40mL, 2.5当量)。将混合物在20℃搅拌3小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1, R<sub>f</sub>=0.1)表明起始原料完全消耗并且形成了一个新斑点。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>, 乙酸乙酯/甲醇=1/0至3/1)得到呈白色固体的1-(1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲(54g,粗品)。

步骤3.向1-(1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲(53g, 153.03mmol, 1当量)在吡啶(500mL)中的溶液中添加DMTC1(77.78g, 229.55mmol, 1.5当量)。将混合物在20℃搅拌5小时。将反应混合物通过添加甲醇200mL淬灭,然后减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱法纯化以得到呈黄色固体的WV-NU-187(26g, 39.79mmol, 76.56%产率, 99.28%纯度)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, 氯仿-d) δ=11.57-10.79(m, 2H), 8.18(d, J=7.7Hz, 1H), 7.68(br d, J=7.8Hz, 2H), 7.41(br d, J=7.6Hz, 2H), 7.36-7.22(m, 9H), 7.17(d, J=8.8Hz, 1H), 7.04(br t, J=7.3Hz, 1H), 6.92-6.79(m, 4H), 6.30(br t, J=5.4Hz, 1H), 4.45(br d, J=5.0Hz, 1H), 4.10-4.05(m, 1H), 3.80(s, 6H), 3.59-3.35(m, 2H), 2.68-2.55(m, 1H), 2.34

-2.19(m, 2H); LCMS(M-H<sup>+</sup>):647.3; 纯度:99.28%。

[1163] 1-(1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-(萘-2-基)脲(WV-NU-188)的合成



[1164] 步骤1. 两批: 向4-氨基-1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(25g, 110.03mmol, 1当量)在DCM(250mL)中的溶液加入咪唑(59.92g, 880.22mmol, 8当量)和TBSCl(66.33g, 440.11mmol, 53.93mL, 4当量)。将混合物在20℃搅拌12小时。将反应混合物用水500mL稀释并用二氯甲烷(500mL\*2)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物, 得到呈无色油状物的4-氨基-1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(100g, 粗品)。LCMS(M-H<sup>+</sup>): 454.5, 纯度: 99.93%

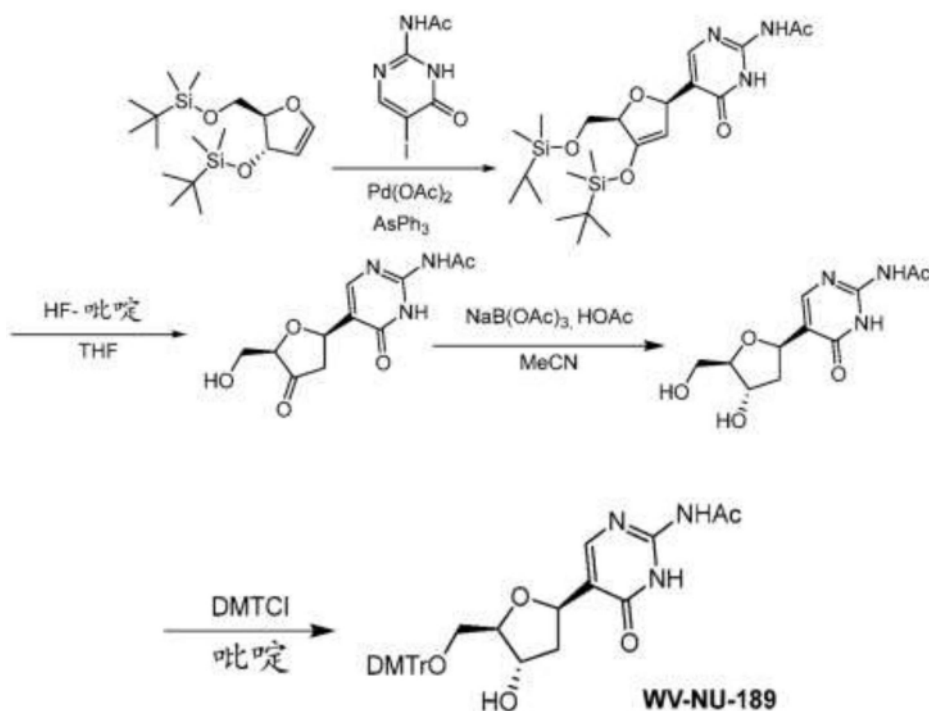
[1165] 步骤2. 对于两批: 向4-氨基-1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(46.5g, 102.03mmol, 1当量)在MeCN(500mL)中的溶液中加入1-异氰酸基萘(17.26g, 102.03mmol, 14.63mL, 1当量)。将混合物在20℃搅拌12小时。将反应混合物用水500mL稀释并用DCM(200mL\*2)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩, 得到呈白色固体的1-(1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-(萘-2-基)脲(127g)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=12.51(br s, 1H), 10.48(s, 1H), 8.46-7.90(m, 4H), 7.71-7.45(m, 4H), 6.36-6.13(m, 2H), 4.39(br d, J=4.5Hz, 1H), 3.92-3.69(m, 3H), 2.39-2.17(m, 2H), 0.88(br d, J=7.5Hz, 18H), 0.08(br d, J=1.1Hz, 12H); LCMS(M-H<sup>+</sup>): 622.9, 纯度: 85.7%

[1166] 步骤3. 对于两批: 向1-(1-((2R,4S,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-(萘-2-基)脲(63.5g, 101.61mmol, 1当量)在THF(600mL)中的溶液中添加TBAF(1M, 254.03mL, 2.5当量)。将混合物在20℃搅拌2小时。将反应混合物减压浓缩以给出残余物。向反应加入500mL乙酸乙酯, 在25℃搅拌30分钟以析出固体, 将其过滤得到呈白色固体的1-(1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-

(萘-2-基)脲(80g)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ =8.65-8.56(m,1H),8.38(d,J=7.6Hz,1H),8.08(br d,J=7.3Hz,1H),7.89(br dd,J=2.9,6.5Hz,1H),7.58-7.39(m,4H),6.36-6.18(m,2H),4.33-4.25(m,1H),3.81(br d,J=3.5Hz,1H),3.69-3.57(m,2H),2.27-2.18(m,1H),2.05(td,J=6.3,13.0Hz,1H);LCMS(M-H<sup>+</sup>):395.1,纯度:97.74%。

[1167] 步骤4.对于两批:向1-(1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-(萘-2-基)脲(40g,100.91mmol,1当量)在吡啶(400mL)中的溶液中添加DMTC1(51.29g,151.36mmol,1.5当量)。将混合物在25℃搅拌12小时。将反应混合物用水800mL稀释并用乙酸乙酯(400mL\*4)萃取。将合并的有机层用400mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1,5% TEA)得到呈白色固体的WV-NU-188(82g,117.35mmol,58.57%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>) $\delta$ =10.53(s,1H),8.44(br d,J=8.0Hz,1H),8.29(d,J=7.5Hz,1H),8.12(d,J=7.4Hz,1H),7.98-7.94(m,1H),7.69(d,J=8.3Hz,1H),7.64-7.55(m,2H),7.50(t,J=7.9Hz,1H),7.43-7.37(m,2H),7.37-7.22(m,7H),6.91(dd,J=1.0,8.9Hz,4H),6.25-6.13(m,2H),5.40(d,J=4.6Hz,1H),4.34(quin,J=5.3Hz,1H),3.74(s,6H),3.30(br d,J=3.6Hz,2H),2.44-2.35(m,1H),2.28-2.19(m,1H);LCMS(M-H<sup>+</sup>):697.3;纯度:99.66%。

[1168] N-(5-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(WV-NU-189)的合成



[1169] 步骤1.在氩气氛下向BSA(73.19g,359.80mmol,88.94mL,3.1当量)溶液中滴加N-(5-碘-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(80.97g,290.16mmol,2.5当量)在DMF(500mL)中的悬浮液。搅拌1小时后,反应液变为澄清溶液。然后添加DIPEA(46.50g,359.80mmol,62.67mL,3.1当量)和叔丁基(((2R,3S)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,3-二氢呋喃-2-基)甲氧基)二甲基硅烷(40g,116.06mmol,1当量)。在另一个烧瓶中,将 $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1.82g,8.12mmol,0.07当量)添加到三苯膦(14.22g,46.43mmol,0.4当量)在搅拌的DMF

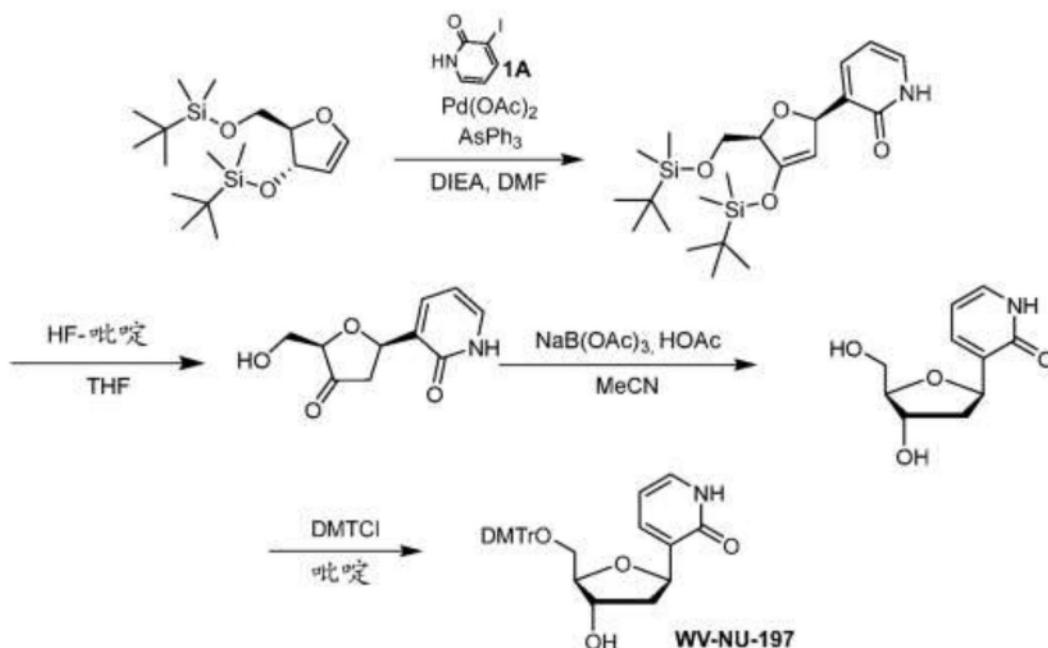
(500mL)中的溶液中。30分钟后,将该溶液缓慢添加到第一个烧瓶中,并将混合物在80℃搅拌12小时。通过加入H<sub>2</sub>O(30mL)来淬灭反应并且在减压下蒸发溶剂。将残余物重新溶解在EtOAc(500mL)中并用H<sub>2</sub>O(2\*100mL)和盐水(200mL)洗涤。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)得到呈白色固体的N-(5-((2R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2,5-二氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(25g,50.43mmol,43.45%产率)。<sup>1</sup>H NMR(氯仿-d,400MHz): $\delta$ =8.27(d,J=2.0Hz,1H),8.22(br d,J=8.0Hz,2H),7.98(dd,J=8.6,2.3Hz,1H),7.30-7.39(m,4H),5.69(dd,J=3.8,1.4Hz,1H),4.75(s,1H),4.58(tt,J=3.7,1.9Hz,1H),3.85-3.92(m,1H),3.75-3.81(m,1H),2.22-2.24(m,4H),0.86-0.98(m,19H),0.22(d,J=6.6Hz,6H),0.05ppm(d,J=2.5Hz,6H)。

[1170] 步骤2.将N-(5-((2R,5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2,5-二氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(23g,46.39mmol,1当量)的溶液滴加到吡啶:氢氟化物(23.65g,167.02mmol,21.50mL,70%纯度,3.6当量)在THF(200mL)中的溶液中。将反应在25℃搅拌12小时。将悬浮液用乙酸(30mL)稀释并在减压下除去挥发物。获得呈白色固体的N-(5-((2R,5R)-5-(羟基甲基)-4-氧代四氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(12.40g,46.40mmol,100.00%产率),其无需进一步纯化即可用于下一步;LCMS(M+H<sup>+</sup>):268.3。

[1171] 步骤3.将N-(5-((2R,5R)-5-(羟基甲基)-4-氧代四氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(12.4g,46.40mmol,1当量)溶解在MeCN(66mL)/AcOH(66mL)(1:1v/v,)的混合物中,并将混合物冷却至-15℃,然后分批添加NaBH(OAc)<sub>3</sub>(23.11g,109.04mmol,2.35当量)。将混合物在-15℃搅拌2小时。将混合物在减压下蒸发至干。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=100/1至5/1)得到呈白色固体的N-(5-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(11g,40.85mmol,88.05%产率)。

[1172] 步骤4.向N-(5-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺(9g,33.43mmol,1当量)在吡啶(100mL)中的溶液中添加DMTCL(11.33g,33.43mmol,1当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。将残余物用H<sub>2</sub>O 200mL稀释并用EtOAc 1500mL(500mL\*3)萃取。将合并的有机层用盐水30mL(10mL\*3)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,DCM:MeOH=100/1至5/1)得到呈白色固体的WV-NU-189(15g,26.24mmol,78.51%产率)。<sup>1</sup>H NMR(氯仿-d,400MHz): $\delta$ =7.94(br s,1H),7.43(br d,J=7.3Hz,2H),7.27(s,7H),7.22(br d,J=6.8Hz,1H),6.83(br d,J=8.8Hz,4H),5.17(br s,1H),4.40(br s,1H),4.03(br s,1H),3.78(s,6H),3.21-3.36(m,2H),2.48(br s,1H),2.18(br s,3H),1.95ppm(br s,1H);LCMS(M-H<sup>+</sup>):570.3,LCMS纯度:91.61%。

[1173] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢咪喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(WV-NU-197)的合成



[1174] 步骤1. 在氩气氛下将BSA(18.30g, 89.95mmol, 22.23mL, 3.1当量)的溶液滴加至3-碘吡啶-2(1H)-酮(16.03g, 72.54mmol, 2.5当量)在DMF(100mL)中的悬浮液。搅拌1小时后, 反应液变为澄清溶液。然后添加DIEA(11.63g, 89.95mmol, 15.67mL, 3.1当量)和叔丁基(((2R, 3S)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-2,3-二氢呋喃-2-基)甲氧基)二甲基硅烷(10g, 29.02mmol, 1当量)。在另一个烧瓶中, 将Pd(OAc)<sub>2</sub>(456.01mg, 2.03mmol, 0.07当量)添加到三苯膦(3.55g, 11.61mmol, 0.4当量)在搅拌的DMF(100mL)中的溶液中。300分钟后, 将该溶液缓慢添加到第一个烧瓶中, 并将混合物在80℃搅拌12小时。通过加入H<sub>2</sub>O(30mL)来淬灭反应并且在减压下蒸发溶剂。将残余物重新溶解在EtOAc(300mL)中并用H<sub>2</sub>O(2\*100mL)和盐水(30mL)洗涤。将有机层经MgSO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)得到呈白色固体的3-((2R, 5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2,5-二氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(12g, 27.41mmol, 94.48%产率)。<sup>1</sup>HNMR(氯仿-d, 400MHz): δ<sup>1</sup>=12.66(brs, 1H), 7.81-7.85(m, 1H), 7.22-7.29(m, 2H), 6.22(t, J=6.7Hz, 1H), 5.86(d, J=3.3Hz, 1H), 4.95(t, J=1.6Hz, 1H), 4.49-4.59(m, 1H), 3.85(dd, J=11.3, 2.1Hz, 1H), 3.69(dd, J=11.2, 3.7Hz, 1H), 0.78-0.90(m, 17H), 0.14(d, J=16.4Hz, 6H), -0.01ppm(d, J=8.6Hz, 6H); LCMS: M+H<sup>+</sup>=438.7。

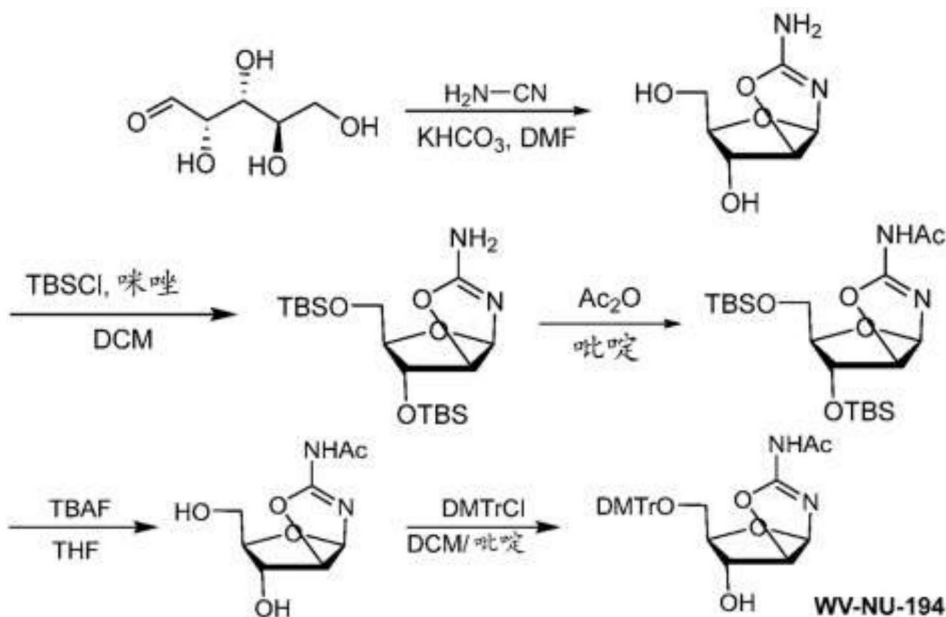
[1175] 步骤2. 向3-((2R, 5R)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-2,5-二氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(12g, 27.41mmol, 1当量)在THF(120mL)中的溶液中加入的吡啶; 氢氟化物(11.89g, 95.95mmol, 10.81mL, 80%纯度, 3.5当量), 脱气并用N<sub>2</sub>进行吹扫3次, 然后将混合物在N<sub>2</sub>气氛下在15℃搅拌12小时。真空浓缩滤液, 得到粗品3-((2R, 5R)-5-(羟基甲基)-4-氧代四氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(5.74g, 27.44mmol, 100.00%产率)。LCMS: M+H<sup>+</sup>=210.1和M+Na<sup>+</sup>=232.1。

[1176] 步骤3. 将3-((2R, 5R)-5-(羟基甲基)-4-氧代四氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(5.74g, 27.44mmol, 1当量)的溶液中溶解MeCN(70mL)/AcOH(70mL)的混合物中, 然后分批添加NaBH(OAc)<sub>3</sub>(13.67g, 64.48mmol, 2.35当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。将混合物在减

压下蒸发至干。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ , 石油醚:乙酸乙酯=100/1至5/1)得到呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(3.1g, 14.68mmol, 53.49%产率)。 $^1\text{H}$  NMR(氯仿-d, 400MHz):  $\delta^1=7.72-7.78$  (m, 1H), 7.35 (dd,  $J=6.5, 2.0$ Hz, 1H), 6.40 (t,  $J=6.7$ Hz, 1H), 5.16 (dd,  $J=10.0, 5.9$ Hz, 1H), 4.26-4.33 (m, 1H), 3.94 (td,  $J=4.4, 2.7$ Hz, 1H), 3.61-3.72 (m, 2H), 2.33 (ddd,  $J=13.0, 5.9, 2.0$ Hz, 1H), 1.87-2.00ppm (m, 1H); LCMS: ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 212。

[1177] 步骤4. 向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮(3.10g, 14.68mmol, 1当量)在吡啶(30mL)中的溶液中加入DMTrCl(4.48g, 13.21mmol, 0.9当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。将反应混合物用 $\text{H}_2\text{O}$  50mL稀释并用EAOAC 180mL(60mL\*3)萃取。将合并的有机层用盐水15mL(5mL\*3)洗涤, 经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ , DCM:MeOH=100:1至5:1)得到呈白色固体的WV-NU-197(5.2g)。 $^1\text{H}$ NMR(DMSO-d<sub>6</sub>, 400MHz):  $\delta^1=11.59$  (br s, 1H), 7.39-7.50 (m, 3H), 7.18-7.35 (m, 8H), 6.89 (d,  $J=8.5$ Hz, 4H), 6.15 (t,  $J=6.7$ Hz, 1H), 5.06 (d,  $J=4.1$ Hz, 1H), 5.00 (dd,  $J=9.2, 6.0$ Hz, 1H), 4.00-4.16 (m, 1H), 3.82-3.95 (m, 1H), 3.73 (s, 6H), 2.99-3.17 (m, 3H), 2.26 (ddd,  $J=12.7, 6.0, 2.5$ Hz, 1H), 1.58ppm (ddd,  $J=12.7, 9.3, 6.1$ Hz, 1H); LCMS:  $\text{M}+\text{H}^+$ : 513.6, LCMS纯度100.0%

[1178] N-((3aR,5R,6R,6aS)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-羟基-3a,5,6,6a-四氢呋喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(WV-NU-194)的合成



[1179] 步骤1. 将在DMF(500mL)中的(2S,3R,4R)-2,3,4,5-四羟基戊醛(80g, 532.87mmol, 1当量)和添加的 $\text{KHCO}_3$ (2.80g, 27.97mmol, 5.25e-2当量)和 $\text{NH}_2\text{CN}$ (26.80g, 637.49mmol, 26.80mL, 1.20当量)的混合物在90℃搅拌1小时。冷却至室温后, 将混合物减压蒸发至一半体积并将所得溶液在5℃储存20小时。将获得的沉淀物滤出并从96%水性EtOH(600ml)中重结晶, 得到呈白色固体的(3aR,5R,6R,6aS)-2-氨基-5-(羟基甲基)-3a,5,6,6a-四氢呋喃并[2,3-d]噁唑-6-醇(50g)。 $^1\text{H}$ NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta=6.36$  (br s, 2H), 5.66 (d,  $J=5.6$ Hz, 1H), 5.46 (br s, 1H), 4.75 (br s, 1H), 4.53 (br d,  $J=5.5$ Hz, 1H), 4.00 (br s, 1H), 3.67-3.59 (m, 1H), 3.40 (s, 1H), 3.33-3.19 (m, 2H)。

[1180] 步骤2. 向(3aR,5R,6R,6aS)-2-氨基-5-(羟基甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-6-醇(20g,114.84mmol,1当量)在DCM(200mL)中的溶液中添加咪唑(46.91g,689.04mmol,6当量),然后添加TBSCl(60.58g,401.94mmol,49.25mL,3.5当量)。将混合物在30℃搅拌10小时。将两批反应混合物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,乙酸乙酯:甲醇=0:1至5:1)得到呈白色固体的(3aR,5R,6R,6aS)-6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-胺(91g,135.59mmol,55.15%产率,60%纯度)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ=5.87(d,J=5.6Hz,1H),4.64(d,J=5.6Hz,1H),4.32(d,J=2.5Hz,1H),3.91-3.81(m,1H),3.63(dd,J=5.1,10.7Hz,1H),3.46(dd,J=7.6,10.6Hz,1H),0.91-0.86(m,19H),0.11(d,J=8.0Hz,6H),0.03(s,6H);LCMS(M+H<sup>+</sup>):403.3,纯度:79.78%。

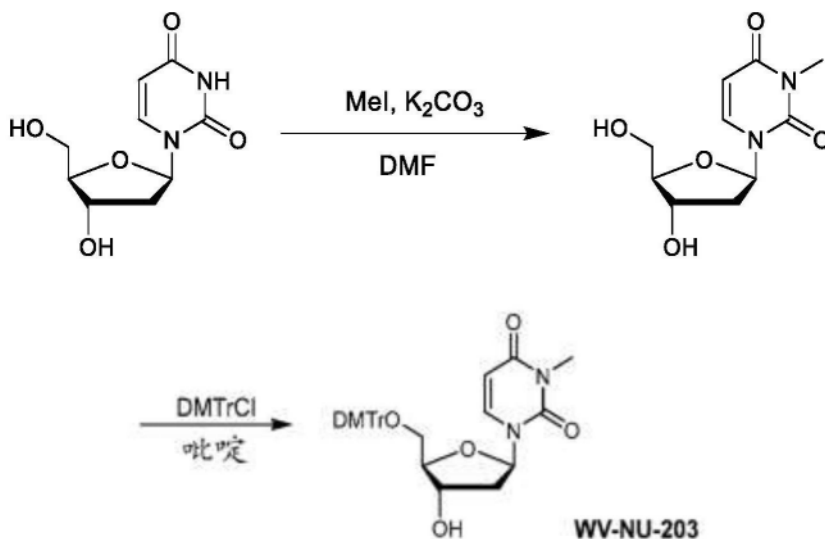
[1181] 步骤3. 向(3aR,5R,6R,6aS)-6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-胺(40g,99.34mmol,1当量)在吡啶(400mL)中的混合溶液中滴加Ac<sub>2</sub>O(7.10g,69.54mmol,6.51mL,0.7当量)。将混合物在25℃搅拌12小时。将反应混合物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=50:1至15:1),得到呈黄色油状物的N-((3aR,5R,6R,6aS)-6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(33g,74.21mmol,74.70%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ=5.91(d,J=5.8Hz,1H),4.81(dd,J=1.0,5.8Hz,1H),4.49(dd,J=0.9,2.8Hz,1H),3.98(ddd,J=2.9,4.8,7.4Hz,1H),3.61(dd,J=5.0,10.9Hz,1H),3.44(dd,J=7.4,10.9Hz,1H),2.16(s,3H),0.90-0.88(m,9H),0.87-0.85(m,9H),0.12(d,J=9.6Hz,6H),0.02(d,J=3.8Hz,6H);LCMS(M+H<sup>+</sup>):445.4,纯度:92.67%。

[1182] 步骤4. 向N-((3aR,5R,6R,6aS)-6-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(33g,74.21mmol,1当量)在THF(300mL)中的溶液中添加TBAF(1M,111.31mL,1.5当量)。将混合物在25℃搅拌1小时。将反应混合物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将粗品经反相HPLC纯化(柱:C18 20-35um 100A 100g;流动相:[水-ACN];B%:0%-0%@30mL/min),纯化后见LCMS(ET35599-347-P2A1),得到呈白色固体的N-((3aR,5R,6R,6aS)-6-羟基-5-(羟基甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(11g,50.88mmol,68.75%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氧化氘) δ=4.43-4.36(m,1H),4.14-3.98(m,3H),3.84-3.61(m,3H),3.56(dd,J=4.8,12.4Hz,1H),3.49-3.41(m,1H),2.09(s,3H);LCMS(M+H<sup>+</sup>):217.2,纯度:99.41%。

[1183] 步骤5. 在0℃向N-((3aR,5R,6R,6aS)-6-羟基-5-(羟基甲基)-3a,5,6,6a-四氢咪喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(10g,46.26mmol,1当量)在DCM(50mL)中的溶液中添加吡啶(7.32g,92.51mmol,7.47mL,2当量)和DMTrCl(9.40g,27.75mmol,0.6当量)。将混合物在20℃搅拌2小时。将反应混合物通过加入200mL水淬灭,然后用DCM(200mL\*3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将粗产物通过反相HPLC纯化(柱:C18 20-35um 100A100g;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:40%-65%,20min)得到呈白色固体的WV-NU-194(5.1g,9.83mmol,21.26%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,氯仿-d) δ=9.60(br s,1H),7.37(d,J=7.5Hz,2H),7.29-7.19(m,7H),7.16-7.10(m,1H),6.75(dd,J=4.4,8.8Hz,4H),5.89(d,J=6.0Hz,1H),4.96(dd,J=1.6,5.9Hz,1H),4.42(br d,J=4.9Hz,

1H), 4.11-4.06 (m, 1H), 3.74 (d, J=2.1Hz, 6H), 3.29-3.19 (m, 2H), 2.01 (s, 3H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 517, 纯度: 100%。

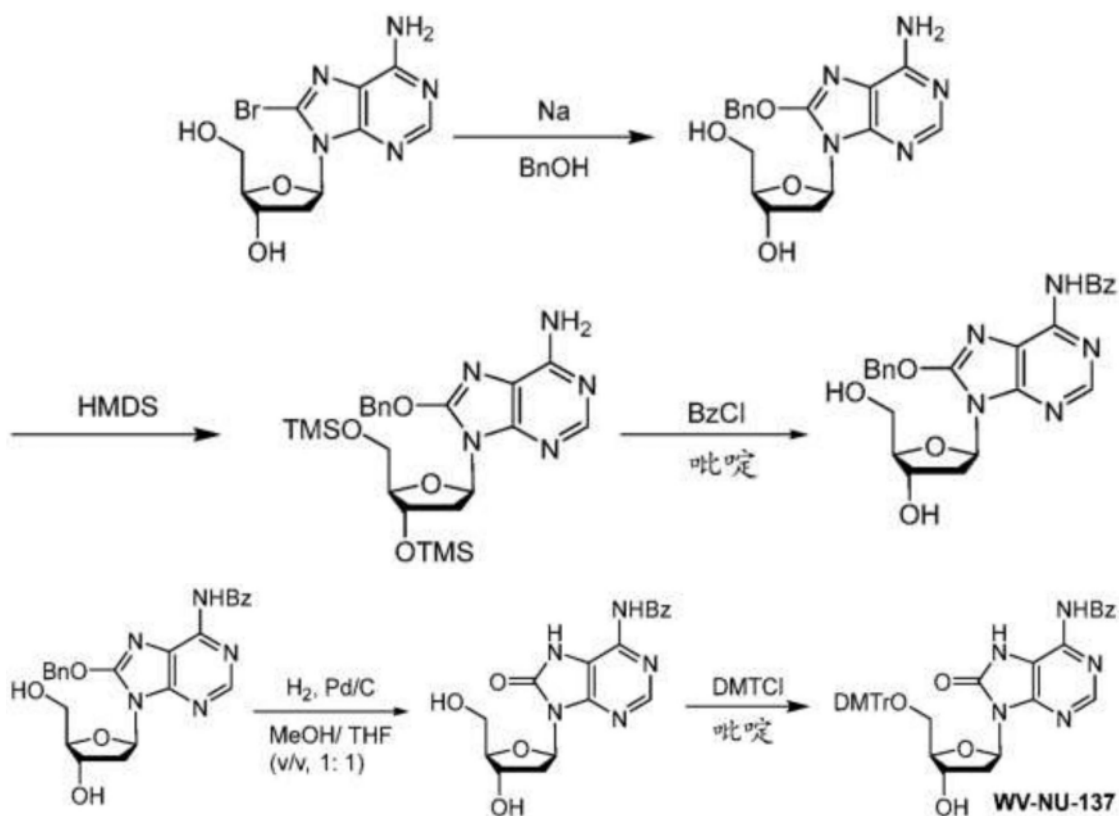
[1184] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-3-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-203)的合成



[1185] 步骤1. 向1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(20g, 87.64mmol, 1当量)在DMF(200mL)中的溶液中添加MeI(31.10g, 219.10mmol, 13.64mL, 2.5当量)和K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(36.34g, 262.93mmol, 3当量)。将混合物在55℃搅拌2小时。将反应混合物过滤,并且将滤液减压浓缩得到残余物,然后用DCM 200mL\*2萃取。将合并的有机层经干燥,过滤并减压浓缩得到呈白色固体的1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-3-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(15g)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>) 243.2。

[1186] 步骤2. 向1-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-3-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(15g, 61.93mmol, 1当量)在吡啶(150mL)中的溶液中加入DMTrCl(23.08g, 68.12mmol, 1.1当量)。将混合物在15℃搅拌1小时。将反应混合物用乙酸乙酯150mL\*2萃取。减压浓缩合并的有机层得到残余物。将残余物通过柱色谱法纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1),得到呈黄色固体的WV-NU-203(13g, 23.87mmol, 38.55%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=7.42-7.34(m, 2H), 7.31(t, J=7.6Hz, 2H), 7.26-7.18(m, 5H), 6.92-6.84(m, 4H), 5.56-5.45(m, 1H), 5.39-5.29(m, 1H), 4.34-4.23(m, 1H), 3.79-3.69(m, 6H), 3.37-3.25(m, 5H), 3.18-3.11(m, 3H), 2.25-2.16(m, 2H); LCMS: 纯度: 92.72%, (M-H<sup>+</sup>): 543.59。

[1187] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(WV-NU-137)的合成



[1188] 步骤1. 向Na (9.99g, 434.67mmol) 在BnOH (391.84g, 3.62mol) 中的溶液, 3小时后, 添加(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇 (25g, 75.73mmol)。将混合物在15℃搅拌12小时。通过在0℃添加800mL HCl (1M) 淬灭反应混合物, 然后添加饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液, 直到pH~9, 并用EtOAc (1000mL\*3) 萃取, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。将残余物通过柱色谱法纯化((SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=5/1至乙酸乙酯: 甲醇=10/1) 得到呈黄色油状物的(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-(苄基氧基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇 (35g, 64.67%产率)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 358.2

[1189] 步骤2. 向(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-(苄基氧基)-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇 (50g, 139.91mmol) (通过在旋转蒸发器上与吡啶 (200mL\*3) 共沸蒸馏而干燥) 中添加HMDS (338.72g, 2.10mol)。将混合物在150℃搅拌12小时。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。得到呈黄色油状物的8-(苄基氧基)-9-((2R,4S,5R)-4-((三甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((三甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-胺 (70.2g, 粗品), 无需纯化。

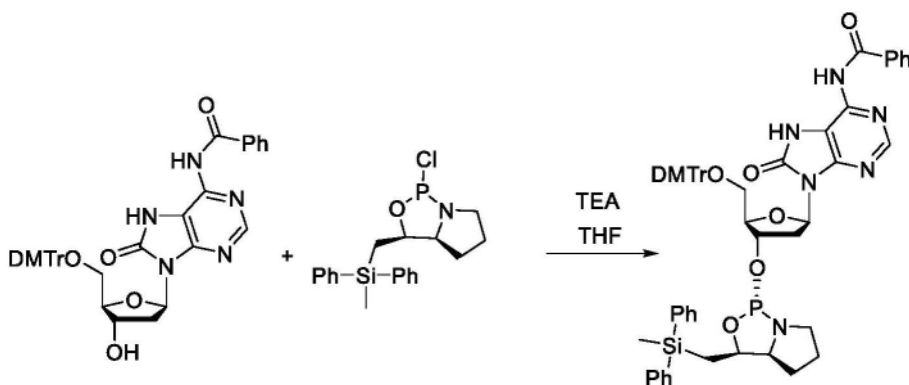
[1190] 步骤3. 向8-(苄基氧基)-9-((2R,4S,5R)-4-((三甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((三甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-胺 (70.2g) 在吡啶 (500mL) 中的溶液中添加BzCl (29.50g)。将混合物在20℃搅拌2小时。添加MeOH (500mL) 和水 (500mL), 10分钟后添加NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (250mL), 30分钟后添加H<sub>2</sub>O (500mL) 并用EtOAc (500mL\*4) 萃取, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。将残余物通过柱色谱法纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1, 然后乙酸乙酯/甲醇=10:1), 得到呈黄色固体的N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺 (36g, 55.76%产率)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 462.2

[1191] 步骤4. 向N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-

基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(36g,78mmol)在THF(500mL)和MeOH(500mL)中的溶液中添加Pd/C(9g,39.01mmol,10%纯度)。将混合物在15°C在H<sub>2</sub>(15psi)中搅拌3小时。将混合物过滤,并将滤液减压浓缩,得到呈黄色固体的N-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(28.9g,粗品)。LCMS:(M+H)<sup>+</sup>:372.2。

步骤5.向N-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(28.9g,77.82mmol)在吡啶(300mL)中的溶液中添加DMTC1(26.37g,77.82mmol),将混合物在15°C搅拌12小时。在0°C通过添加水(200mL)淬灭反应混合物,并用EtOAc(300mL\*3)萃取。经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过硅胶色谱法纯化(石油醚/醋酸乙酯=10/1,1/4,5%TEA),得到呈白色固体的N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(WV-NU-137)(32g,57.75%产率)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz,400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=8.38-8.24(m,1H),8.12-8.00(m,2H),7.67-7.60(m,1H),7.58-7.51(m,2H),7.38-7.33(m,2H),7.26-7.13(m,7H),6.81(dd,J=9.0,13.3Hz,4H),6.25(t,J=6.8Hz,1H),5.29(d,J=4.6Hz,1H),4.56-4.49(m,1H),3.95(q,J=4.9Hz,1H),3.71(d,J=4.4Hz,6H),3.20-3.15(m,2H),3.08(td,J=6.5,13.0Hz,1H),2.21-2.10(m,1H);LCMS(M-H<sup>+</sup>):672.2。

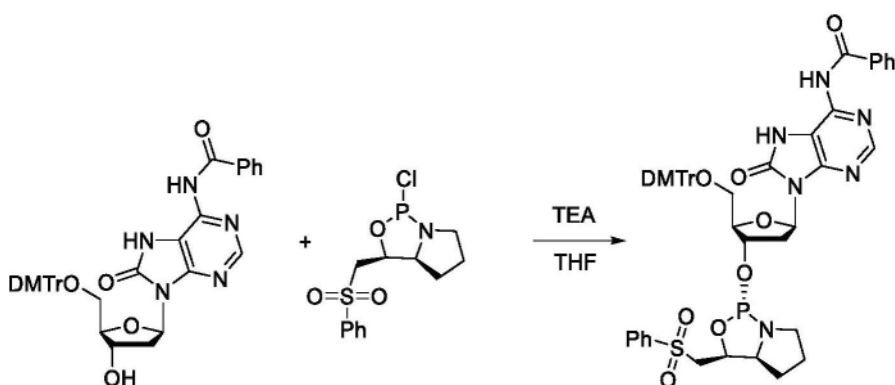
[1192] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



[1193] 将rbf中的干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(4.0g,5.94mmol)溶解于THF(50mL)中。向澄清溶液中添加三乙胺(5.59mL,40.08mmol)。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.96M的THF溶液,11.16mL,10.69mmol)。将反应溶液在室温下搅拌2小时。TLC显示反应完成。添加无水MgSO<sub>4</sub>(708mg)。搅拌1分钟。将混合物过滤并将滤液浓缩。将所得的粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的0%-100% EtOAc(各流动相含有1.5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(4.45g,74.0%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ9.42(s,1H),8.59(s,1H),8.17(s,1H),7.98-

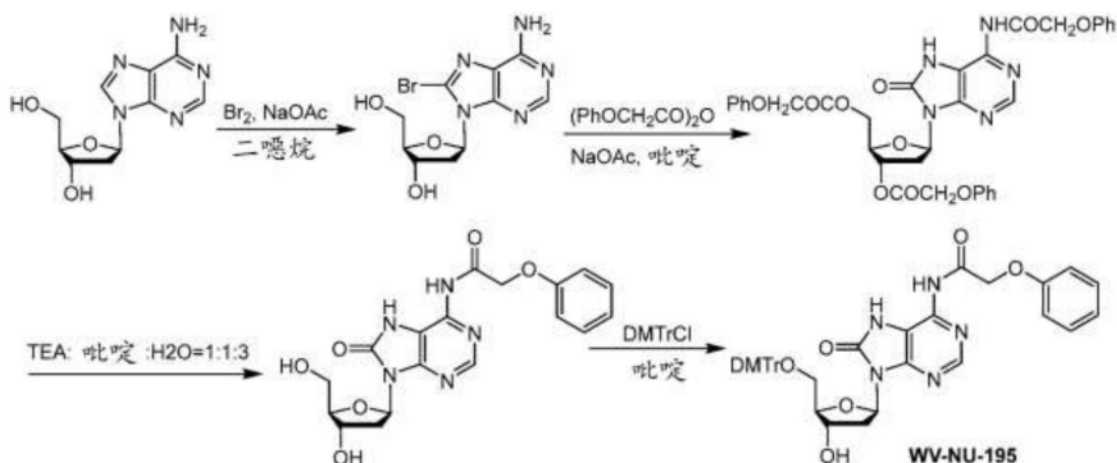
7.93 (m, 2H), 7.68-7.62 (m, 1H), 7.58-7.53 (m, 2H), 7.53-7.46 (m, 4H), 7.45-7.40 (m, 2H), 7.33-7.26 (m, 7H), 7.24-7.17 (m, 5H), 7.16-7.11 (m, 1H), 6.76-6.69 (m, 4H), 6.30 (dd, J=7.3, 6.1Hz, 1H), 5.05 (ddt, J=8.9, 6.9, 4.5Hz, 1H), 4.85 (dt, J=8.9, 5.7Hz, 1H), 4.03 (q, J=5.0Hz, 1H), 3.73 (d, J=4.5Hz, 6H), 3.49 (ddt, J=14.6, 10.6, 7.6Hz, 1H), 3.40 (ddt, J=12.6, 7.0, 5.5Hz, 1H), 3.34 (dd, J=10.1, 4.9Hz, 1H), 3.25 (dd, J=10.1, 5.9Hz, 1H), 2.97 (tdd, J=10.8, 8.8, 4.3Hz, 1H), 2.83 (dt, J=13.3, 6.6Hz, 1H), 2.08 (ddd, J=13.5, 7.4, 4.6Hz, 1H), 1.84 (ddt, J=12.2, 8.5, 4.3Hz, 1H), 1.70-1.63 (m, 1H), 1.55 (dd, J=14.7, 8.9Hz, 1H), 1.45-1.38 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 1H), 0.65 (s, 3H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  148.40; MS (ESI), 1013.18  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

[1194] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



[1195] 向干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]苯甲酰胺(3.0g, 4.45mmol)在THF(30mL)中的溶液中添加三乙胺(1.55mL, 11.13mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.9M的THF溶液, 8.91mL, 8.02mmol)。将所得的灰白色浆液在室温下搅拌2小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(80 $\mu\text{L}$ )淬灭反应。添加无水 $\text{MgSO}_4$ (1.07g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.979g, 69.9%产率)。 $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  9.45 (s, 1H), 8.60 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 7.97-7.92 (m, 2H), 7.92-7.88 (m, 2H), 7.67-7.62 (m, 1H), 7.62-7.57 (m, 1H), 7.57-7.48 (m, 4H), 7.45-7.40 (m, 2H), 7.34-7.28 (m, 4H), 7.21 (dd, J=8.3, 6.7Hz, 2H), 7.19-7.13 (m, 1H), 6.79-6.72 (m, 4H), 6.39 (t, J=6.8Hz, 1H), 5.09 (ddt, J=14.7, 6.9, 4.9Hz, 2H), 4.08-4.03 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.69 (dq, J=9.8, 5.9Hz, 1H), 3.52-3.42 (m, 2H), 3.37 (ddd, J=12.2, 5.4, 2.4Hz, 2H), 3.34-3.24 (m, 2H), 3.03 (tdd, J=10.3, 8.8, 4.1Hz, 1H), 2.30 (ddd, J=13.5, 7.3, 4.5Hz, 1H), 1.87 (dt, J=11.4, 5.9Hz, 1H), 1.80-1.72 (m, 1H), 1.70-1.63 (m, 1H), 1.12 (dtd, J=11.7, 10.1, 8.5Hz, 1H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  149.85; MS (ESI), 955.37  $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。

[1196] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-2-苯氧基乙酰胺(WV-NU-195)的合成



[1197] 步骤1.对于三批:向(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢咪喃-3-醇(30g,119.41mmol,1当量)在二噁烷(400mL)和AcONa(0.5M,480mL,2.01当量)缓冲液(pH 4.7)中的溶液中在搅拌下滴加Br<sub>2</sub>(22.90g,143.29mmol,7.39mL,1.2当量)在二噁烷(500mL)中的溶液。将混合物在15℃搅拌12小时。将三批合并用于后处理。向混合物中添加浓Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>直至红色消失。用0.5MNaOH将混合物中和至pH 7.0。蒸发残余物,此时沉淀出白色固体。将固体滤出,用冷的1,4-二噁烷(50mL)洗涤,并在高真空下干燥,得到呈黄色固体的(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢咪喃-3-醇(100g,302.90mmol,84.56%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,DMSO-d<sub>6</sub>)δ=8.22-7.98(m,1H),7.53(br s,2H),6.29(dd,J=6.5,7.9Hz,1H),5.35(br d,J=12.3Hz,2H),4.58-4.38(m,1H),3.95-3.82(m,1H),3.65(dd,J=4.5,11.9Hz,1H),3.48(br dd,J=4.5,11.7Hz,1H),3.36(br s,1H),3.24(ddd,J=6.1,7.8,13.4Hz,1H),2.19(ddd,J=2.6,6.4,13.1Hz,1H);LCMS(M+H<sup>+</sup>):330.1。

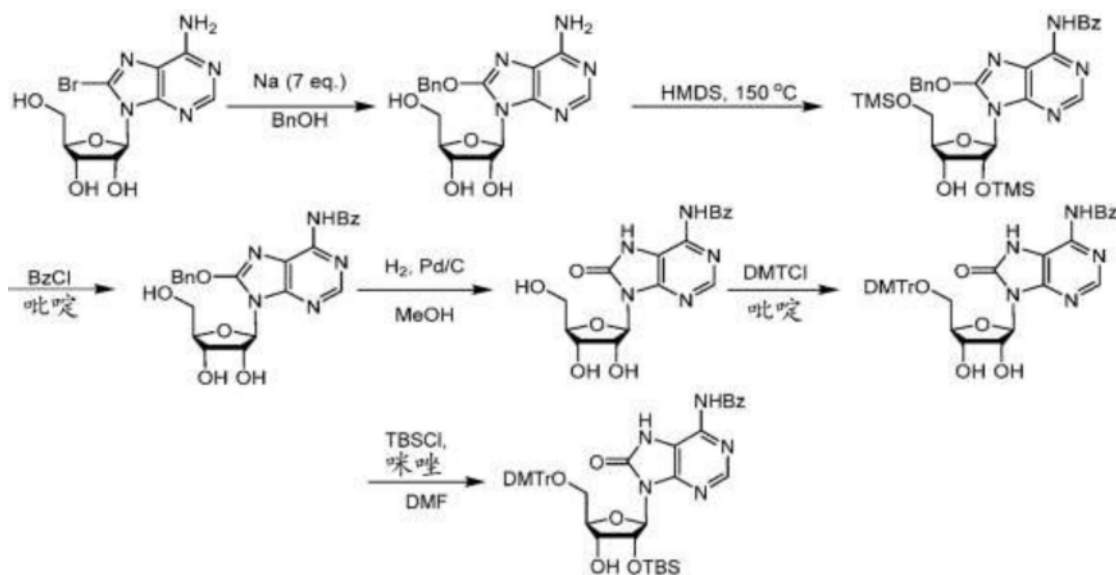
[1198] 步骤2.向(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢咪喃-3-醇(55g,166.60mmol,1当量)在吡啶(1500mL)中的溶液中添加NaOAc(24.87g,303.21mmol,1.82当量)和(2-苯氧基乙酰基)2-苯氧基乙酸酯(267.08g,932.94mmol,5.6当量)。将混合物在80℃搅拌2小时。将反应混合物通过添加H<sub>2</sub>O 100mL淬灭,并将混合物置于室温10分钟。将混合物蒸发,然后用DCM 1000mL和饱和NaHCO<sub>3</sub> 1000mL稀释,用DCM(1000mL\*2)萃取。将合并的有机层用盐水(1000mL\*2)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚/(DCM/EtOAc=1:1)=1/0至0/1),然后一些固体在柱上沉淀出,用DCM 2L洗涤柱并浓缩以得到粗产物。将粗产物与甲醇1000mL一起研磨。得到呈棕色固体的(2R,3S,5R)-5-(8-氧代-6-(2-苯氧基乙酰胺)-7,8-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2-((2-苯氧基乙酰氧基)甲基)四氢咪喃-3-基2-苯氧基乙酸酯(60g,67.20mmol,40.34%产率,75%纯度)。LCMS(M-H<sup>+</sup>):668.2。

[1199] 步骤3.对于两批:向(2R,3S,5R)-5-(8-氧代-6-(2-苯氧基乙酰胺)-7,8-二氢-9H-嘌呤-9-基)-2-((2-苯氧基乙酰氧基)甲基)四氢咪喃-3-基2-苯氧基乙酸酯(27g,40.32mmol,1当量)在TEA(270mL)、吡啶(270mL)和H<sub>2</sub>O(810mL)的混合溶剂中的溶液中。将混合物在15℃搅拌1.5小时。将反应混合物减压浓缩以去除溶剂。合并两批粗品并通过从甲醇500mL中重结晶纯化,得到呈棕色固体的N-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-2-苯氧基乙酰胺(18g,44.85mmol,55.61%产率)。

率)。LCMS (M-H<sup>+</sup>): 400.1。

[1200] 步骤4. 向N-(9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-2-苯氧基乙酰胺(16g, 39.86mmol, 1当量)在吡啶(300mL)中的溶液中添加DMTCl(18.91g, 55.81mmol, 1.4当量)。将混合物在15℃搅拌10小时。反应混合物通过添加50mL水淬灭, 然后用饱和NaHCO<sub>3</sub> 500mL稀释并用乙酸乙酯1500mL(500mL\*3)萃取。将合并的有机层用500mL饱和盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1, 5% TEA)得到呈白色固体的WV-NU-195(20g, 27.63mmol, 69.30%产率, 97.21%纯度)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=10.94(br s, 1H), 10.50(br s, 1H), 8.26(s, 1H), 7.38-7.28(m, 4H), 7.26-7.11(m, 7H), 7.06-6.94(m, 3H), 6.79(dd, J=8.9, 14.1Hz, 4H), 6.23(t, J=6.8Hz, 1H), 5.27(d, J=4.6Hz, 1H), 4.84(s, 2H), 4.58-4.44(m, 1H), 3.97-3.91(m, 1H), 3.70(d, J=5.0Hz, 6H), 3.22-3.11(m, 2H), 3.05(td, J=6.4, 13.0Hz, 1H), 2.14(ddd, J=4.9, 7.6, 12.9Hz, 1H); LCMS (M-H)<sup>-</sup>: 702.3; 纯度: 97.21%。

[1201] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



[1202] 步骤1. 向Na(21g, 913.45mmol, 21.65mL, 8.43当量)在BnOH(1000mL)中的溶液, 3小时后, 添加(2R,3R,4S,5R)-2-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇(37.5g, 108.34mmol, 1.0当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。将混合物倒入冷的1N HCl(2500mL)中并用EtOAc(1500mL)萃取。向水相添加饱和NaHCO<sub>3</sub>(水溶液)直至pH>8, 分离出白色滤饼, 过滤并浓缩, 获得粗品。得到呈白色固体的(2R,3R,4S,5R)-2-(6-氨基-8-(苄基氧基)-9H-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇(80g, 粗品)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 374.4。

[1203] 步骤2. 向(2R,3R,4S,5R)-2-(6-氨基-8-(苄基氧基)-9H-嘌呤-9-基)-5-(羟基甲基)四氢呋喃-3,4-二醇(39.0g, 104.46mmol, 1.0当量)在HMDS(400mL)中的溶液中, 将混合物在130℃搅拌12小时。将反应混合物减压浓缩, 获得残余物。得到呈棕色固体的N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-3-((三甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((三甲基甲硅烷基)

氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(61.62g,粗品)。

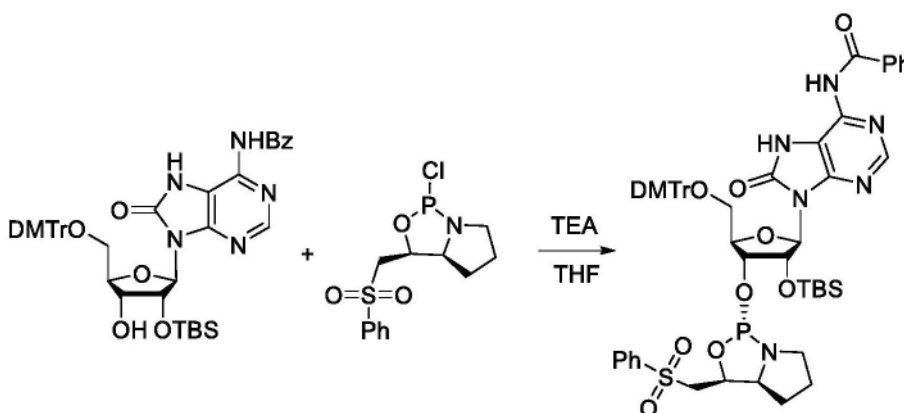
[1204] 步骤3.向N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,3R,4R,5R)-4-羟基-3-((三甲基甲硅烷基)氧基)-5-(((三甲基甲硅烷基)氧基)甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(46.0g,77.98mmol,1当量)在吡啶(460mL)中的溶液中添加苯甲酰氯(21.92g,155.96mmol,18.12mL,2.0当量)。将混合物在20℃搅拌1小时。向反应混合物中加入MeOH:H<sub>2</sub>O(1:1)500mL并在15℃搅拌10分钟。然后向混合物中添加NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O(150mL)并在15℃搅拌10分钟。然后将混合物通过200mL H<sub>2</sub>O稀释并通过800mL EtOAc(200mL\*4)萃取。向混合物中添加200mL盐水并用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。然后将混合物减压浓缩,得到残余物。通过柱色谱法纯化残余物。得到呈黄色固体的N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(33.99g,71.19mmol,91.29%产率)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):478.4。

[1205] 步骤4.在H<sub>2</sub>(15psi)下,向N-(8-(苄基氧基)-9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(35.1g,73.51mmol,1当量)在MeOH(1500mL)和THF(500mL)中的溶液中添加Pd/C(7.0g,10%纯度)。将混合物在20℃搅拌1小时。将反应物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。残余物未经纯化且得到呈棕色固体的N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(19.6g,50.60mmol,68.83%产率)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):388.2。

[1206] 步骤5.向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(14.8g,38.21mmol,1当量)在吡啶(150mL)中的溶液中添加DMTC1(15.54g,45.85mmol,1.2当量)。将混合物在20℃搅拌2小时。将反应混合物用10mL H<sub>2</sub>O稀释并用乙酸乙酯萃取。将合并的有机层用100mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(石油醚/乙酸乙酯=100/1至0/1)纯化。得到呈棕色固体的N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(13.2g,19.14mmol,50.09%产率)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>):690.5。

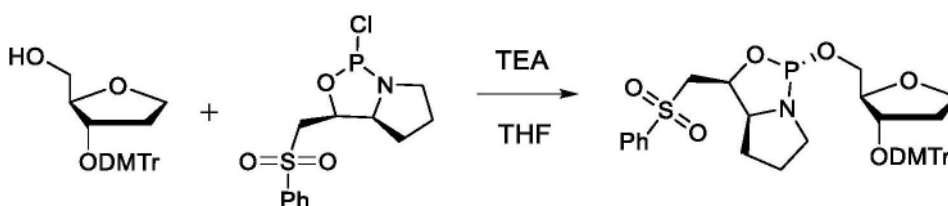
[1207] 步骤6.向N-(9-((2R,3R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3,4-二羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(10.20g,14.79mmol,1当量)在DMF(100mL)中的溶液中添加咪唑(3.02g,44.37mmol,3.00当量)和TBSCl(2.01g,13.31mmol,1.63mL,0.9当量)。将混合物在15℃搅拌10小时。将混合物用乙酸乙酯稀释并用NaHCO<sub>3</sub>溶液洗涤。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)纯化。得到呈黄色固体的N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺(3.82g,4.75mmol,32.13%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=9.51(s,1H),8.57(s,1H),8.26(s,1H),8.03(s,1H),7.96(d,J=7.5Hz,2H),7.70-7.63(m,1H),7.61-7.54(m,2H),7.48(d,J=7.3Hz,2H),7.36(dd,J=2.0,8.9Hz,4H),7.26-7.16(m,3H),6.78(d,J=8.7Hz,4H),5.99(d,J=4.6Hz,1H),5.32-5.27(m,1H),4.48(q,J=5.5Hz,1H),4.13-4.08(m,1H),3.78(s,6H),3.46(dd,J=3.9,10.3Hz,1H),3.32(dd,J=5.3,10.3Hz,1H),2.70(d,J=5.9Hz,1H),2.06(s,1H),1.58(s,2H),1.27(t,J=7.2Hz,1H),0.89(s,9H),0.05(s,3H),-0.01(s,3H);LCMS:(M-H<sup>-</sup>):802.3。

[1208] N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)苯甲酰胺的合成



[1209] 向干燥的N-[9-[(2R,3S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]苯甲酰胺(3.5g,4.35mmol)在THF(35mL)中的溶液中添加三乙胺(1.52mL,10.88mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.9M的THF溶液,8.71mL,7.84mmol)。将所得的浑浊溶液在室温下搅拌3.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(78uL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.05g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.512g,74.2%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ9.48(s,1H),8.62(s,1H),8.24(s,1H),7.96-7.92(m,2H),7.90-7.85(m,2H),7.67-7.61(m,1H),7.57(td,J=7.2,1.2Hz,1H),7.54(t,J=7.8Hz,2H),7.50-7.43(m,4H),7.38-7.32(m,4H),7.22(dd,J=8.4,6.9Hz,2H),7.19-7.13(m,1H),6.79-6.72(m,4H),6.01(d,J=5.4Hz,1H),5.33(t,J=5.3Hz,1H),5.00(q,J=6.2Hz,1H),4.78(dt,J=10.8,4.7Hz,1H),4.06(q,J=4.4Hz,1H),3.76(s,6H),3.67(dq,J=11.4,5.8Hz,1H),3.49-3.34(m,4H),3.19(dd,J=10.4,4.9Hz,1H),3.01(qd,J=9.5,4.0Hz,1H),1.85(t,J=5.8Hz,1H),1.77-1.70(m,1H),1.68-1.62(m,1H),1.16-1.06(m,1H),0.83(s,9H),0.02(s,3H),-0.09(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ152.12;MS(ESI),1086.13[M-H]<sup>-</sup>。

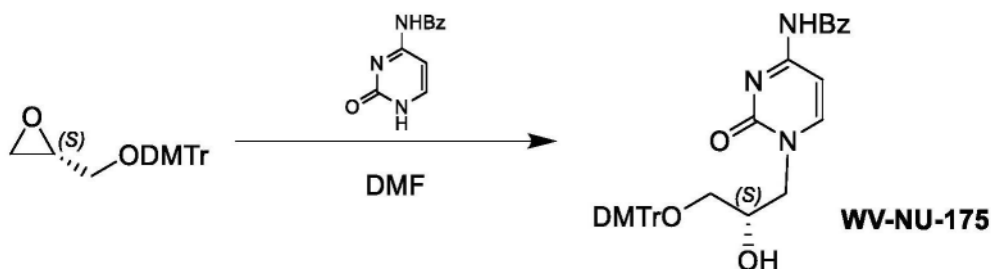
[1210] (1S,3S,3aS)-1-(((2R,3S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)四氢呋喃-2-基)甲氧基)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷的合成



[1211] 向干[(2R,3R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]四氢呋喃-2-基]甲醇

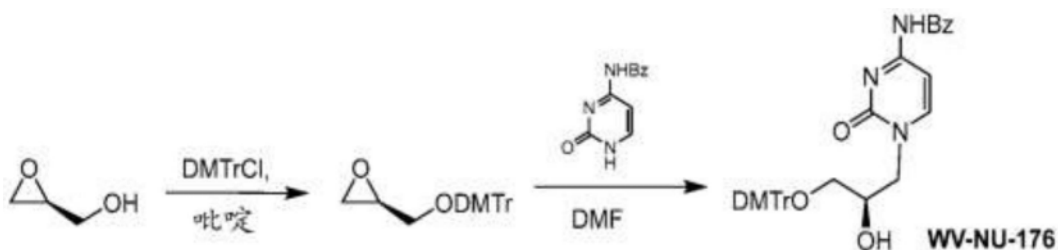
(10.0g, 23.78mmol) 在THF (150mL) 中的白色浆液中添加三乙胺(17.9mL, 128.42mmol)。滴加(3S, 3aS) -3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.9M的THF溶液, 47.56mL, 42.81mmol)。添加DCM(50mL)。将白色浆液在室温下搅拌3.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(428uL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(5.7g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有5%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物(13.08g, 78.2%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.92(dd, J=8.2, 1.4Hz, 2H), 7.64(tt, J=7.4, 1.3Hz, 1H), 7.54(t, J=7.8Hz, 2H), 7.46(dd, J=8.6, 1.3Hz, 2H), 7.35(d, J=8.6Hz, 4H), 7.29(t, J=7.6Hz, 2H), 7.22(tt, J=7.3, 1.3Hz, 1H), 6.84(d, J=8.9Hz, 4H), 4.99(q, J=6.1Hz, 1H), 4.07(dt, J=6.2, 1.9Hz, 1H), 3.89(ddd, J=10.1, 8.1, 5.9Hz, 1H), 3.82(td, J=8.0, 2.8Hz, 1H), 3.79(s, 6H), 3.79-3.75(m, 1H), 3.61(dq, J=9.7, 5.9Hz, 1H), 3.47(dd, J=14.5, 6.8Hz, 1H), 3.45-3.38(m, 2H), 3.34(dd, J=14.5, 5.6Hz, 1H), 3.29(ddd, J=11.1, 8.7, 4.6Hz, 1H), 3.00(qd, J=10.5, 4.1Hz, 1H), 1.83(dtt, J=11.9, 7.7, 3.3Hz, 1H), 1.74(dq, J=11.9, 7.5Hz, 1H), 1.61(qd, J=7.7, 6.6, 3.0Hz, 1H), 1.56(dddd, J=13.7, 10.0, 5.8, 3.9Hz, 1H), 1.38(dtt, J=13.0, 5.4, 2.1Hz, 1H), 1.07(dq, J=11.5, 9.8Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR(243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ152.11; MS(ESI), 704.87[M+H]<sup>+</sup>。

[1212] (S)-N-(1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺(WV-NU-175)的合成



[1213] 向(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(34.30g, 159.39mmol, 1当量)在DMF(300mL)中的溶液中添加NaH(1.27g, 31.88mmol, 60%纯度, 0.2当量), 将混合物在20℃搅拌2小时, 然后添加(2S)-2-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]环氧乙烷(60g, 159.39mmol, 1当量)。将混合物在115℃搅拌4小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1, R<sub>f</sub>=0.05)指示化合物2被消耗, 并且形成一个新斑点。随后将溶液冷却至20℃并在饱和盐水1000mL和EtOAc(200mL\*3)之间分配。将有机相分离, 用饱和盐水洗涤两次, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 并在真空中浓缩。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1 5% TEA)纯化。获得呈黄色固体的WV-NU-175(14.9g, 24.45mmol, 15.34%产率, 97.094%纯度)。<sup>1</sup>H NMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δppm 2.90-3.03(m, 2H) 3.54-3.63(m, 1H) 3.73(d, J=1.50Hz, 6H) 4.02(s, 1H) 4.20(br dd, J=12.82, 3.06Hz, 1H) 5.31(d, J=5.88Hz, 1H) 6.90(dd, J=8.88, 1.75Hz, 4H) 7.19-7.36(m, 8H) 7.43(d, J=7.38Hz, 2H) 7.48-7.55(m, 2H) 7.61(d, J=7.38Hz, 1H) 7.96-8.05(m, 2H) 11.15(br s, 1H); LCMS(M-H<sup>+</sup>): 590.3; 纯度: 98.72%。

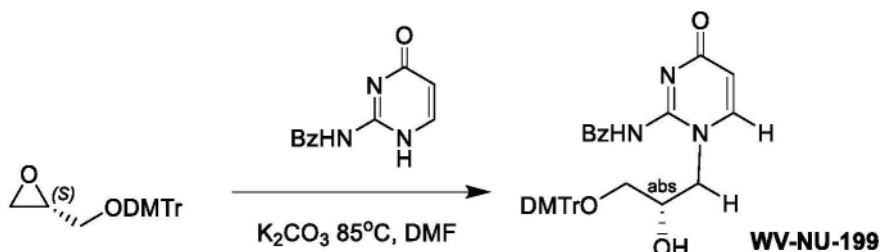
[1214] (R)-N-(1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺(WV-NU-176)的合成



[1215] 步骤1. 向[(2S)-环氧乙烷-2-基]甲醇[(2S)-环氧乙烷-2-基]甲醇(35.7g, 481.92mmol, 31.88mL, 1当量)在吡啶(1750mL)中的溶液中添加DMTrCl(179.62g, 530.11mmol, 1.1当量)。将混合物在15℃搅拌10小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1,  $R_f$ =0.70)表明反应物1已完全消耗并且形成了三个新斑点。添加几滴甲醇30ml以水解任何未反应的DMTrCl并将混合物搅拌10分钟。将产物用 $H_2O$ (8000ml)洗涤,用EA0AC(500mL\*3)萃取。将合并的有机层用NaCl(50mL\*3)洗涤,经 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化( $SiO_2$ ,石油醚/乙酸乙酯=50/1至3/1,5% TEA)得到呈黄色油状物的(R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(240g, 637.55mmol, 66.15%产率)。 $^1H$ NMR(400MHz,  $DMSO-d_6$ )  $\delta$ =7.43-7.38(m, 2H), 7.34-7.19(m, 7H), 6.89(d,  $J$ =8.8Hz, 4H), 5.31(d,  $J$ =5.5Hz, 1H), 3.84(qd,  $J$ =5.4, 10.4Hz, 1H), 3.75-3.72(m, 6H), 3.65-3.59(m, 1H), 3.39-3.38(m, 1H), 3.06-2.94(m, 2H)。

[1216] 步骤2. 向(R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(14.29g, 66.41mmol, 1当量)在DMF(250mL)中的溶液中添加 $K_2CO_3$ (18.36g, 132.82mmol, 2当量)。将混合物在85℃搅拌2小时,添加(2R)-2-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]环氧乙烷(25g, 66.41mmol, 1当量)。将混合物在85℃搅拌12小时。将混合物真空浓缩。将残余物用饱和 $NaHCO_3$ 水溶液(500mL)淬灭,然后用EtOAc(600mL\*3)萃取。将合并的有机相用盐水(300mL)洗涤,经无水 $Na_2SO_4$ 干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过硅胶柱色谱纯化(石油醚/乙酸乙酯=50/1, 3/1)洗脱得到呈白色固体的WV-NU-176(24g, 40.56mmol, 11.75%产率)。 $^1H$ NMR(氯仿- $d$ , 400MHz):  $\delta$ =7.94(s, 2H), 7.83(br d,  $J$ =7.4Hz, 2H), 7.50-7.58(m, 2H), 7.45(t,  $J$ =7.6Hz, 2H), 7.34(br d,  $J$ =7.6Hz, 3H), 7.20-7.29(m, 7H), 7.12-7.20(m, 2H), 6.76(d,  $J$ =8.8Hz, 4H), 4.28(dd,  $J$ =13.6, 2.5Hz, 1H), 4.14(br s, 1H), 3.74-3.81(m, 1H), 3.71(s, 6H), 3.11-3.26(m, 1H), 3.05(dd,  $J$ =9.6, 6.0Hz, 1H), 1.19ppm(t,  $J$ =7.1Hz, 2H); LCMS: ( $M-H^+$ ): 590.2, LCMS纯度99.56%。

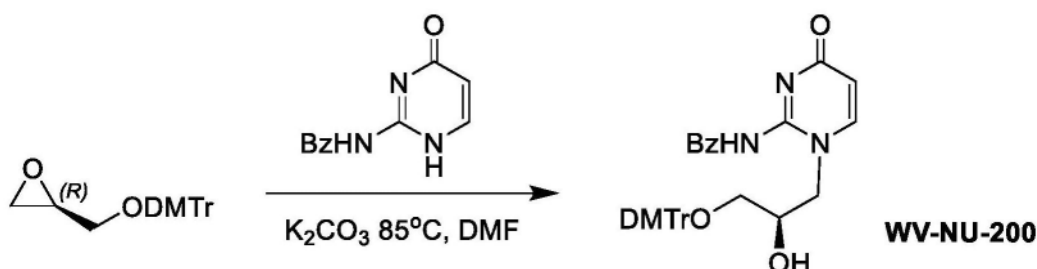
[1217] (S)-N-(1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺(WV-NU-199)的合成



[1218] 在85℃向化合物N-(4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺(57.17g, 265.64mmol, 2当量)在DMF(600mL)中的溶液中滴加 $K_2CO_3$ (9.18g, 66.41mmol, 0.5当量),将混合物在该温度下搅拌30min,然后在85℃滴加(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙

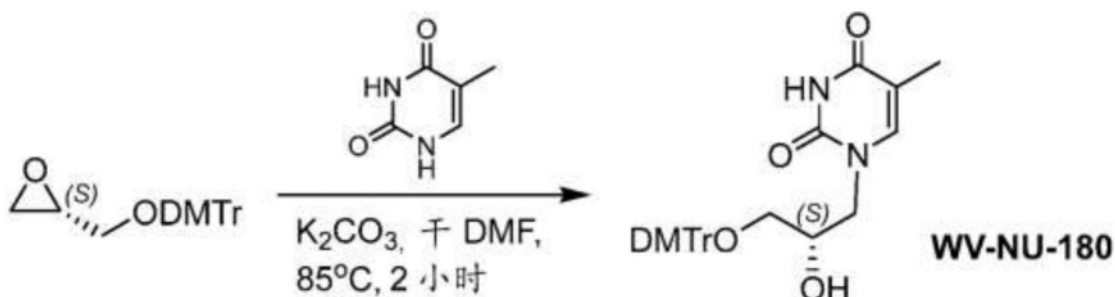
烷(50g,132.82mmol,1当量)。将所得混合物在85℃搅拌48小时。将反应混合物在15℃通过添加150mL水淬灭,用1000mL乙酸乙酯(500mL\*2)萃取,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ ,石油醚:乙酸乙酯=1:0至0:1)得到呈白色固体的WV-NU-199(14.23g,24.05mmol,18.11%产率)。 $^1\text{H}$ NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ =13.40-13.08(m,1H),8.17(d,J=7.9Hz,2H),7.81(d,J=8.0Hz,1H),7.53-7.42(m,3H),7.33-7.20(m,9H),6.85(d,J=8.8Hz,4H),5.94(dd,J=2.2,7.9Hz,1H),5.37(d,J=5.6Hz,1H),4.67(dd,J=3.1,13.3Hz,1H),4.34-4.18(m,1H),3.75-3.68(m,7H),3.15(br dd,J=4.9,9.0Hz,1H),2.96(br t,J=8.1Hz,1H);LCMS(M-H $^+$ ):592.24,纯度:94.76%。

[1219] (R)-N-(1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺(WV-NU-200)的合成



[1220] 在85℃向N-(4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺(34.30g,159.39mmol,2当量)在DMF(350mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (5.51g,39.85mmol,0.5当量),将混合物在该温度下搅拌30min,然后在85℃滴加(R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(30.00g,79.69mmol,1当量)。将所得混合物在85℃搅拌48小时。将反应混合物在15℃通过添加50mL水淬灭,用200mL乙酸乙酯(100mL\*2)萃取,经无水 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ ,石油醚:乙酸乙酯=1:0至0:1),以给出呈白色固体的WV-NU-200(7.95g,13.44mmol,16.86%产率)。 $^1\text{H}$ NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ =13.23(d,J=2.0Hz,1H),8.17(d,J=7.3Hz,2H),7.81(d,J=8.0Hz,1H),7.53-7.41(m,3H),7.32-7.19(m,9H),6.84(d,J=8.9Hz,4H),5.93(dd,J=2.4,8.0Hz,1H),5.36(d,J=5.6Hz,1H),4.67(dd,J=3.1,13.3Hz,1H),4.33-4.19(m,1H),3.75-3.67(m,7H),3.14(dd,J=4.9,9.1Hz,1H),2.96(br t,J=8.1Hz,1H);LCMS(M-H $^+$ ):592.24,纯度:93.75%。

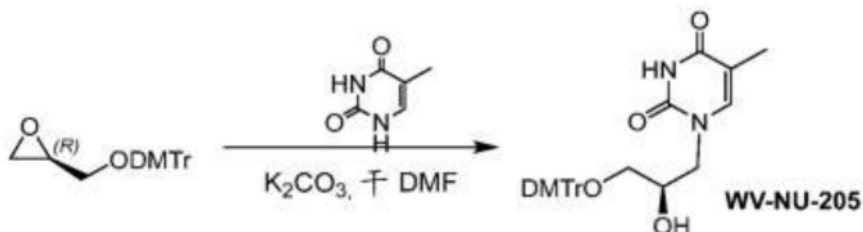
[1221] (S)-1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-5-甲基嘧啶-2,4-二酮(WV-NU-180)的合成



[1222] 在85℃向5-甲基-1H-嘧啶-2,4-二酮(16.75g,132.82mmol,1当量)在DMF(100mL)中的溶液中添加 $\text{K}_2\text{CO}_3$ (7.34g,53.13mmol,0.4当量)和(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(50g,132.82mmol,1当量)。将混合物在85℃搅拌24小时。将混合物用

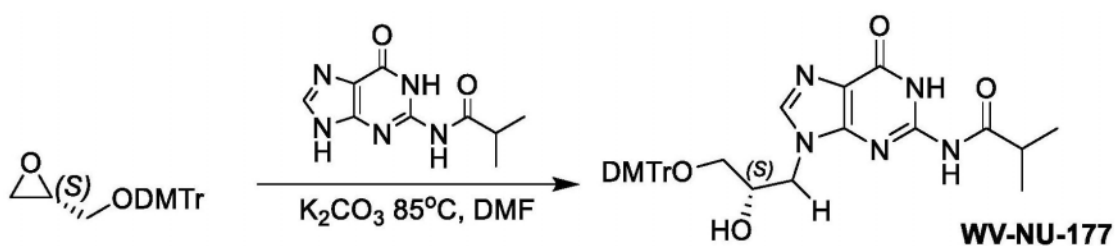
H<sub>2</sub>O 500mL稀释并用EtOAc 500mL\*3萃取。将有机相经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并并在减压下浓缩,以给出残余物。将硅胶柱用石油醚(5% Et<sub>3</sub>N) 600mL和石油醚600mL洗涤。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=100/1至1/1)得到呈黄色固体的WV-NU-180(13.8g, 26.33mmol, 19.83%产率, 95.9%纯度)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=11.20 (s, 1H), 7.50-7.13 (m, 10H), 6.88 (dd, J=1.5, 8.8Hz, 4H), 5.25 (d, J=5.6Hz, 1H), 3.95-3.86 (m, 2H), 3.77-3.70 (m, 6H), 3.53-3.40 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 1H), 2.91-2.82 (m, 1H), 2.75-2.71 (m, 1H), 2.73 (s, 1H), 1.70 (s, 3H)。LCMS: (M<sup>+</sup>): 501.1, LCMS纯度: 95.9%。

[1223] (R)-1-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-5-甲基嘧啶-2,4-(1H,3H)-二酮(WV-NU-205)的合成



[1224] 对于两批:在85℃向(R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(60g, 159.39mmol, 1当量)在DMF(600mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(11.01g, 79.69mmol, 0.5当量)30分钟,并且添加5-甲基-1H-嘧啶-2,4-二酮(20.10g, 159.39mmol, 1当量)。将混合物在85℃搅拌12小时。将反应混合物在15℃通过添加500mL水淬灭,用2000mL乙酸乙酯(1000mL\*2)萃取,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚:乙酸乙酯=1:0至0:1),得到呈白色固体的WV-NU-205(10g, 19.90mmol)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ=11.18 (s, 1H), 7.42 (br d, J=7.5Hz, 2H), 7.36-7.21 (m, 9H), 6.88 (dd, J=1.3, 8.7Hz, 4H), 5.24 (d, J=5.5Hz, 1H), 3.95-3.86 (m, 2H), 3.74 (s, 6H), 3.46 (br dd, J=9.4, 14.5Hz, 1H), 3.01-2.85 (m, 2H), 1.70 (s, 3H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 502.56, 纯度: 96.97%。

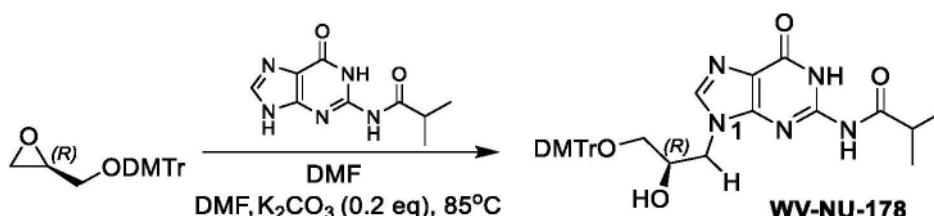
[1225] (S)-N-(9-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(WV-NU-177)的合成



[1226] 对于三批:在85℃向2-甲基-N-(6-氧代-1,9-二氢嘌呤-2-基)丙酰胺(11.75g, 53.13mmol, 1当量)在DMF(200mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.67g, 26.56mmol, 0.5当量)30分钟,并且添加(S)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(20g, 53.13mmol, 1当量)。将混合物在85℃搅拌12小时。合并三个反应进行后处理。将反应混合物用水500mL稀释并用EtOAc(500mL\*4)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,二氯甲烷:甲醇=0:1至30:1)。将22g粗产物的混合物通过以下纯化:制备型HPLC柱(Phenomenex Titank C18 Bulk 250\*100mm 10u;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:45%-65%, 20min)得到呈淡黄色固体的化合物WV-NU-

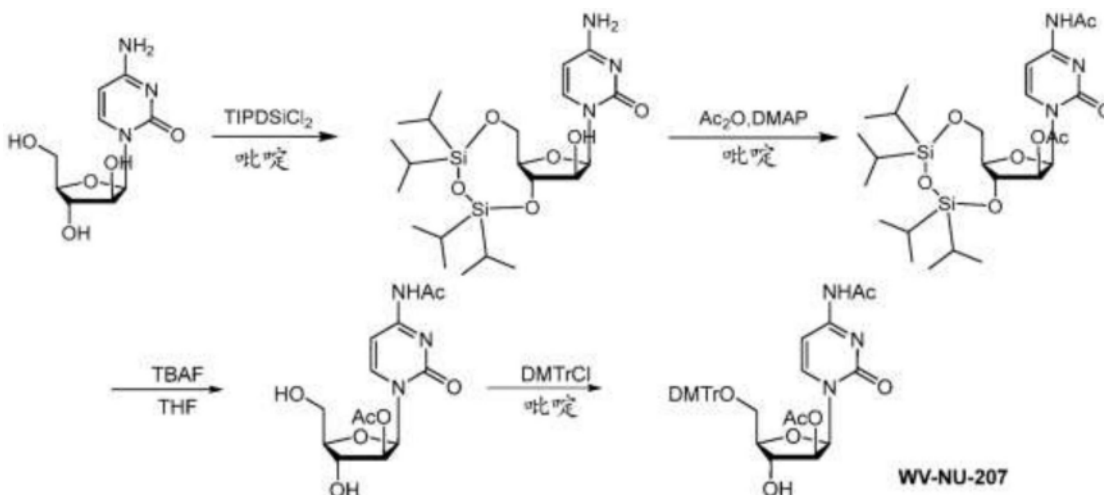
177 (8.1g, 13.55mmol, 36.82% 产率)。<sup>1</sup>HNMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 12.03 (s, 1H), 11.56 (s, 1H), 7.89-7.86 (m, 1H), 7.43-7.37 (m, 2H), 7.33-7.18 (m, 7H), 6.90-6.84 (m, 4H), 5.42 (d, J = 5.0Hz, 1H), 4.15-4.08 (m, 2H), 3.73 (d, J = 0.8Hz, 6H), 3.34 (s, 1H), 3.01-2.96 (m, 1H), 2.89 (dd, J = 4.1, 9.4Hz, 1H), 2.78 (quin, J = 6.8Hz, 1H), 1.11 (dd, J = 2.6, 6.9Hz, 6H); LCMS (M-H<sup>+</sup>): 597.26, LCMS 纯度: 97.82%。

[1227] (R)-N-(9-(3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-羟基丙基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺(WV-NU-178)的合成



[1228] 对于5个批次:向(R)-2-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)环氧乙烷(14g, 37.19mmol, 1当量)在DMF(100mL)中的溶液中添加K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(2.06g, 14.88mmol, 0.4当量)和2-甲基-N-(6-氧代-1,9-二氢嘌呤-2-基)丙酰胺(8.23g, 37.19mmol, 1当量)。将混合物在85°C搅拌12小时。将反应混合物通过在15°C添加500mL水来淬灭,并用1000mL乙酸乙酯(500mL\*2)萃取。将合并的有机相用盐水(150mL)洗涤,经无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并真空浓缩。将残余物通过以下纯化:制备型HPLC(柱:Phenomenex Titank C18 Bulk250\*100mm 10u;流动相:[水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN];B%:50%-70%,20min)得到呈白色固体的化合物WV-NU-178(8g, 13.39mmol, 32.01% 产率)。<sup>1</sup>HNMR(氯仿-d, 400MHz): δ = 7.59 (s, 1H), 7.46 (d, J = 7.8Hz, 2H), 7.30-7.36 (m, 6H), 7.22-7.27 (m, 1H), 6.85 (d, J = 8.8Hz, 4H), 4.26 (br d, J = 11.3Hz, 2H), 4.10 (br dd, J = 14.8, 8.3Hz, 2H), 3.82 (s, 6H), 3.16-3.29 (m, 2H), 2.57-2.65 (m, 1H), 1.30ppm (dd, J = 6.8, 4.8Hz, 6H)。LCMS: M-H<sup>+</sup>: 596.6, LCMS 纯度99.48%。

[1229] (2R,3S,4R,5R)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-3-基乙酸酯(WV-NU-207)的合成



[1230] 步骤1.在0°C在N<sub>2</sub>中向4-氨基-1-((2R,3S,4S,5R)-3,4-二羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(96g, 394.71mmol, 1当量)在吡啶(460mL)中的溶液中滴加氯-氯(二异丙基)甲硅烷氧基-二异丙基-硅烷(136.95g, 434.18mmol, 138.90mL, 1.1当

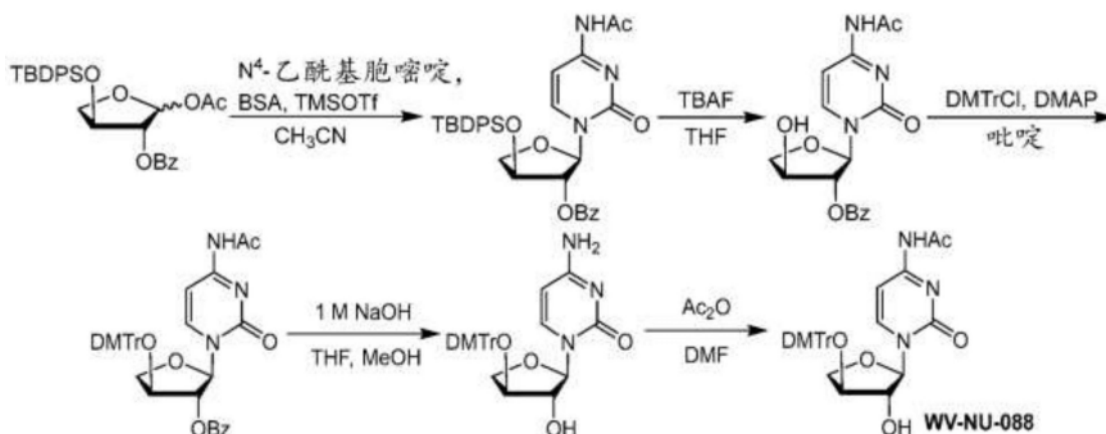
量)。2小时后,将混合物在0-20℃搅拌10小时。将反应混合物真空浓缩以获得粗产物。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ ,石油醚:乙酸乙酯=10:1至0:1)得到呈白色固体的4-氨基-1-((6aR,8R,9S,9aS)-9-羟基-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-咪喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅酮-8-基)嘧啶-2(1H)-酮(170g,350.00mmol,88.67%产率)。LCMS( $\text{M}+\text{H}^+$ ):486.3。

[1231] 步骤2.向4-氨基-1-((6aR,8R,9S,9aS)-9-羟基-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-咪喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅酮-8-基)嘧啶-2(1H)-酮(170g,350.00mmol,1当量)在吡啶(1700mL)中的溶液中添加DMAP(85.52g,699.99mmol,2当量)和 $\text{Ac}_2\text{O}$ (142.92g,1.40mol,131.12mL,4当量)。将混合物在25℃搅拌10小时。反应混合物用水1000mL稀释,然后分离并收集有机相。将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并减压浓缩,得到呈黄色油状物的(6aR,8R,9S,9aR)-8-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-咪喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅酮-9-基乙酸酯(199g,粗品)。LCMS( $\text{M}+\text{H}^+$ ):570.4。

[1232] 步骤3.对于三批:向(6aR,8R,9S,9aR)-8-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-2,2,4,4-四异丙基四氢-6H-咪喃并[3,2-f][1,3,5,2,4]三氧杂二硅酮-9-基乙酸酯(66.3g,116.36mmol,1当量)在THF(600mL)中的溶液中添加TBAF(1M,174.54mL,1.5当量)和AcOH(6.99g,116.36mmol,6.66mL,1当量)。将混合物在20℃搅拌2小时。将反应混合物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化( $\text{SiO}_2$ ,乙酸乙酯:MeOH=20:1至1:1)。减压浓缩后,将1L乙酸乙酯搅拌10分钟,过滤获得呈白色固体的(2R,3S,4R,5R)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-3-基乙酸酯(64g,195.55mmol,64.00%产率)。 $^1\text{H}$ NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ =10.89(br s,1H),8.21(d,J=7.5Hz,1H),7.22(d,J=7.5Hz,1H),6.17(d,J=4.8Hz,1H),5.85(br d,J=4.1Hz,1H),5.26(t,J=4.3Hz,1H),5.12(br s,1H),4.09(br s,2H),3.87(q,J=4.8Hz,1H),3.63-3.57(m,1H),3.16(d,J=4.4Hz,2H),2.10(s,3H),1.85(s,3H);LCMS( $\text{M}+\text{H}^+$ ):328.2;纯度:73.59%。

[1233] 步骤4.对于两批:向(2R,3S,4R,5R)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-3-基乙酸酯(26g,79.44mmol,1当量)在吡啶(500mL)中的溶液中添加DMTC1(26.92g,79.44mmol,1当量)。将混合物在25℃搅拌20小时。将反应混合物过滤并在减压下浓缩,以给出残余物,将其通过以下纯化:柱色谱( $\text{SiO}_2$ ,乙酸乙酯:MeOH=20:1至1:1,5% TEA),得到呈黄色固体的WV-NU-207(46.5g,73.85mmol,46.50%产率)。 $^1\text{H}$ NMR(400MHz,DMSO- $d_6$ ) $\delta$ =10.90(s,1H),7.87(d,J=7.5Hz,1H),7.43-7.39(m,2H),7.36-7.22(m,8H),7.11(d,J=7.5Hz,1H),6.91(dd,J=1.3,8.8Hz,4H),6.20(d,J=4.8Hz,1H),5.94(d,J=4.6Hz,1H),5.26-5.22(m,1H),4.17-4.09(m,2H),3.74(s,6H),3.32-3.28(m,2H),2.10(s,3H),1.74(s,3H);LCMS( $\text{M}+\text{H}^+$ ):628.2;纯度:96.49%。

[1234] N-(1-((2R,3R,4S)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-3-羟基四氢咪喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺(WV-NU-088)的合成



[1235] 步骤1. 向(3R,4S)-2-乙酰氧基-4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(27.5g, 54.49mmol, 1当量)和N-(2-氧代-1H-嘧啶-4-基)乙酰胺(8.76g, 57.22mmol, 1.05当量)在MeCN(140mL)中的溶液中添加BSA(23.28g, 114.44mmol, 28.29mL, 2.1当量),并将混合物在60℃搅拌30分钟。滴加TMSOTf(19.38g, 87.19mmol, 15.76mL, 1.6当量),并在60℃继续搅拌另外2小时。将混合物冷却至室温,用100mL EtOAc稀释,并在搅拌下倒入200mL冷饱和NaHCO<sub>3</sub>水溶液中,并将混合物用DCM(500mL\*2)萃取。将有机层分离,用H<sub>2</sub>O(100mL)和盐水(100mL)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,减压浓缩得到呈黄色固体的(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(30g,粗品)。混合物不经进一步纯化直接使用。LCMS: (M+H<sup>+</sup>):598.3。

[1236] 步骤2. 向(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-((叔丁基二苯基甲硅烷基)氧基)四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(30g, 50.19mmol, 1当量)在THF(240mL)中的溶液中加入TBAF(1M, 75.28mL, 1.5当量)。将混合物在0℃搅拌1小时。TLC(乙酸乙酯/石油醚=2:1, R<sub>f</sub>=0.25)显示一个主要斑点。减压蒸发溶剂,并将残余物溶解在600mL EtOAc中。将有机层分离并用H<sub>2</sub>O(100mL\*2)和盐水(100mL)洗涤,经MgSO<sub>4</sub>干燥,减压浓缩得到粗品。将残余物通过柱色谱(SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=5/1至1/2)纯化,得到呈黄色固体的(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(12g, 33.40mmol, 66.54%产率)。

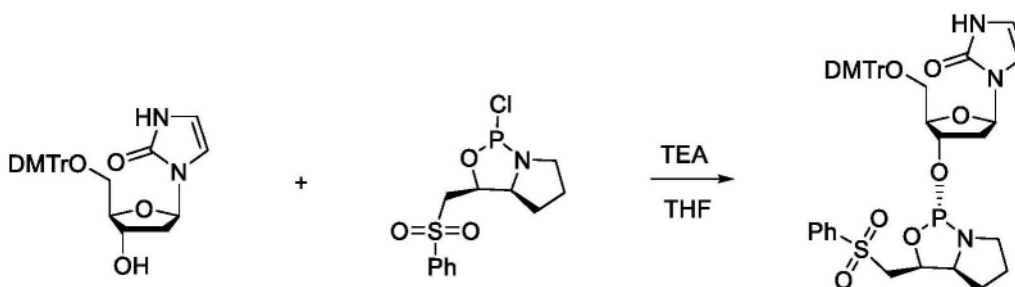
[1237] 步骤3: 将(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-羟基四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(11g, 30.61mmol, 1当量)、DMTrCl(15.56g, 45.92mmol, 1.5当量)、DMAP(373.98mg, 3.06mmol, 0.1当量)的混合物与20mL无水吡啶一起共蒸发两次。将混合物溶解在无水吡啶(80mL)中并在氩气下于80℃搅拌16小时。浓缩混合物得到粗品。将残余物通过硅胶色谱(石油醚/乙酸乙酯=10/1, 3/1, 5% TEA)纯化,得到呈白色固体的(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(18.5g,粗品)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>):660.2。

[1238] 步骤4. 在0℃向(2R,3R,4S)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)四氢呋喃-3-基苯甲酸酯(18.5g, 27.96mmol, 1当量)在MeOH(180mL)的混合物中的溶液中添加LiOH·H<sub>2</sub>O(1.41g, 33.55mmol, 1.2当量)。添加水(500mL),然后减压浓缩以除去有机溶剂。将水相用EtOAc(250mL\*3)萃取,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,减压浓缩,以给出呈黄色固体的4-氨基-1-((2R,3R,4S)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-3-

羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(14.4g,粗品)。

[1239] 步骤5.向4-氨基-1-((2R,3R,4S)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-3-羟基四氢呋喃-2-基)嘧啶-2(1H)-酮(14.4g,27.93mmol,1当量)在DMF(100mL)中的溶液中添加Ac<sub>2</sub>O(3.14g,30.72mmol,2.88mL,1.1当量),将混合物在20℃搅拌12小时。添加水(500mL)并用EtOAc(500mL\*2)萃取,并且将有机物经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并浓缩得到粗品。将混合物通过硅胶色谱法纯化(DCM/乙酸乙酯=20/1,1/1,乙酸乙酯:甲醇=20:1,5% TEA)得到呈白色固体的化合物WV-NU-088(8.3g,14.45mmol,51.73%产率,97.07%纯度)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz,氯仿-d)δ=9.23(br s,1H),8.04(d,J=7.5Hz,1H),7.54(d,J=7.4Hz,1H),7.38-7.33(m,2H),7.31-7.18(m,8H),6.86-6.78(m,4H),4.34-4.24(m,3H),3.80(d,J=2.4Hz,6H),3.69(dd,J=4.4,9.9Hz,1H),3.39(dd,J=2.3,9.8Hz,1H),2.34(s,3H),2.00(s,1H);LCMS纯度:97.07%,556.2(M-H)<sup>-</sup>。

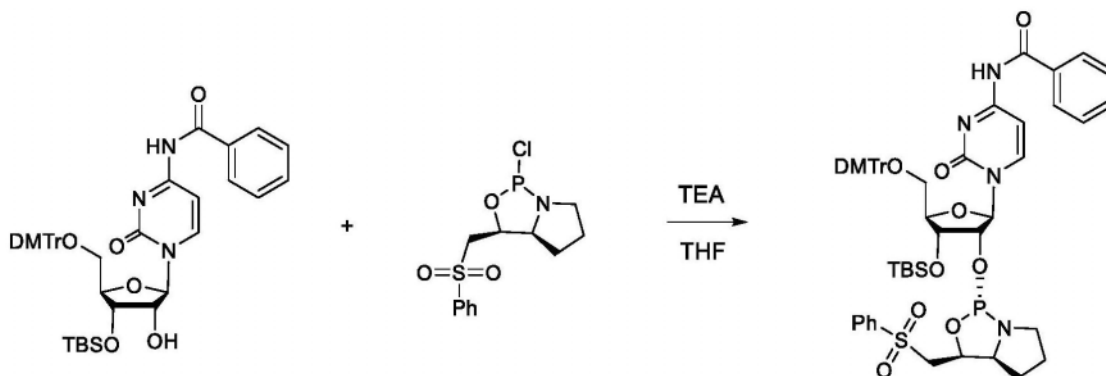
[1240] 1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-(苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-1,3-二氢-2H-咪唑-2-酮的合成



[1241] 向干3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-咪唑-2-酮(4.0g,7.96mmol)在THF(40mL)中的溶液中添加三乙胺(4.99mL,35.82mmol)。冷却至0℃。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M的THF溶液,13.27mL,11.94mmol)。将所得浆液在0℃搅拌2.5小时,然后在室温下搅拌1.5小时。用水(72μL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(960mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用EtOAc中的0-100% MeCN(各流动相含有2.5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(2.389g,38.2%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ9.68(s,1H),7.90-7.86(m,2H),7.62-7.56(m,1H),7.50(t,J=7.8Hz,2H),7.45-7.41(m,2H),7.31(dd,J=8.7,5.5Hz,4H),7.28(t,J=7.5Hz,2H),7.21(t,J=7.4Hz,1H),6.83(d,J=8.5Hz,4H),6.34(t,J=2.6Hz,1H),6.21(t,J=2.7Hz,1H),6.07(t,J=7.0Hz,1H),4.92(q,J=6.1Hz,1H),4.75(dq,J=8.8,3.8,3.4Hz,1H),3.96(q,J=3.4Hz,1H),3.78(s,6H),3.58(dq,J=11.8,6.0Hz,1H),3.51-3.41(m,2H),3.35(dd,J=14.6,5.3Hz,1H),3.31(dd,J=10.3,3.9Hz,1H),3.18(dd,J=10.3,3.7Hz,1H),3.09(qd,J=10.1,3.9Hz,1H),2.31(dd,J=7.0,4.4Hz,2H),1.87(dh,J=12.6,4.7,3.7Hz,1H),1.81-1.71(m,1H),1.65-1.62(m,1H),1.15-1.05(m,1H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>)δ152.36;MS(ESI),784.77[M-H]<sup>-</sup>。

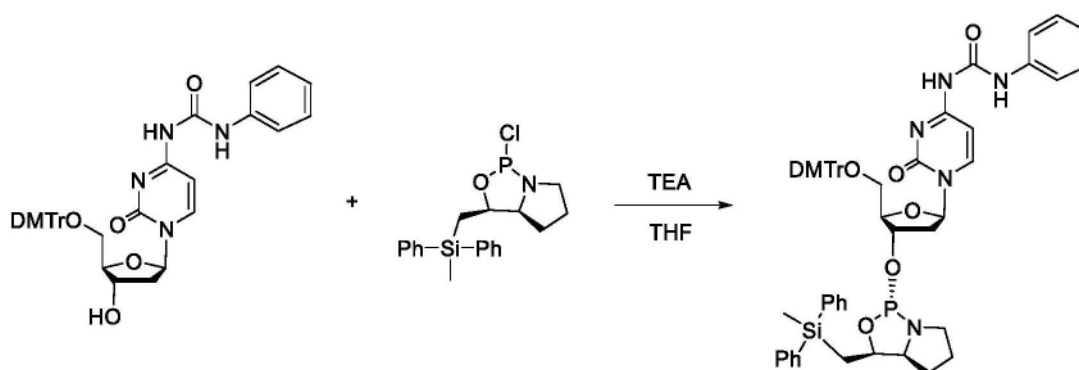
[1242] N-(1-((2R,3R,4R,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-3-(((1S,3S,3aS)-3-(苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-

## 基) 苯甲酰胺的合成



[1243] 向干燥的N-[1-[ (2R,3S,5R) -5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基-3-羟基-四氢呋喃-2-基]-2-氧代-嘧啶-4-基]苯甲酰胺 (10.0g, 13.09mmol) 在THF (100mL) 中的溶液中添加三乙胺 (9.85mL, 70.69mmol)。滴加 (3S, 3aS) -3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷 (0.90M的THF溶液, 26.18mL, 23.56mmol)。将所得浆液在室温下搅拌2.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水 (234 $\mu$ L) 淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub> (3.12g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的20%-70% EtOAc (各流动相含有5%的三乙胺) 梯度纯化, 得到呈灰白色泡沫状的标题化合物 (9.95g, 72.6% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.57 (bs, 2H), 7.99-7.95 (m, 2H), 7.91-7.82 (m, 2H), 7.64-7.58 (m, 2H), 7.52 (dt, J=15.0, 7.6Hz, 4H), 7.41 (d, J=7.4Hz, 2H), 7.34 (t, J=7.5Hz, 2H), 7.30 (dd, J=8.8, 3.2Hz, 5H), 6.88 (d, J=8.5Hz, 4H), 5.93 (d, J=1.6Hz, 1H), 5.14 (q, J=6.3Hz, 1H), 4.51-4.45 (m, 1H), 4.20 (dd, J=8.0, 4.3Hz, 1H), 4.15 (dd, J=6.7, 4.2Hz, 1H), 3.83 (s, 6H), 3.79-3.69 (m, 3H), 3.59-3.54 (m, 1H), 3.51 (dd, J=14.7, 6.9Hz, 1H), 3.43-3.39 (m, 1H), 3.35 (dd, J=11.0, 2.6Hz, 1H), 3.20 (qd, J=9.4, 4.1Hz, 1H), 1.82 (tt, J=8.3, 4.3Hz, 1H), 1.79-1.74 (m, 1H), 1.65 (ddt, J=12.2, 6.1, 3.0Hz, 1H), 1.18-1.11 (m, 1H), 0.75 (s, 9H), -0.03 (s, 3H), -0.12 (s, 3H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  155.49; MS (ESI), 1045.67 [M-H]<sup>-</sup>。

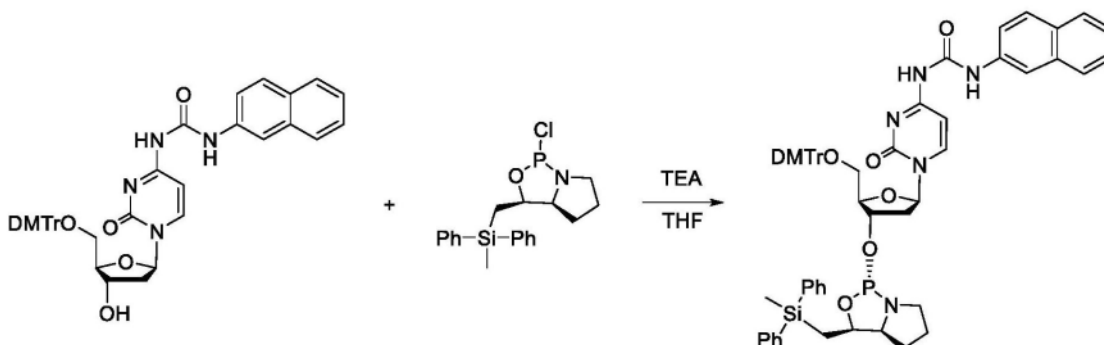
[1244] 1-(1-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)-3-苯基脲的合成



[1245] 向干1-[1-[ (2R,4R,5R) -5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四

氢呋喃-2-基]-2-氧代-嘧啶-4-基]-3-苯基-脲(10.0g, 15.42mmol)在THF(100mL)中的溶液中添加三乙胺(11.6mL, 83.24mmol)。滴加[(3S, 3aS)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液, 28.98mL, 27.75mmol)。将所得的灰白色浆液在室温下搅拌3.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(277 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(3.7g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(9.18g, 60.3%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 11.38(s, 1H), 11.05(s, 1H), 8.10(d, J=7.7Hz, 1H), 7.68(d, J=8.0Hz, 2H), 7.45(t, J=7.4Hz, 4H), 7.36(t, J=8.6Hz, 3H), 7.30(m, 9H), 7.26-7.21(m, 6H), 7.04(t, J=7.4Hz, 1H), 6.84(d, J=8.4Hz, 4H), 6.28(t, J=6.3Hz, 1H), 4.78-4.68(m, 2H), 3.93(q, J=3.3Hz, 1H), 3.77(s, 6H), 3.52(ddt, J=15.1, 10.5, 7.6Hz, 1H), 3.32(qd, J=10.6, 2.9Hz, 3H), 3.08(dt, J=10.8, 6.8Hz, 1H), 2.60(ddd, J=14.1, 6.3, 4.0Hz, 1H), 2.05(m, 1H), 1.84(dh, J=12.7, 4.7, 3.9Hz, 1H), 1.70-1.62(m, 1H), 1.56-1.52(m, 1H), 1.40(dq, J=15.8, 7.2, 6.7Hz, 2H), 1.23-1.18(m, 1H), 0.58(s, 3H); <sup>31</sup>P NMR(243MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  153.22; MS(ESI), 986.91[M-H]<sup>-</sup>。

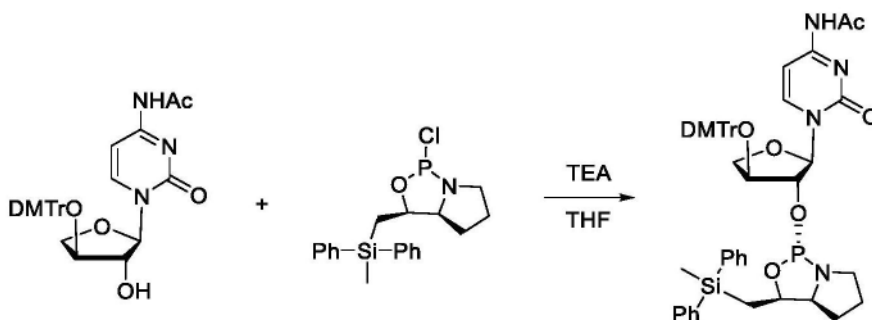
[1246] 1-(1-((2R, 4S, 5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1, 2-二氢嘧啶-4-基)-3-(萘-2-基)脲的合成



[1247] 向干1-[1-[(2R, 4R, 5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-2-氧代-嘧啶-4-基]-3-(2-萘基)脲(15.0g, 21.47mmol)在THF(150mL)中的溶液中添加三乙胺(16.16mL, 115.92mmol)。滴加[(3S, 3aS)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液, 40.36mL, 38.64mmol)。将所得的灰白色浆液在室温下搅拌3.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(386 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(5.15g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的10%-60%EtOAc(各流动相含有5%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(15.91g, 71.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, DMSO)  $\delta$ 12.56(s, 1H), 10.56(s, 1H), 8.48-8.43(m, 1H), 8.28(d, J=7.6Hz, 1H), 8.02(d, J=7.4Hz, 1H), 7.99-7.94(m, 1H), 7.70(d, J=8.2Hz, 1H), 7.62-7.56(m, 2H), 7.54-7.45(m, 5H), 7.39-7.27(m, 8H), 7.27-7.20(m, 8H), 6.88(dd, J=8.5, 5.7Hz, 4H), 6.17(d, J=6.7Hz, 1H), 6.09(t, J=6.4Hz, 1H), 4.68-4.63(m, 1H), 4.63-4.57(m, 1H), 3.84(q, J=4.0Hz, 1H), 3.73(s, 3H), 3.72(s, 3H), 3.38(ddt, J=14.8, 10.2, 7.5Hz,

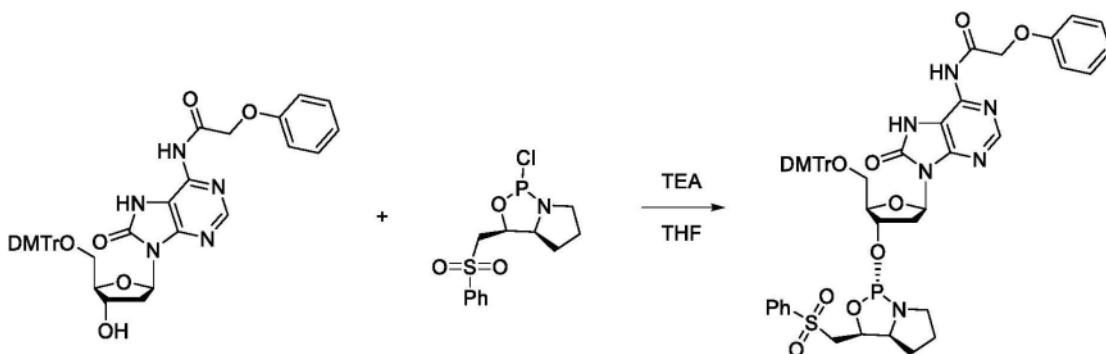
1H), 3.30 (m, 1H), 3.23 (dd, J=10.8, 3.4Hz, 1H), 3.19 (dd, J=10.7, 4.4Hz, 1H), 2.81 (qd, J=10.6, 4.3Hz, 1H), 2.24-2.17 (m, 1H), 1.88 (dt, J=13.5, 6.6Hz, 1H), 1.77 (dq, J=12.9, 4.5Hz, 1H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.51 (dd, J=14.8, 5.3Hz, 1H), 1.45 (dt, J=11.3, 8.0Hz, 2H), 0.59 (s, 3H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, DMSO) δ146.05; MS (ESI), 1036.85 [M-H]<sup>-</sup>。

[1248] N-(1-((2R,3R,4S)-4-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-3-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)乙酰胺的合成



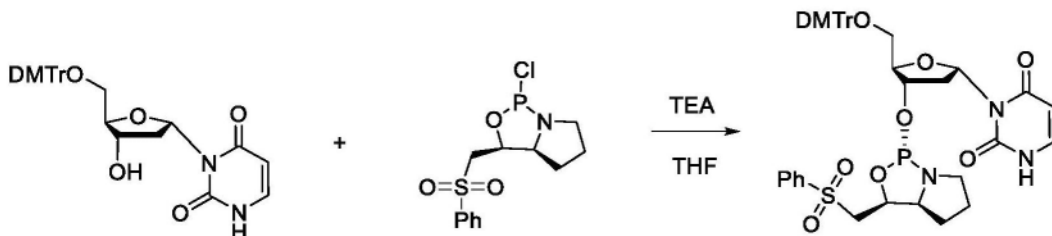
[1249] 向干N-[1-[(2R,4R)-4-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-3-羟基-四氢呋喃-2-基]-2-氧代-嘧啶-4-基]乙酰胺(4.0g, 7.17mmol)在THF(40mL)中的溶液中添加三乙胺(5.4mL, 38.74mmol)。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液, 13.49mL, 12.91mmol)。将反应浆液在室温下搅拌3小时。TLC和LCMS显示反应完成。将反应用水(129μL)淬灭。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.72g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的20%-70% EtOAc(各流动相含有2.5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(4.4g, 68.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ9.18 (s, 1H), 7.95 (d, J=7.5Hz, 1H), 7.51-7.45 (m, 4H), 7.43-7.37 (m, 3H), 7.35 (q, J=6.8Hz, 3H), 7.32-7.28 (m, 3H), 7.26 (d, J=4.3Hz, 3H), 7.21 (p, J=4.2Hz, 1H), 7.18 (dd, J=8.7, 4.3Hz, 4H), 6.80 (t, J=8.7Hz, 4H), 5.65 (s, 1H), 4.76 (q, J=6.8Hz, 1H), 4.39 (d, J=8.2Hz, 1H), 4.09 (d, J=3.6Hz, 1H), 3.79-3.75 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 3.61 (ddt, J=14.9, 10.4, 7.6Hz, 1H), 3.42 (d, J=9.9Hz, 1H), 3.36 (ddd, J=13.3, 10.2, 5.8Hz, 1H), 3.21 (dt, J=11.0, 6.9Hz, 1H), 2.29 (s, 3H), 1.83 (dp, J=12.7, 4.7Hz, 1H), 1.69-1.61 (m, 1H), 1.53 (dd, J=14.6, 7.9Hz, 1H), 1.41 (dd, J=14.6, 7.0Hz, 1H), 1.38-1.32 (m, 1H), 1.21 (p, J=10.2Hz, 1H), 0.53 (s, 3H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ158.33; MS (ESI), 895.65 [M-H]<sup>-</sup>。

[1250] N-(9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-2-苯氧基乙酰胺的合成



[1251] 向干燥的N-[9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]-2-苯氧基-乙酰胺(7.5g,10.66mmol)在THF(37.5mL)中的溶液中添加三乙胺(3.71mL,26.64mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M的THF溶液,21.31mL,19.18mmol)。移去水浴。将灰白色浆液在室温下搅拌3小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(153 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(2.04g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的30%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(8.35g,79.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 9.35(s,1H),8.95(s,1H),8.24(d,J=1.5Hz,1H),7.90(d,J=7.7Hz,2H),7.59(t,J=7.5Hz,1H),7.51(t,J=7.9Hz,2H),7.42(d,J=7.8Hz,2H),7.39-7.34(m,2H),7.33-7.28(m,4H),7.21(t,J=7.5Hz,2H),7.16(t,J=7.3Hz,1H),7.09(t,J=7.4Hz,1H),7.00(d,J=8.1Hz,2H),6.75(dd,J=8.8,7.0Hz,4H),6.38(t,J=6.8Hz,1H),5.09(h,J=6.2,5.4Hz,2H),4.67(s,2H),4.06(q,J=5.1Hz,1H),3.763(s,3H),3.756(s,3H),3.69(dq,J=11.7,6.1Hz,1H),3.47(dt,J=14.7,8.1Hz,2H),3.37(dd,J=10.1,5.1Hz,2H),3.28(ddd,J=23.8,11.7,6.1Hz,2H),3.03(tt,J=9.8,5.1Hz,1H),2.30(dq,J=12.6,6.3,5.3Hz,1H),1.88(ddt,J=13.0,9.3,5.1Hz,1H),1.77(q,J=10.8,10.0Hz,1H),1.66(dt,J=12.7,6.4Hz,1H),1.12(p,J=10.0Hz,1H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 149.94;MS(ESI),985.68[M-H]<sup>-</sup>。

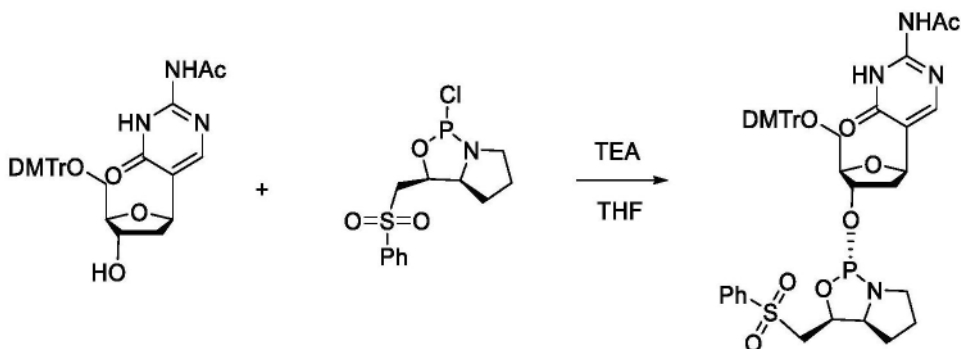
[1252] 3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1253] 向干燥的3-[(2S,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(3.0g,5.65mmol)在THF(22.5mL)中的溶液中添加三乙胺(1.97mL,14.14mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.90M的THF溶液,11.31mL,10.18mmol)。将浑浊的反应溶液在室温搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(81 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水

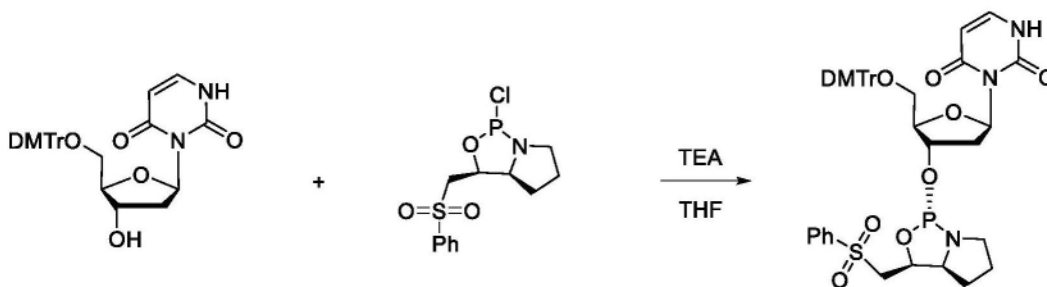
MgSO<sub>4</sub> (1.08g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的50%-100% EtOAc (各流动相含有1%的三乙胺) 梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物 (3.48g, 75.6% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 9.51 (s, 1H), 7.90-7.85 (m, 2H), 7.62-7.57 (m, 1H), 7.55-7.47 (m, 2H), 7.47-7.40 (m, 2H), 7.37-7.32 (m, 4H), 7.29-7.24 (m, 2H), 7.21-7.16 (m, 1H), 7.13 (d, J=7.7Hz, 1H), 6.86-6.78 (m, 4H), 6.75 (t, J=7.7Hz, 1H), 5.68 (d, J=7.7Hz, 1H), 4.94 (q, J=6.1Hz, 1H), 4.75 (p, J=8.4Hz, 1H), 4.44 (ddd, J=7.5, 3.9, 2.3Hz, 1H), 3.767 (s, 3H), 3.765 (s, 3H), 3.59 (dq, J=10.0, 5.9Hz, 1H), 3.44-3.26 (m, 4H), 3.04-3.00 (m, 1H), 3.00-2.93 (m, 1H), 2.83 (dt, J=12.4, 8.2Hz, 1H), 2.53 (dt, J=12.5, 7.9Hz, 1H), 1.82 (s, 1H), 1.72 (d, J=10.6Hz, 1H), 1.65-1.55 (m, 1H), 1.06 (dq, J=11.6, 9.9Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 150.88; MS (ESI), 812.53 [M-H]<sup>-</sup>。

[1254] N-(5-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢咪喃-2-基)-6-氧代-1,6-二氢嘧啶-2-基)乙酰胺的合成



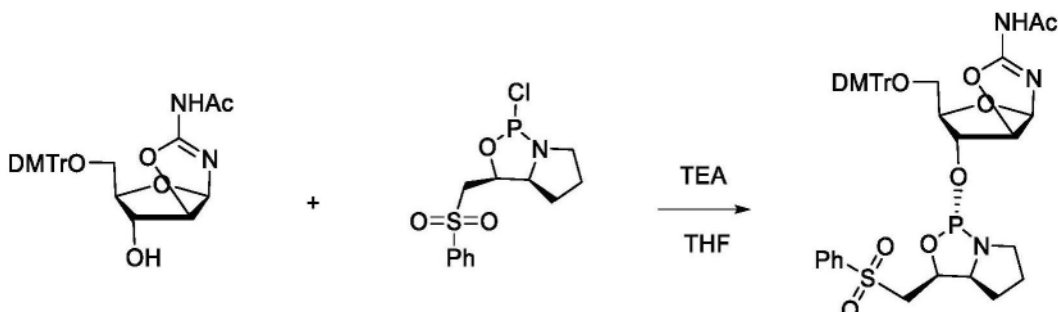
[1255] 向干燥的N-[5-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢咪喃-2-基]-6-氧代-1H-嘧啶-2-基]乙酰胺 (7.0g, 12.25mmol) 在THF (35mL) 中的溶液中添加三乙胺 (4.27mL, 30.61mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷 (0.90M的THF溶液, 24.49mL, 22.04mmol)。移去水浴。将白色浆液在室温下搅拌2小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水 (176μL) 淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub> (2.35g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用MeCN中的0-60% EtOAc (各流动相含有1%的三乙胺) 梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物 (8.22g, 78.5% 产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO) δ 11.56 (s, 2H), 7.90-7.86 (m, 2H), 7.86-7.81 (m, 1H), 7.67-7.61 (m, 1H), 7.55 (t, J=7.8Hz, 2H), 7.42-7.37 (m, 2H), 7.31 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.28-7.24 (m, 4H), 7.24-7.21 (m, 1H), 6.91-6.85 (m, 4H), 4.87 (m, 1H), 4.82 (ddd, J=9.1, 5.9, 3.1Hz, 1H), 4.59 (m, 1H), 3.85 (td, J=4.5, 2.4Hz, 1H), 3.77 (dd, J=15.0, 3.1Hz, 1H), 3.74 (s, 6H), 3.72-3.68 (m, 1H), 3.44 (dq, J=11.8, 6.1Hz, 1H), 3.38-3.29 (m, 1H), 3.13 (dd, J=10.1, 4.3Hz, 1H), 3.04 (dd, J=10.2, 4.7Hz, 1H), 2.85-2.76 (m, 1H), 2.28-2.22 (m, 1H), 2.15 (s, 3H), 1.76 (dt, J=12.1, 4.6Hz, 2H), 1.61 (td, J=13.5, 11.2, 6.2Hz, 1H), 1.56-1.50 (m, 1H), 1.10 (dq, J=11.7, 9.5Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, DMSO) δ 146.56; MS (ESI), 853.57 [M-H]<sup>-</sup>。

[1256] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1257] 向干3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1H-嘧啶-2,4-二酮(29.8g,56.17mmol)在THF(200mL)中的溶液中添加三乙胺(19.57mL,140.42mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.89M的THF溶液,113.59mL,101.1mmol)。移去水浴。将浑浊的反应溶液在室温搅拌2.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(794μL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(10.6g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的50%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(40.4g,88.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ9.28(bs,1H),7.87(dd,J=8.3,1.4Hz,2H),7.63-7.57(m,1H),7.53-7.44(m,4H),7.37-7.33(m,4H),7.23(t,J=7.8Hz,2H),7.19-7.13(m,1H),6.81-6.75(m,4H),6.70(dd,J=8.4,5.1Hz,1H),6.64(d,J=7.7Hz,1H),5.53(d,J=7.7Hz,1H),4.96(q,J=6.1Hz,1H),4.87(dq,J=12.8,5.6Hz,1H),3.93(td,J=5.9,3.9Hz,1H),3.752(s,3H),3.749(s,3H),3.62(dq,J=11.7,6.0Hz,1H),3.44-3.25(m,5H),2.94(qd,J=10.0,4.0Hz,1H),2.85(ddd,J=13.2,8.0,5.2Hz,1H),2.23(ddd,J=13.6,8.6,5.5Hz,1H),1.85-1.79(m,1H),1.76-1.69(m,1H),1.65-1.59(m,1H),1.12-1.02(m,1H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ149.14;MS(ESI),812.53[M-H]<sup>-</sup>。

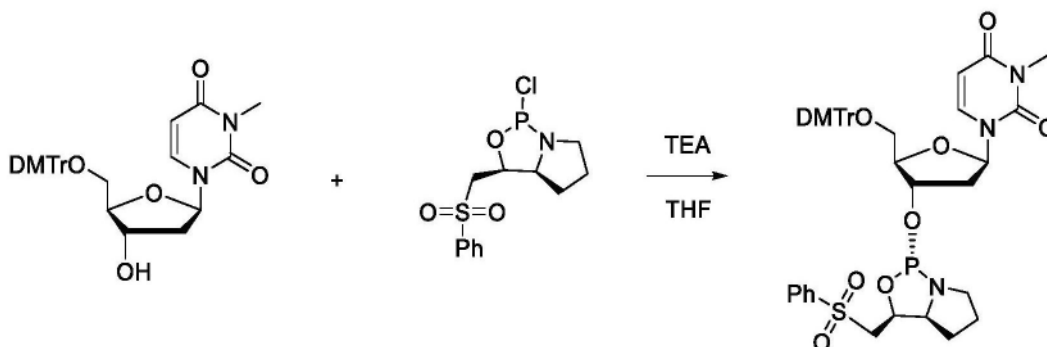
[1258] N-((3aR,5R,6R,6aS)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-6-(((1S,3S,3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)-3a,5,6,6a-四氢呋喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺的合成



[1259] 向干N-[(3aR,5R,6aR)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-6-羟基-3a,5,6,6a-四氢呋喃并[2,3-d]噁唑-2-基)乙酰胺(4.87g,9.38mmol)在THF(36mL)中的溶液中添加三乙胺(3.27mL,23.45mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.89M的THF溶

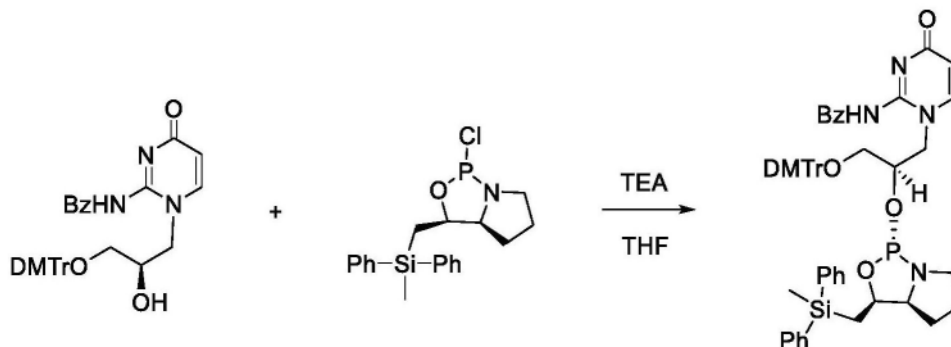
液, 18.97mL, 16.89mmol)。移去水浴。将所得的浑浊溶液在室温下搅拌1.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(135 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.8g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的25%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物(5.75g, 76.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 9.55(s, 1H), 7.93(dt, J=7.3, 1.3Hz, 2H), 7.61(t, J=7.6Hz, 1H), 7.52(t, J=7.8Hz, 2H), 7.41-7.37(m, 2H), 7.30-7.26(m, 5H), 7.25(s, 1H), 7.22-7.16(m, 1H), 6.84-6.78(m, 4H), 5.92(s, 1H), 5.09(s, 1H), 4.91(d, J=5.6Hz, 1H), 4.82-4.77(m, 1H), 4.20(s, 1H), 3.78(s, 6H), 3.69(dd, J=10.0, 5.7Hz, 1H), 3.53(dd, J=15.5, 5.8Hz, 1H), 3.47(dd, J=14.5, 7.3Hz, 1H), 3.37(dd, J=14.6, 5.0Hz, 1H), 3.18(dd, J=10.0, 6.2Hz, 1H), 3.13(s, 1H), 2.93(dd, J=10.0, 6.8Hz, 1H), 2.13(s, 3H), 1.89(td, J=8.2, 3.9Hz, 1H), 1.80(d, J=10.2Hz, 1H), 1.65(m, 1H), 1.14(p, J=9.9Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR(243MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 152.57; MS(ESI), 802.49[M+H]<sup>+</sup>。

[1260] 1-((2R, 4S, 5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-(苯磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-3-甲基嘧啶-2,4(1H, 3H)-二酮的合成



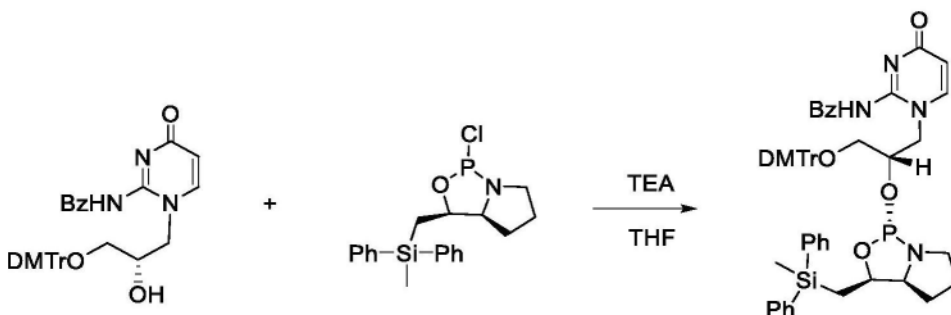
[1261] 向干1-[(2R, 4R, 5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-3-甲基-嘧啶-2,4-二酮(6.2g, 11.38mmol)在THF(45mL)中的溶液中添加三乙胺(3.97mL, 28.46mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S, 3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.89M的THF溶液, 19.19mL, 17.08mmol)。移去水浴。将所得的浑浊溶液在室温下搅拌3小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(102 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.366g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-70% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物(7.06g, 74.9%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 7.91-7.86(m, 2H), 7.75(d, J=8.1Hz, 1H), 7.63-7.54(m, 1H), 7.53-7.47(m, 2H), 7.40-7.35(m, 2H), 7.32-7.28(m, 2H), 7.28-7.26(m, 4H), 7.25-7.22(m, 1H), 6.87-6.81(m, 4H), 6.33(t, J=6.5Hz, 1H), 5.42(d, J=8.1Hz, 1H), 4.98(dt, J=6.9, 5.5Hz, 1H), 4.80(ddt, J=9.6, 6.7, 3.4Hz, 1H), 4.02(q, J=3.1Hz, 1H), 3.788(s, 3H), 3.786(s, 3H), 3.66-3.58(m, 1H), 3.54-3.47(m, 1H), 3.47-3.41(m, 2H), 3.39-3.34(m, 2H), 3.32(s, 3H), 3.14(tdd, J=10.3, 8.8, 4.0Hz, 1H), 2.57-2.51(m, 1H), 2.23(dt, J=13.6, 6.6Hz, 1H), 1.88(td, J=8.4, 4.1Hz, 1H), 1.79(q, J=11.4, 10.3Hz, 1H), 1.68-1.62(m, 1H), 1.15-1.06(m, 1H); <sup>31</sup>P NMR(243MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 153.80; MS(ESI), 850.35[M+Na]<sup>+</sup>。

[1262] N-(1-((R)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺的合成



[1263] 向干N-[1-[(2R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-4-氧代-嘧啶-2-基]苯甲酰胺(5.0g,8.45mmol)在THF(37.5mL)中的溶液中添加三乙胺(5.3mL,38.03mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液,15.89mL,15.21mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(122 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.62g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的10%-70% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(5.3g,67.4%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 13.31(s,1H),8.19(dd,J=8.2,1.4Hz,2H),7.45(tdt,J=7.7,2.7,1.4Hz,7H),7.37-7.26(m,12H),7.24(ddt,J=10.2,8.5,1.6Hz,3H),7.08(d,J=8.0Hz,1H),6.80-6.74(m,4H),5.57(d,J=8.0Hz,1H),4.71(dq,J=11.2,5.8,4.4Hz,2H),4.40(dd,J=13.8,4.0Hz,1H),3.75(s,6H),3.58(dd,J=13.7,8.1Hz,1H),3.50-3.40(m,1H),3.33-3.27(m,1H),3.22-3.15(m,2H),2.96(tdd,J=10.4,8.5,5.0Hz,1H),1.74(qt,J=8.4,4.1Hz,1H),1.67-1.59(m,1H),1.54(dd,J=14.5,8.1Hz,1H),1.36(dd,J=14.6,7.0Hz,1H),1.32-1.26(m,1H),1.24-1.17(m,1H),0.52(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 153.11;MS(ESI),929.76[M-H]<sup>-</sup>。

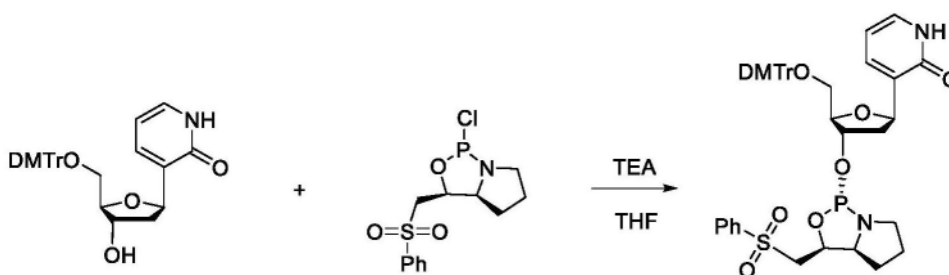
[1264] N-(1-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-4-氧代-1,4-二氢嘧啶-2-基)苯甲酰胺的合成



[1265] 向干N-[1-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-4-氧代-嘧啶-2-基]苯甲酰胺(7.0g,11.83mmol)在THF(52.5mL)中的溶液中添加三乙胺(5.94mL,

42.59mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液,22.24mL,21.3mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(171μL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(2.27g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的10%-80% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(8.37g,76.0%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ13.34(s,1H),8.25(dd,J=8.3,1.4Hz,2H),7.47(ddt,J=6.7,2.6,1.4Hz,4H),7.46-7.42(m,3H),7.36-7.32(m,6H),7.31-7.24(m,6H),7.22(ddt,J=9.3,5.3,1.8Hz,3H),7.05(d,J=8.0Hz,1H),6.83-6.76(m,4H),5.56(d,J=7.9Hz,1H),4.86(dd,J=13.6,3.3Hz,1H),4.70-4.60(m,2H),3.75(s,6H),3.42-3.30(m,3H),3.20-3.12(m,1H),3.09(dd,J=9.6,7.4Hz,1H),2.95-2.86(m,1H),1.72(ddt,J=12.7,8.3,4.1Hz,1H),1.65-1.52(m,2H),1.36(dd,J=14.6,6.6Hz,1H),1.31-1.24(m,1H),1.14(dq,J=11.9,9.5Hz,1H),0.53(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ156.70;MS(ESI),931.17[M+H]<sup>+</sup>。

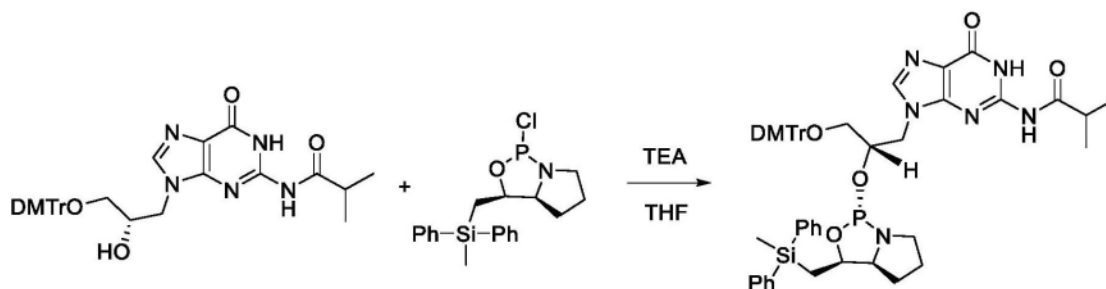
[1266] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢咪喃-2-基)吡啶-2(1H)-酮的合成



[1267] 向干3-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢咪喃-2-基]-1H-吡啶-2-酮(4.17g,8.12mmol)在THF(31mL)中的溶液中添加三乙胺(2.49mL,17.86mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.89M的THF溶液,13.68mL,12.18mmol)。移去水浴。将所得浑浊反应溶液在室温搅拌2小时45分钟。用水(73μL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(974mg)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(3.69g,57.0%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ12.70(s,1H),7.92-7.85(m,2H),7.69(ddd,J=6.9,2.1,1.1Hz,1H),7.59-7.54(m,1H),7.54-7.44(m,4H),7.38-7.31(m,4H),7.28(t,J=7.7Hz,2H),7.25(dd,J=6.5,2.1Hz,1H),7.22-7.18(m,1H),6.85-6.80(m,4H),6.22(t,J=6.7Hz,1H),5.23(dd,J=9.9,5.7Hz,1H),4.94(q,J=6.0Hz,1H),4.66(ddd,J=9.1,6.0,2.6Hz,1H),4.04(q,J=4.1Hz,1H),3.78(s,6H),3.59(dq,J=11.7,5.9Hz,1H),3.52-3.43(m,2H),3.36(dd,J=14.6,5.5Hz,1H),3.29(dd,J=10.0,4.3Hz,1H),3.20(dd,J=10.0,4.2Hz,1H),3.14-3.05(m,1H),2.62(ddd,J=13.3,5.8,2.0Hz,1H),1.86(ddd,J=13.0,9.8,6.2Hz,2H),1.78-1.72(m,1H),1.66-1.61(m,1H),1.15-1.05(m,1H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) δ151.29;MS(ESI),795.57[M-

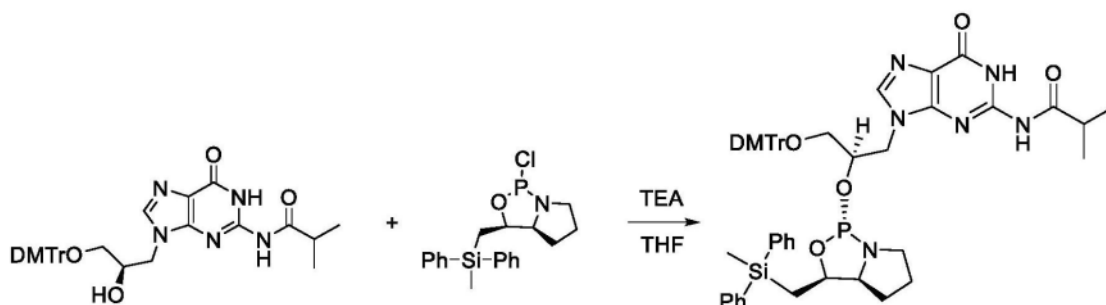
H]<sup>-</sup>。

[1268] N-(9-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺



[1269] 向干N-[9-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-6-氧代-1H-嘌呤-2-基]-2-甲基-丙酰胺(6.0g,10.04mmol)在THF(45mL)中的溶液中添加三乙胺(5.04mL,36.14mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液,18.87mL,18.07mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(144 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.92g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的25%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(8.18g,87.0%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 11.84(s,1H),7.86(s,1H),7.53(s,1H),7.49-7.42(m,6H),7.38-7.29(m,8H),7.28(q,J=3.0,2.2Hz,3H),7.25(d,J=1.1Hz,1H),7.23-7.19(m,1H),6.83-6.78(m,4H),4.73(dt,J=8.2,6.2Hz,1H),4.25-4.18(m,2H),3.98(dd,J=14.2,8.0Hz,1H),3.76(s,6H),3.31-3.26(m,1H),3.23(dd,J=10.0,5.3Hz,1H),3.22-3.16(m,1H),2.94(dd,J=9.9,7.1Hz,1H),2.92-2.87(m,1H),2.52(hept,J=6.9Hz,1H),1.71(dtd,J=12.8,9.0,8.4,4.0Hz,1H),1.61-1.52(m,2H),1.37(dd,J=14.6,6.6Hz,1H),1.30-1.22(m,7H),1.10(dq,J=11.9,9.7Hz,1H),0.53(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 156.67;MS(ESI),935.73[M-H]<sup>-</sup>。

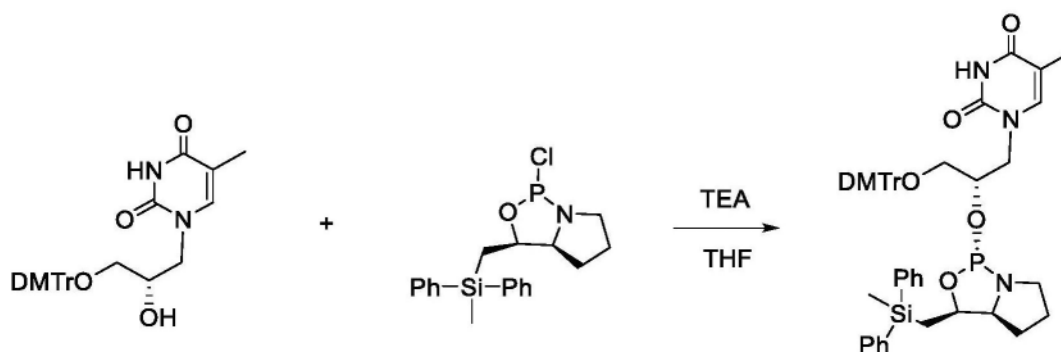
[1270] N-(9-((R)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-6-氧代-6,9-二氢-1H-嘌呤-2-基)异丁酰胺的合成



[1271] 向干N-[9-[(2R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-6-氧代-1H-嘌呤-2-基]-2-甲基-丙酰胺(5.5g,9.2mmol)在THF(41mL)中的溶液中添加三乙胺(4.62mL,33.13mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯

并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液,17.3mL,16.56mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(132 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(2.27g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的40%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(6.265g,72.6%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 11.81(s,1H),7.78(s,1H),7.53(ddd,J=7.7,3.8,2.0Hz,4H),7.42-7.38(m,3H),7.36-7.31(m,3H),7.31-7.27(m,3H),7.27-7.24(m,6H),7.21-7.17(m,1H),6.81-6.74(m,4H),4.74(dt,J=8.5,6.2Hz,1H),4.34-4.26(m,1H),4.00(dd,J=14.2,6.3Hz,1H),3.87(dd,J=14.1,4.4Hz,1H),3.769(s,3H),3.768(s,3H),3.43(ddt,J=14.7,10.7,7.6Hz,1H),3.31(ddt,J=9.6,7.3,5.6Hz,1H),3.08(dd,J=9.9,5.3Hz,1H),3.00(tdd,J=10.9,8.7,4.5Hz,1H),2.90(dd,J=9.9,5.8Hz,1H),2.47(hept,J=6.9Hz,1H),1.78(ddt,J=16.2,8.0,3.2Hz,1H),1.67-1.56(m,2H),1.40(dd,J=14.6,6.5Hz,1H),1.38-1.30(m,1H),1.23(d,J=6.9Hz,3H),1.21(d,J=6.9Hz,3H),1.21-1.16(m,1H),0.65(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 155.34;MS(ESI),937.91[M+H]<sup>+</sup>。

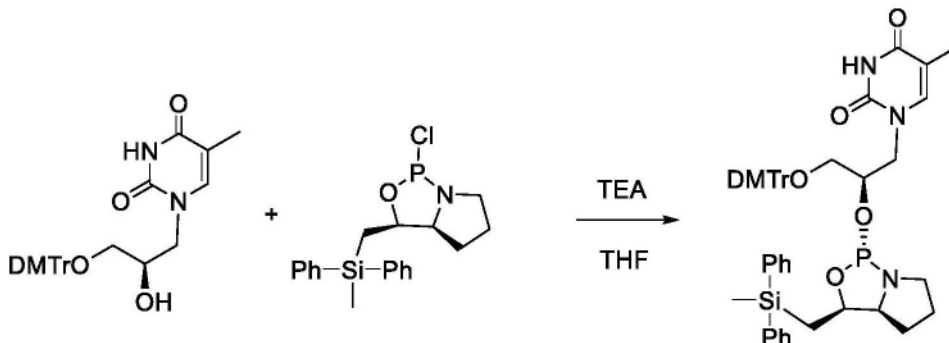
[1272] 1-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-5-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮的合成



[1273] 向干1-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-5-甲基-嘧啶-2,4-二酮(6.0g,11.94mmol)在THF(45mL)中的溶液中添加三乙胺(4.99mL,35.82mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S,3aS)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液,22.45mL,21.49mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(172 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(2.29g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用己烷中的10%-80%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(8.26g,82.2%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 8.17(s,1H),7.48(dt,J=6.7,1.4Hz,4H),7.47-7.44(m,2H),7.39-7.30(m,7H),7.30-7.26(m,5H),7.23-7.17(m,1H),6.87(d,J=1.4Hz,1H),6.85-6.79(m,4H),4.77(dt,J=8.5,5.9Hz,1H),4.38-4.29(m,1H),4.16(dd,J=14.1,3.6Hz,1H),3.76(s,6H),3.41(tdd,J=14.5,9.4,7.2Hz,1H),3.31(dd,J=14.0,8.9Hz,1H),3.26-3.18(m,1H),3.15(dd,J=9.9,4.7Hz,1H),3.08(dd,J=9.9,5.8Hz,1H),3.00-2.92(m,1H),1.81-1.73(m,1H),1.76(d,J=1.2Hz,3H),1.62(qt,J=11.0,5.1Hz,1H),1.56(dd,J=

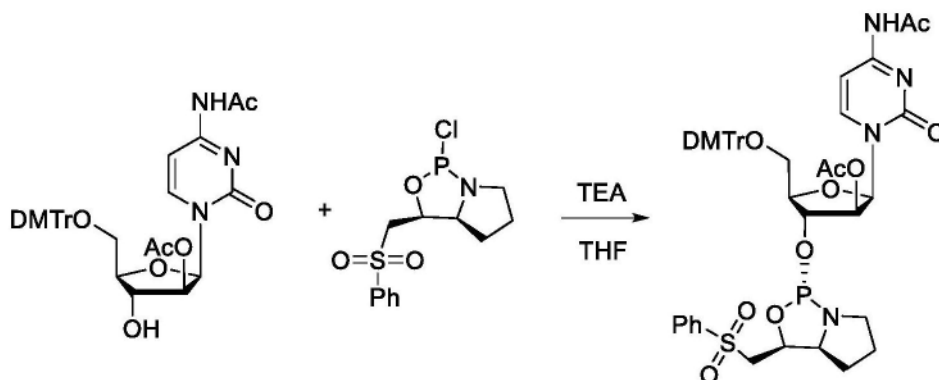
14.6, 8.6Hz, 1H), 1.37 (dd,  $J=14.6, 6.3$ Hz, 1H), 1.32 (qd,  $J=7.4, 3.0$ Hz, 1H), 1.19 (dq,  $J=12.1, 9.5$ Hz, 1H), 0.56 (s, 3H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 155.31; MS (ESI), 840.68 [M-H] $^-$ 。

[1274] 1-((R)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S, 3S, 3aS)-3-((甲基二苯基甲硅烷基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-5-甲基嘧啶-2,4(1H, 3H)-二酮的合成



[1275] 向干1-[(2R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-5-甲基-嘧啶-2,4-二酮(5.54g, 11.02mmol)在THF(41.6mL)中的溶液中添加三乙胺(4.61mL, 33.07mmol)。将烧瓶置于水浴中。滴加[(3S, 3aS)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-3-基]甲基-甲基-二苯基-硅烷(0.9574M的THF溶液, 20.73mL, 19.84mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(159 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水 $\text{MgSO}_4$ (2.115g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100%EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物(7.63g, 82.2%产率)。 $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 8.17 (s, 1H), 7.48 (dt,  $J=8.0, 1.6$ Hz, 4H), 7.45-7.42 (m, 2H), 7.36-7.24 (m, 12H), 7.23-7.17 (m, 1H), 6.93 (q,  $J=1.2$ Hz, 1H), 6.84-6.77 (m, 4H), 4.74 (dt,  $J=8.5, 6.1$ Hz, 1H), 4.36-4.28 (m, 1H), 3.85 (dd,  $J=14.0, 4.2$ Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.54 (dd,  $J=14.0, 8.0$ Hz, 1H), 3.49-3.40 (m, 1H), 3.40-3.34 (m, 1H), 3.16 (dd,  $J=10.1, 4.6$ Hz, 1H), 3.03 (dd,  $J=10.1, 4.4$ Hz, 1H), 2.99-2.90 (m, 1H), 1.80 (d,  $J=1.2$ Hz, 3H), 1.78-1.72 (m, 1H), 1.68-1.58 (m, 1H), 1.54 (dd,  $J=14.6, 8.5$ Hz, 1H), 1.42-1.31 (m, 2H), 1.26-1.21 (m, 1H), 0.59 (s, 3H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 151.30; MS (ESI), 840.78 [M-H] $^-$ 。

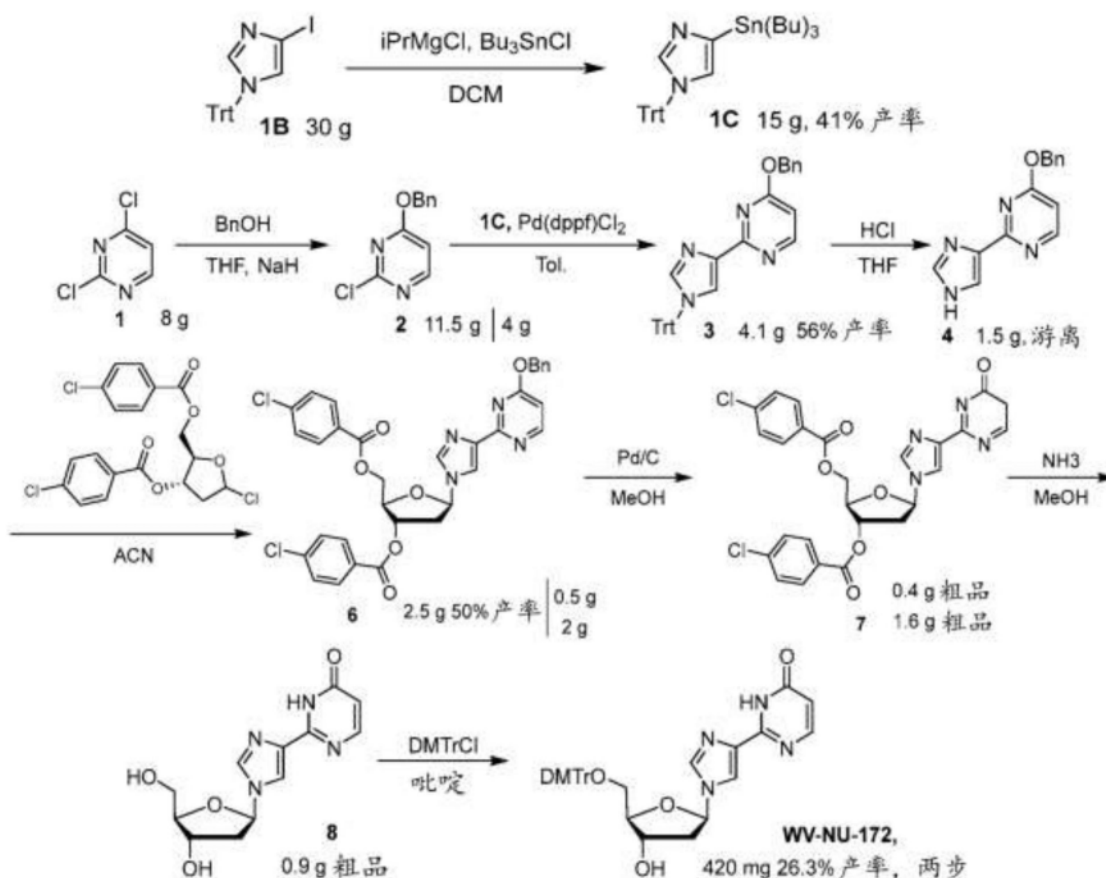
[1276] (2R, 3S, 4R, 5R)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代嘧啶-1(2H)-基)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-3-基乙酸酯的合成



[1277] 向干[(2R,3R,5R)-2-(4-乙酰胺基-2-氧代-嘧啶-1-基)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-3-基]乙酸酯(10.0g,15.88mmol)在THF(75mL)中的溶液中添加三乙胺(4.87mL,34.94mmol)。将rxn烧瓶置于水浴中。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.43M的THF溶液,55.4mL,23.82mmol)。移去水浴。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌1.5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(143 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.906g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(9.35g,64.5%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 9.69(s,1H),7.93-7.89(m,2H),7.87(d,J=7.6Hz,1H),7.64-7.58(m,1H),7.52(t,J=7.8Hz,2H),7.47-7.43(m,2H),7.38-7.33(m,4H),7.31(dd,J=8.4,6.9Hz,2H),7.28(d,J=7.5Hz,1H),7.26-7.22(m,1H),6.88-6.83(m,4H),6.31(d,J=4.1Hz,1H),5.44(dd,J=4.2,2.1Hz,1H),5.04(q,J=6.1Hz,1H),4.58(ddd,J=9.2,3.6,2.2Hz,1H),4.14(dd,J=7.2,3.2Hz,1H),3.79(s,6H),3.65(dq,J=9.9,6.0Hz,1H),3.54-3.43(m,2H),3.42-3.31(m,3H),3.13-3.04(m,1H),2.26(s,3H),1.87(dtd,J=16.8,8.1,4.0Hz,1H),1.81(s,3H),1.80-1.71(m,1H),1.64(ddt,J=12.0,7.4,4.2Hz,1H),1.10(dtd,J=11.7,10.0,8.5Hz,1H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ 153.43;MS(ESI),913.46[M+H]<sup>+</sup>。

[1278] WV-NU-172和酰胺的合成。

[1279] 在一些实施例中,WV-NU-172如下制备:



[1280] 在一些实施例中,WV-NU-172如下以不同规模制备:

[1281] 对于两批:在20℃向化合物1B(60g,137.52mmol,1当量)在DCM(1200mL)中的溶液中,添加氯(异丙基)镁(2M,103.14mL,1.5当量)然后在1小时后缓慢添加三丁基(氯)锡烷(66.70g,204.91mmol,55.12mL,1.49当量),并将混合物在20℃搅拌12小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1)显示化合物1B已消耗。将两批合并用于后处理。将反应混合物通过小心地加入水(500mL)淬灭,并将混合物用DCM(500mL×2)萃取。将有机相合并,用盐水洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥。在减压下将溶剂去除。将残余物通过硅胶色谱纯化(石油醚/乙酸乙酯=10/1,3/1)得到呈白色固体的化合物1C(120g,200.19mmol,72.78%产率)。TLC:(石油醚:乙酸乙酯=3:1),R<sub>f</sub>=0.25。

[1282] 将t-BuOK(79.09g,704.80mmol,1.05当量)添加到BnOH(145.18g,1.34mol,139.59mL,2当量)在THF(500mL)中的溶液中并搅拌直至溶解。在惰性气氛下,将该混合物滴加到化合物1(100g,671.24mmol,1当量)在DMF(500mL)中的冷却至-78℃的溶液中。使混合物缓慢升温至20℃,并搅拌1小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=3:1,R<sub>f</sub>=0.76)表明化合物1已完全消耗,并且形成了一个主要的新斑点。将反应混合物用H<sub>2</sub>O 1000mL稀释并用EtOAc mL(500mL\*2)萃取。将合并的有机层用100mL盐水洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=1/0至0/1)得到呈白色固体的化合物2(80g,362.56mmol,54.01%产率)。TLC:(石油醚:乙酸乙酯=3:1),R<sub>f</sub>=0.76。

[1283] 向化合物1C(85.57g,142.76mmol,1.26当量)在甲苯(900mL)中的溶液中添加4-苄基氧基-2-氯-嘧啶(25g,113.30mmol,1当量)、Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>·CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(9.25g,11.33mmol,0.1当量)。在N<sub>2</sub>下,将混合物在120℃搅拌3小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:1)显示反应物1被

消耗并且发现了新斑点。浓缩混合物以得到粗品。将混合物通过MPLC纯化( $\text{SiO}_2$ , 石油醚/乙酸乙酯=10:1,5:1)得到呈棕色固体的化合物3(45g, 90.99mmol, 80.31%产率)。TLC:(石油醚:乙酸乙酯=1:1),  $R_f=0.24$ 。

[1284] 向化合物3(45g, 90.99mmol, 1当量)在THF(400mL)中的溶液中添加HCl(5M, 90.99mL, 5当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1)显示检测到所需的物质。将反应混合物用水50mL稀释并用EtOAc 90mL(30mL\*3)萃取。向合并的水层中加入2N NaOH水溶液直至pH>11,并用DCM(50mL\*3)萃取,将合并的有机层经 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 干燥,过滤并浓缩得到呈黄色固体的化合物4(23g, 粗品)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1),  $R_f=0.01$ 。

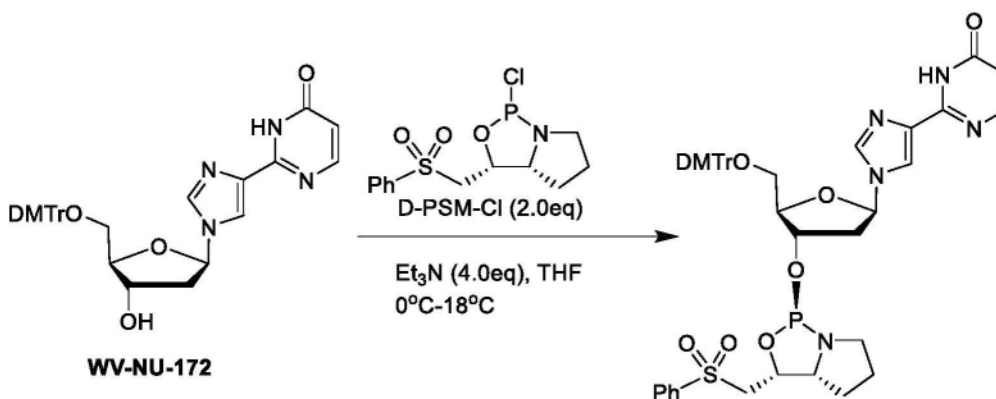
[1285] 向化合物4(23g, 91.17mmol, 1当量)在MeCN(800mL)中的溶液中添加NaH(7.29g, 182.34mmol, 60%纯度, 2当量),将混合物在0℃搅拌30分钟,然后添加化合物1E(47.01g, 109.41mmol, 1.2当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。LCMS显示化合物4已消耗,发现了所需的物质。过滤反应混合物,将滤饼用DCM(100mL)洗涤,浓缩滤液得到粗品。将混合物通过MPLC纯化( $\text{SiO}_2$ , DCM:MeOH=20:1)得到呈黄色油状物的化合物6(30g, 粗品)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>): 645.3。TLC(DCM:MeOH=20:1),  $R_f=0.24$ 。

[1286] 在 $\text{N}_2$ 气氛下向化合物6(30g, 46.48mmol, 1当量)在MeOH(600mL)中的溶液中添加Pd/C(6, 46.48mmol, 10%纯度, 1当量)。将悬浮液脱气并用 $\text{H}_2$ 吹扫3次。将混合物在 $\text{H}_2$ (15Psi)和15℃搅拌12小时。LCMS显示化合物6已消耗,发现了所需的物质。将混合物过滤并浓缩以获得呈黄色油状物的化合物7(25g, 粗品)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>): 555.2。

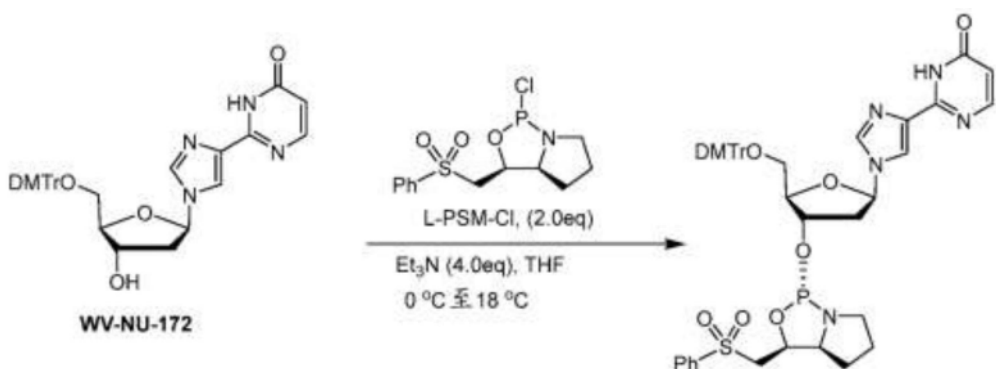
[1287] 对于化合物7(2g, 3.60mmol, 1当量)在氨水(200mL)中的溶液,将混合物在15℃搅拌12小时。LCMS显示化合物7被消耗。将混合物浓缩以得到呈黄色油状物的化合物8(1g, 3.59mmol, 99.79%产率)。对于化合物7(25g, 45.02mmol, 1当量)在氨水(1000mL)中的溶液,将混合物在15℃搅拌12小时。LCMS显示化合物7被消耗。浓缩混合物以得到粗品。将混合物通过MPLC纯化( $\text{SiO}_2$ , 二氯甲烷:甲醇=20:1, 10:1, 5:1)纯化,得到呈黄色油状物的化合物8(11g, 39.53mmol, 87.82%产率)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>): 279.1。TLC:(二氯甲烷:甲醇=10:1),  $R_f=0.15$ 。

[1288] 对于化合物8(5g, 17.97mmol, 1当量)在吡啶(60mL)中的溶液,将DMTC1(6.39g, 18.87mmol, 1.05当量)添加到混合物中,将溶液在20℃搅拌1.5小时。LCMS显示化合物8已消耗,发现了所需的物质。将MeOH(10mL)加入混合物中并浓缩以得到粗品。将混合物通过制备型HPLC纯化(柱:Phenomenex C18-250\*70mm 10 $\mu$ ;流动相:[水( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ )-ACN];B%:40%-65%, 20min)得到呈黄色固体的WV-NU-172(2.5g, 4.31mmol, 23.96%产率)。<sup>1</sup>HNMR(400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta=11.74$  (br s, 1H), 8.23-8.03 (m, 2H), 7.97-7.80 (m, 1H), 7.39-7.33 (m, 2H), 7.31-7.16 (m, 7H), 6.85 (br dd, J=5.4, 8.5Hz, 4H), 6.17 (br t, J=6.0Hz, 2H), 5.39 (br d, J=4.1Hz, 1H), 4.33 (br s, 1H), 3.96 (br d, J=3.8Hz, 1H), 3.71 (d, J=3.8Hz, 6H), 3.17-3.12 (m, 2H), 2.42-2.22 (m, 1H)。LCMS:(M+H<sup>+</sup>): 579.3。

[1289] WV-NU-172的亚酰胺可以根据本披露使用各种技术来制备。例如,在一些实施例中,如下所述制备亚酰胺。



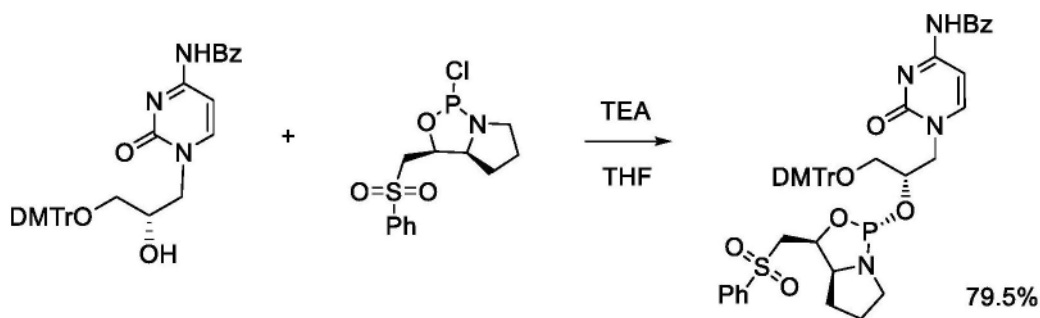
[1290] 将核苷WV-NU-172 (1.9g, 3.27mmol, 1.0当量) 在250mL大小的三颈烧瓶中与无水甲苯 (30mL) 共沸, 并在高真空下干燥48小时。在氩气下向烧瓶中加入无水THF (10mL), 并将溶液冷却至  $-10^\circ\text{C}$ 。向反应混合物中添加三乙胺 (4.0当量), 然后经10分钟添加D-PSM-Cl (0.9M) 溶液 (2.0当量)。将反应混合物升温至室温并通过HPLC监测反应进程。在原料消失后, 将反应通过添加水来淬灭并通过添加分子筛来干燥。通过烧结玻璃管过滤反应混合物。将反应烧瓶和沉淀物用无水THF (25mL) 洗涤。收集获得的滤液并在减压下除去溶剂。将残余物通过柱色谱法纯化 ( $\text{SiO}_2$ , 己烷中的40-100%乙酸乙酯) 得到呈灰白色固体的D-PSM-WV-NU-172亚酰胺 (1.6g, 57%产率)。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta = 154.34$ 。  $^1\text{H}$  NMR (600MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.95-7.88 (m, 3H), 7.86 (d,  $J = 1.4\text{Hz}$ , 1H), 7.71 (d,  $J = 1.4\text{Hz}$ , 1H), 7.62 (tt,  $J = 7.3, 1.3\text{Hz}$ , 1H), 7.54-7.48 (m, 2H), 7.43-7.38 (m, 2H), 7.34-7.27 (m, 4H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.85 (ddq,  $J = 8.4, 3.1, 1.8\text{Hz}$ , 4H), 6.31 (dd,  $J = 6.6, 1.4\text{Hz}$ , 1H), 6.04 (dd,  $J = 7.9, 5.5\text{Hz}$ , 1H), 5.07 (dt,  $J = 7.4, 5.5\text{Hz}$ , 1H), 4.79 (ddd,  $J = 8.2, 5.3, 2.5\text{Hz}$ , 1H), 4.18 (td,  $J = 4.2, 2.2\text{Hz}$ , 1H), 3.82-3.74 (m, 8H), 3.68 (ddd,  $J = 9.7, 5.5, 2.7\text{Hz}$ , 1H), 3.58-3.47 (m, 2H), 3.40 (dd,  $J = 14.4, 5.3\text{Hz}$ , 1H), 3.30 (qd,  $J = 10.4, 4.2\text{Hz}$ , 2H), 3.20 (ddd,  $J = 10.3, 4.0, 1.6\text{Hz}$ , 1H), 2.56 (ddd,  $J = 13.5, 5.6, 2.3\text{Hz}$ , 1H), 2.47 (ddd,  $J = 13.6, 8.0, 5.8\text{Hz}$ , 1H), 1.96-1.81 (m, 4H), 1.72-1.65 (m, 1H), 1.18-1.11 (m, 1H)。  $^{13}\text{C}$  NMR (151MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161.36, 158.64, 154.95, 152.50, 144.40, 139.41, 136.49, 135.47, 135.45, 135.06, 134.06, 130.09, 130.01, 129.35, 128.10, 128.03, 127.99, 127.97, 126.99, 119.43, 113.68, 113.28, 113.26, 86.71, 85.97, 85.95, 74.47, 74.41, 74.03, 73.94, 67.99, 66.33, 66.31, 63.12, 58.01, 57.99, 55.25, 46.79, 46.56, 41.15, 41.12, 27.37, 26.01, 25.99, 25.63。 LCMS:  $\text{C}_{45}\text{H}_{46}\text{N}_5\text{O}_9\text{PS}$  ( $\text{M-H}^+$ ): 865.04。



[1291] 将核苷WV-NU-172 (0.9g) 转化为呈灰白色固体的L-PSM-WV-NU-172亚酰胺 (510mg,

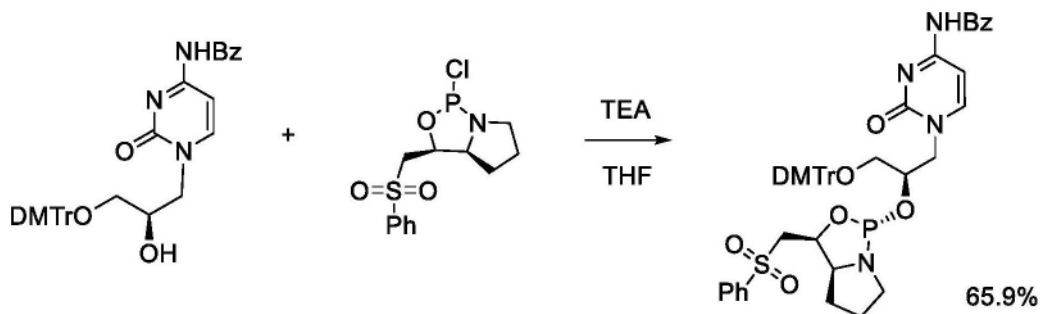
45%产率)。<sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ=153.78。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ7.94-7.87 (m, 3H), 7.86 (d, J=1.5Hz, 1H), 7.70 (d, J=1.4Hz, 1H), 7.62 (tt, J=7.3, 1.4Hz, 1H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.42-7.36 (m, 2H), 7.34-7.27 (m, 4H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.85 (ddq, J=8.4, 3.1, 1.8Hz, 4H), 6.31 (dd, J=6.6, 1.3Hz, 1H), 6.03 (dd, J=7.9, 5.4Hz, 1H), 5.07 (dt, J=7.4, 5.5Hz, 1H), 4.79 (ddd, J=8.2, 5.3, 2.5Hz, 1H), 4.19 (td, J=4.2, 2.2Hz, 1H), 3.82-3.72 (m, 8H), 3.68 (ddd, J=9.7, 5.5, 2.7Hz, 1H), 3.58-3.47 (m, 2H), 3.40 (dd, J=14.4, 5.3Hz, 1H), 3.30 (qd, J=10.4, 4.3Hz, 2H), 3.20 (ddd, J=10.2, 4.0, 1.6Hz, 1H), 2.56 (ddd, J=13.5, 5.6, 2.3Hz, 1H), 2.46 (ddd, J=13.6, 8.0, 5.8Hz, 1H), 1.95-1.80 (m, 4H), 1.72-1.64 (m, 1H), 1.17-1.10 (m, 1H)。<sup>13</sup>C NMR (151MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ161.49, 158.77, 155.08, 152.63, 144.53, 139.54, 136.61, 135.60, 135.57, 135.18, 134.19, 130.22, 129.48, 128.22, 128.12, 128.10, 127.12, 119.56, 113.81, 113.41, 113.39, 86.84, 86.09, 86.08, 74.60, 74.54, 74.16, 74.07, 68.12, 66.46, 66.43, 63.25, 58.14, 58.12, 55.37, 46.92, 46.69, 41.28, 41.25, 27.50, 26.14, 26.12, 25.76。LCMS: C<sub>45</sub>H<sub>46</sub>N<sub>5</sub>O<sub>9</sub>PS (M-H<sup>+</sup>): 865.04。

[1292] N-(1-((S)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-(苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺的合成



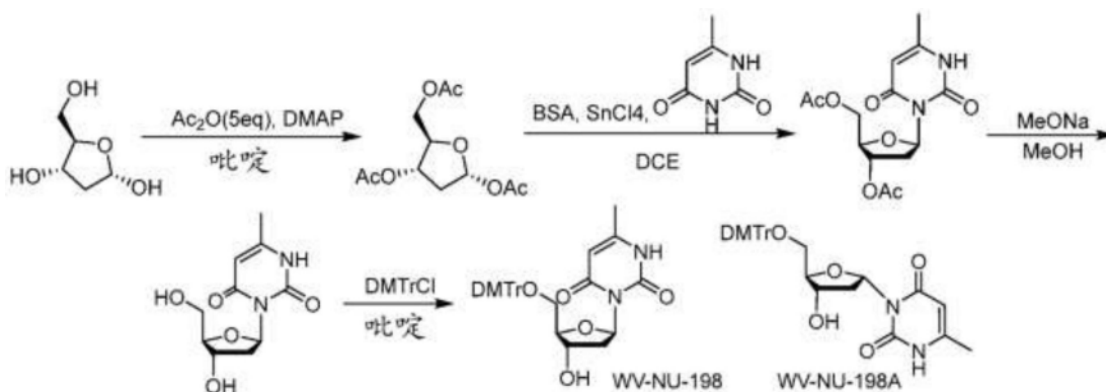
[1293] 向干N-[1-[(2S)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-2-氧代-嘧啶-4-基]苯甲酰胺(4.79g, 8.1mmol)在THF(48mL)中的溶液中添加三乙胺(6.1mL, 43.73mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.9M的THF溶液, 16.2mL, 14.58mmol)。将灰白色浆液在室温下搅拌7小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(146μL)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.94g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有5%的三乙胺)梯度纯化,得到呈浅棕色泡沫状的标题化合物(5.63g, 79.5%产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ8.62 (bs, 1H), 7.93-7.86 (m, 2H), 7.85-7.81 (m, 2H), 7.60 (t, J=7.5Hz, 1H), 7.56 (tt, J=7.6, 1.2Hz, 1H), 7.51 (tt, J=7.9, 1.6Hz, 2H), 7.47 (dt, J=7.1, 1.5Hz, 2H), 7.42 (tt, J=8.1, 1.6Hz, 3H), 7.35 (dd, J=8.9, 2.1Hz, 4H), 7.30 (t, J=7.7Hz, 3H), 7.21 (tt, J=7.4, 1.3Hz, 1H), 6.85 (dd, J=8.9, 1.5Hz, 4H), 5.09 (q, J=6.3Hz, 1H), 4.59-4.52 (m, 1H), 4.41 (dd, J=13.4, 3.3Hz, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.71-3.62 (m, 1H), 3.57 (dd, J=13.4, 9.1Hz, 1H), 3.43 (dd, J=14.3, 6.8Hz, 1H), 3.39-3.33 (m, 1H), 3.30 (dd, J=14.6, 6.1Hz, 1H), 3.18 (qd, J=9.9, 4.7Hz, 2H), 3.01 (qd, J=10.0, 4.4Hz, 1H), 1.81-1.67 (m, 2H), 1.67-1.59 (m, 1H), 1.12-1.04 (m, 1H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ154.61; MS (ESI), 873.94 [M-H]<sup>-</sup>。

[1294] N-(1-((R)-3-(双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)-2-(((1S,3S,3aS)-3-(苯磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)丙基)-2-氧代-1,2-二氢嘧啶-4-基)苯甲酰胺的合成



[1295] 向干N-[1-[(2R)-3-[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]-2-羟基-丙基]-2-氧代-嘧啶-4-基]苯甲酰胺(4.81g, 8.13mmol)在THF(48mL)中的溶液中添加三乙胺(6.12mL, 43.91mmol)。滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.9M的THF溶液, 16.3mL, 14.64mmol)。将灰白色浆液在室温下搅拌5小时。TLC和LCMS显示反应完成。用水(146 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.94g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈浅棕色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有5%的三乙胺)梯度纯化。主峰的前半部分仍然不纯,通过正相柱色谱再次纯化,应用己烷中的30-100% DCM(每个流动相含有2.5%三乙胺)作为梯度。将来自两个柱的纯的所需产物级分合并并浓缩以提供呈褐灰白色泡沫状的标题化合物(4.69g, 65.9%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 8.60(bs, 1H), 7.96(dt, J=7.2, 1.3Hz, 2H), 7.91-7.84(m, 2H), 7.66-7.57(m, 3H), 7.56-7.46(m, 7H), 7.39-7.33(m, 4H), 7.29(t, J=7.7Hz, 2H), 7.21(tt, J=7.4, 1.3Hz, 1H), 6.87-6.81(m, 4H), 5.08(q, J=6.2Hz, 1H), 4.59(tdd, J=12.1, 8.9, 4.1Hz, 1H), 4.32(dd, J=13.4, 3.2Hz, 1H), 3.791(s, 3H), 3.789(s, 3H), 3.78-3.73(m, 1H), 3.58(dd, J=13.4, 8.9Hz, 1H), 3.48(dd, J=14.3, 6.4Hz, 1H), 3.46-3.39(m, 1H), 3.30(dd, J=14.2, 6.4Hz, 1H), 3.23(dd, J=10.0, 3.7Hz, 1H), 3.17(dd, J=10.0, 5.4Hz, 1H), 3.07-2.98(m, 1H), 1.85-1.70(m, 2H), 1.69-1.63(m, 1H), 1.08(dq, J=11.7, 9.5Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR(243MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ 154.17; MS(ESI), 873.94[M-H]<sup>-</sup>。

[1296] 3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-198)和3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-198A)的合成



[1297] 步骤1. 在15℃向(2S,4S,5R)-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2,4-二醇(50g, 372.77mmol, 1当量)在吡啶(300mL)中的溶液中添加DMAP(4.55g, 37.28mmol, 0.1当量)以及滴加Ac<sub>2</sub>O(190.28g, 1.86mol, 174.57mL, 5当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。旋转蒸发器除去吡啶, 并且将残余物与甲苯(2\*50mL)共蒸发。将残余物用DCM(300mL)稀释, 用1M HCl(100mL)洗涤, 然后用饱和NaHCO<sub>3</sub>(20mL)洗涤, 用Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤浓缩得呈白色固体的粗品((2R,4S,5R)-5-(乙酰氧基甲基)四氢咪喃-2,4-二基二乙酸酯(95g, 365.05mmol, 97.93%产率))。

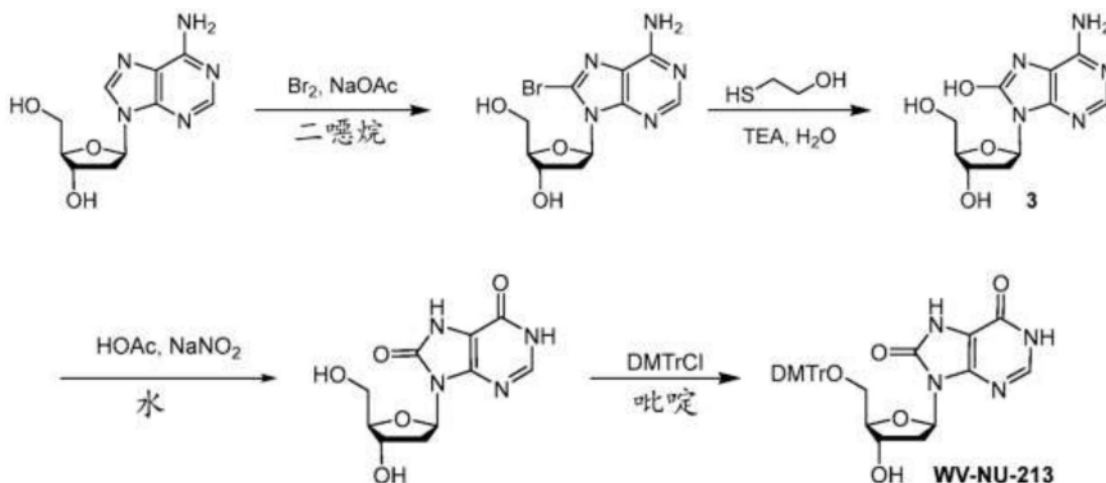
[1298] 步骤2. 将保持在氩气下的(2R,4S,5R)-5-(乙酰氧基甲基)四氢咪喃-2,4-二基二乙酸酯(14.54g, 115.28mmol, 1.5当量)溶解在DCE(300mL)中, 添加BSA(46.90g, 230.56mmol, 56.99mL, 3当量), 将混合物在80℃搅拌0.5小时直至混合物澄清, 并在剧烈搅拌下, 在0℃将在DCE(150mL)中的6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(20g, 76.85mmol, 1当量), 然后是SnCl<sub>4</sub>(22.02g, 84.54mmol, 9.88mL, 1.1当量)滴加至淡黄色溶液。将混合物在15℃搅拌12小时。将反应混合物通过添加NaHCO<sub>3</sub> 20mL来淬灭并用DCM 45mL(15mL\*3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并减压浓缩得到呈白色固体的((2R,3S,5R)-3-乙酰氧基-5-(4-甲基-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢咪喃-2-基)甲基乙酸酯(20g, 61.29mmol, 79.75%产率)。LCMS(M-H)<sup>-</sup>: 325.1。

[1299] 步骤3. 向((2R,3S,5R)-3-乙酰氧基-5-(4-甲基-2,6-二氧代-3,6-二氢嘧啶-1(2H)-基)四氢咪喃-2-基)甲基乙酸酯(16g, 49.03mmol, 1当量)在MeOH(160mL)中的溶液添加NaOMe(6.62g, 122.59mmol, 2.5当量)。将混合物在15℃搅拌3小时。将反应混合物通过添加NH<sub>4</sub>Cl(400cmg)淬灭, 然后减压浓缩得到残余物。将残余物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0至0:1)得到呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(8g, 33.03mmol, 88.89%产率)。LCMS: (M-H)<sup>+</sup>: 241.0。

[1300] 步骤4. 向3-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢咪喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(4g, 16.51mmol, 1当量)在吡啶(90mL)中的溶液中加入DMTrCl(6.71g, 19.82mmol, 1.2当量)。将混合物在15℃搅拌2小时。将反应混合物用DCM(100mL\*3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 以给出残余物。将粗产物通过柱色谱纯化(SiO<sub>2</sub>, 石油醚: 乙酸乙酯=1:0至0:1)并通过反相HPLC再纯化(柱: Phenomenex Titank C18 Bulk250\*70mm 10u; 流动相: [水(10mM NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>)-ACN]; B%: 46%-66%, 20Min@100mL/min)得到呈白色固体的3-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢咪喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-198)(0.83g, 9.23%产率)和呈

白色固体的3-((2S,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H,3H)-二酮(WV-NU-198A) (1.65g, 18.35%产率)。WV-NU-198:  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 11.15-10.94 (m, 1H), 7.53-7.34 (m, 2H), 7.31-7.18 (m, 6H), 6.96-6.79 (m, 4H), 6.63-6.54 (m, 1H), 5.50-5.40 (m, 1H), 5.15-5.01 (m, 1H), 4.35-4.21 (m, 1H), 3.90-3.80 (m, 1H), 3.74 (d, J=1.8Hz, 6H), 3.40-3.29 (m, 1H), 3.27-3.12 (m, 1H), 3.10-2.96 (m, 1H), 2.14-1.89 (m, 4H); LCMS: (M-H<sup>+</sup>): 543.2。WV-NU-198A:  $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 11.10-10.89 (m, 1H), 7.59-7.43 (m, 2H), 7.42-7.29 (m, 6H), 7.26-7.17 (m, 1H), 6.95-6.81 (m, 4H), 6.14-6.02 (m, 1H), 5.81-5.71 (m, 1H), 5.39-5.31 (m, 1H), 4.92-4.76 (m, 1H), 3.79-3.68 (m, 6H), 3.65 (br s, 1H), 3.56-3.49 (m, 1H), 3.45-3.40 (m, 1H), 3.37-3.29 (m, 1H), 2.76 (br t, J=11.9Hz, 1H), 2.67-2.59 (m, 1H), 2.07 (s, 1H), 1.99-1.92 (m, 3H), 1.55-1.40 (m, 1H); LCMS: (M-H<sup>+</sup>): 543.2。

[1301] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-羟基四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-1H-嘌呤-6,8-二酮(WV-NU-213)的合成



[1302] 步骤1.对于两批:向(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(50g, 199.01mmol, 1当量)在二噁烷(400mL)和AcONa(0.5M, 1.87L, 4.71当量)缓冲液(pH 4.3)中的溶液中在搅拌下滴加Br<sub>2</sub>(38.16g, 238.81mmol, 12.31mL, 1.2当量)的溶液。将混合物在15℃搅拌12小时。将两批合并用于后处理。向混合物中添加浓Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>直至红色消失。用0.5M NaOH将混合物中和至pH 7.0。蒸发残余物,此时沉淀出白色固体。将固体滤出,用冷的1,4-二噁烷(50mL)洗涤,并在高真空下干燥,得到呈黄色固体的(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(110g, 333.19mmol, 83.71%产率)。 $^1\text{H NMR}$  (400MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8.22-7.98 (m, 1H), 7.53 (br s, 2H), 6.29 (dd, J=6.5, 7.9Hz, 1H), 5.35 (br d, J=12.3Hz, 2H), 4.58-4.38 (m, 1H), 3.95-3.82 (m, 1H), 3.65 (dd, J=4.5, 11.9Hz, 1H), 3.48 (br dd, J=4.5, 11.7Hz, 1H), 3.36 (br s, 1H), 3.24 (ddd, J=6.1, 7.8, 13.4Hz, 1H), 2.19 (ddd, J=2.6, 6.4, 13.1Hz, 1H); LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 330.14。

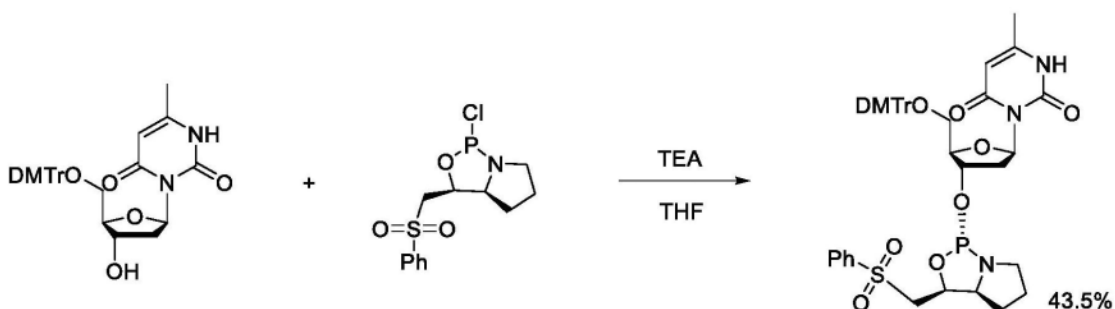
[1303] 步骤2.对于两批:将(2R,3S,5R)-5-(6-氨基-8-溴-9H-嘌呤-9-基)-2-(羟基甲基)四氢呋喃-3-醇(55g, 166.60mmol, 1当量)2-巯基乙醇(39.22g, 501.90mmol, 35.01mL, 3.01当量)和TEA(168.58g, 1.67mol, 231.88mL, 10当量)在水(1500mL)中的溶液在110℃搅拌4小时。减压除去溶剂得到残余物,将其通过MPLC纯化(二氯甲烷:甲醇=5:1、10:1)得到呈白色固体的6-氨基-9-((2R,4S,5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-8-醇

(65g, 243.23mmol, 73.00%产率)。LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 267.24。

[1304] 步骤3. 将NaNO<sub>2</sub> (15.49g, 224.52mmol, 2当量) 在水 (60mL) 中的溶液加入6-氨基-9-((2R, 4S, 5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-9H-嘌呤-8-醇 (30g, 112.26mmol, 1当量) 在HOAc (1500mL, 95%纯度) 中的搅拌溶液。将反应混合物在15℃搅拌12小时。在减压下将溶剂去除。将粗产物与DCM (500mL) 在15℃研磨5分钟, 得到呈白色固体的9-((2R, 4S, 5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7, 9-二氢-1H-嘌呤-6, 8-二酮 (22g, 82.02mmol, 73.06%产率)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 7.98 (s, 1H), 6.12 (t, J = 7.3Hz, 1H), 4.36 (td, J = 2.8, 5.8Hz, 1H), 3.79-3.74 (m, 1H), 3.58 (dd, J = 5.0, 11.6Hz, 1H), 3.44 (dd, J = 5.3, 11.6Hz, 1H), 2.96 (ddd, J = 6.2, 7.6, 13.3Hz, 1H), 2.01 (ddd, J = 2.8, 6.7, 13.0Hz, 1H), 1.90 (s, 1H); LCMS: (M+H<sup>+</sup>): 268.23。

[1305] 步骤4. 向9-((2R, 4S, 5R)-4-羟基-5-(羟基甲基)四氢呋喃-2-基)-7, 9-二氢-1H-嘌呤-6, 8-二酮 (22g, 82.02mmol, 1当量) 在吡啶 (400mL) 中的溶液中添加DMTC1 (22.23g, 65.62mmol, 0.8当量)。将混合物在15℃搅拌12小时。将反应混合物通过在15℃添加400mL水来淬灭, 然后用水200mL稀释并用乙酸乙酯900mL (300mL\*3) 萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤, 并在减压下浓缩, 以给出残余物。将残余物通过柱色谱纯化 (SiO<sub>2</sub>, DCM:MeOH = 1:0至0:1)。在15℃将粗产物与DCM (300mL) 一起研磨5分钟, 得到呈白色固体的WV-NU-213 (13.67g, 30%产率)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ = 11.37 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.35 (d, J = 7.4Hz, 2H), 7.26-7.14 (m, 7H), 6.80 (dd, J = 8.9, 14.5Hz, 4H), 6.13 (t, J = 6.8Hz, 1H), 5.21 (d, J = 4.8Hz, 1H), 4.48-4.39 (m, 1H), 3.89 (td, J = 4.4, 6.4Hz, 1H), 3.72 (d, J = 3.6Hz, 6H), 3.33 (s, 1H), 3.20-3.03 (m, 2H), 2.96 (td, J = 6.5, 12.9Hz, 1H), 2.15-2.05 (m, 1H); LCMS: (M+H<sup>-</sup>): 570.59, LCMS纯度: 97.33%。

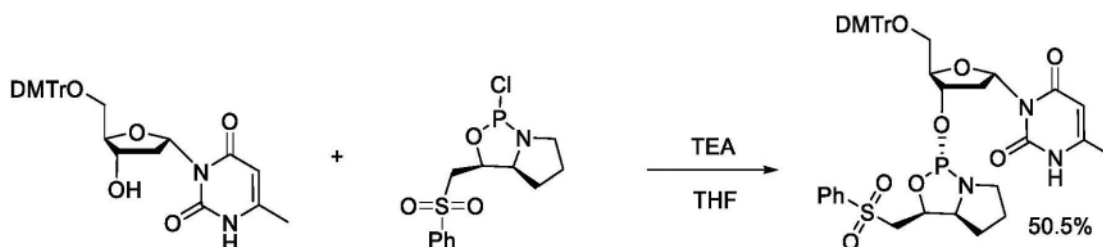
[1306] 3-((2R, 4S, 5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2, 4(1H, 3H)-二酮的合成



[1307] 向干3-[(2R, 4R, 5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-甲基-1H-嘧啶-2, 4-二酮 (0.83g, 1.52mmol) 在THF (6.5mL) 中的溶液中添加三乙胺 (0.47mL, 3.35mmol)。快速滴加(3S, 3aS)-3-((苯磺酰基)甲基)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1, 2-c][1, 3, 2]氧杂氮杂磷杂环戊烷 (0.43M的THF溶液, 5.32mL, 2.29mmol)。将所得浑浊反应溶液在室温下搅拌5小时。TLC显示反应完成。用水 (14μL) 淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub> (183mg)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc (各流动相含有1%的三乙胺) 梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物 (0.549g, 43.5%产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, 氯仿-d) δ 9.50

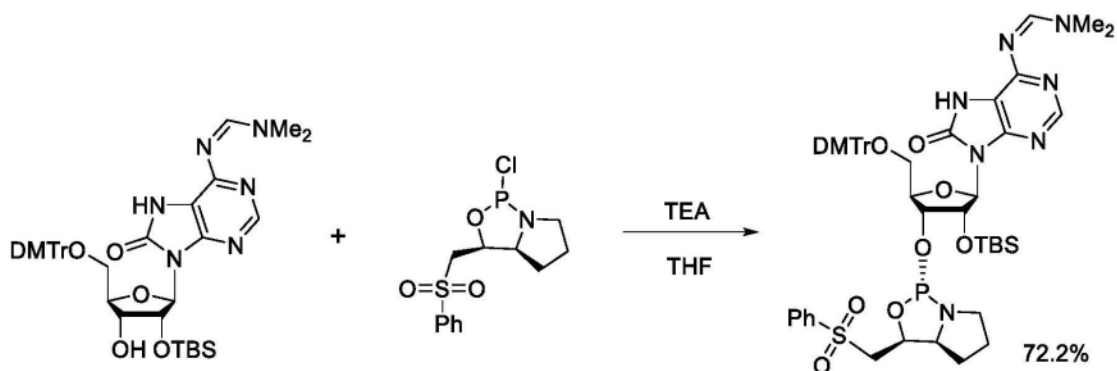
(s, 1H), 7.89-7.84 (m, 2H), 7.60 (t, J=7.4Hz, 1H), 7.50 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.46-7.42 (m, 2H), 7.32 (ddd, J=9.2, 5.6, 2.8Hz, 4H), 7.22 (t, J=7.6Hz, 2H), 7.14 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.79-6.73 (m, 4H), 6.71 (dd, J=8.9, 4.3Hz, 1H), 5.46 (s, 1H), 4.93 (q, J=6.1Hz, 1H), 4.84 (dq, J=8.8, 6.2Hz, 1H), 3.92 (td, J=6.4, 3.9Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.63 (dq, J=11.8, 5.9Hz, 1H), 3.43-3.27 (m, 5H), 2.94 (qd, J=10.0, 4.1Hz, 1H), 2.80 (ddd, J=13.0, 8.2, 4.3Hz, 1H), 2.26 (ddd, J=13.6, 9.0, 6.1Hz, 1H), 1.99 (s, 3H), 1.83 (dtt, J=11.9, 7.8, 3.2Hz, 1H), 1.77-1.68 (m, 1H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.11-1.04 (m, 1H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 149.82; MS (ESI), 826.14 [M-H] $^{-}$ 。

[1308] 3-((2S, 4S, 5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-6-甲基嘧啶-2,4(1H, 3H)-二酮的合成



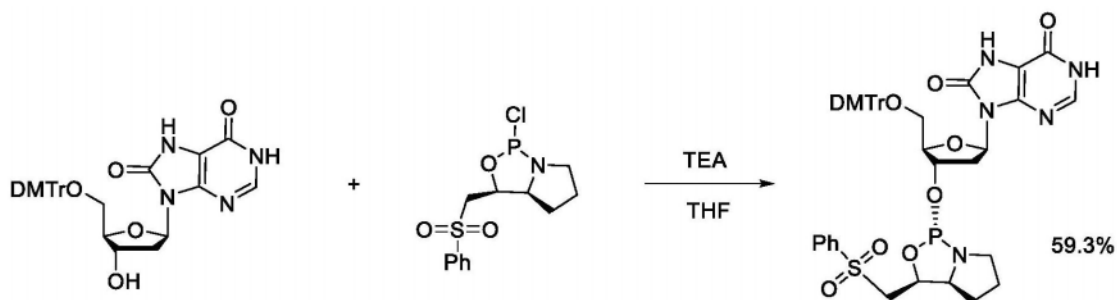
[1309] 向干3-[(2S, 4R, 5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-6-甲基-1H-嘧啶-2,4-二酮(1.65g, 3.03mmol)在THF(12.5mL)中的溶液中添加三乙胺(0.93mL, 6.67mmol)。快速滴加(3S, 3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.43M的THF溶液, 10.6mL, 4.54mmol)。将所得的浑浊反应溶液在室温下搅拌5小时。TLC显示反应完成。用水(27 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(363mg)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈白色泡沫状的标题化合物(1.266g, 50.5%产率)。 $^1\text{H}$  NMR (600MHz, 氯仿-d)  $\delta$  9.07 (s, 1H), 7.93 (dd, J=7.8, 1.6Hz, 2H), 7.64-7.58 (m, 1H), 7.53 (t, J=7.7Hz, 2H), 7.51-7.47 (m, 2H), 7.41-7.36 (m, 4H), 7.25 (d, J=7.6Hz, 2H), 7.19 (t, J=7.3Hz, 1H), 6.79 (dd, J=9.0, 2.2Hz, 4H), 6.16 (d, J=11.2Hz, 1H), 5.45 (s, 1H), 5.04 (q, J=6.0Hz, 1H), 4.17-4.11 (m, 1H), 3.783 (s, 3H), 3.777 (s, 3H), 3.73-3.62 (m, 3H), 3.58-3.53 (m, 1H), 3.52-3.47 (m, 1H), 3.42 (dd, J=14.6, 5.4Hz, 1H), 3.06-2.97 (m, 1H), 2.95-2.88 (m, 1H), 2.86 (dd, J=10.3, 4.2Hz, 1H), 2.03 (s, 3H), 1.85 (dp, J=12.2, 4.5Hz, 1H), 1.78-1.70 (m, 1H), 1.66 (ddt, J=7.8, 5.5, 2.5Hz, 1H), 1.61 (dt, J=13.6, 3.1Hz, 1H), 1.21-1.11 (m, 1H);  $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz, 氯仿-d)  $\delta$ 148.85; MS (ESI), 826.14 [M-H] $^{-}$ 。

[1310] (Z)-N'-[9-((2R, 3R, 4R, 5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-3-((叔丁基二甲基甲硅烷基)氧基)-4-(((1S, 3S, 3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H, 3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-8-氧代-8,9-二氢-7H-嘌呤-6-基)-N,N-二甲基甲酰胺的合成



[1311] 向干燥的N-[9-[(2R,3S,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-3-[叔丁基(二甲基)甲硅烷基]氧基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-8-氧代-7H-嘌呤-6-基]-N,N-二甲基甲酰胺(18.0g,23.84mmol)在THF(135mL)中的溶液中添加三乙胺(7.31mL,52.45mmol)。将反应烧瓶置于水浴中。快速滴加(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.43M的THF溶液,83.17mL,35.76mmol)。移去水浴。将浑浊的反应溶液在室温搅拌3小时。TLC和LCMS显示反应不完全。添加另外的TEA(1.46mL,10.47mmol)。还快速滴加另外的(3S,3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a,4,5,6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.43M的THF溶液,16.6mL,7.14mmol)。再搅拌1小时。TLC显示反应完成。用水(343 $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(4.577g)。通过硅藻土过滤混合物,浓缩滤液,得到呈白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相柱色谱法使用己烷中的20%-100% EtOAc(各流动相含有1%的三乙胺)梯度纯化,得到呈白色泡沫状的标题化合物(17.87g,72.2%产率)。<sup>1</sup>H NMR(600MHz,氯仿-d)  $\delta$ 8.72(s,1H),8.28(s,1H),8.16(s,1H),7.87-7.83(m,2H),7.56-7.52(m,1H),7.49-7.42(m,4H),7.38-7.31(m,4H),7.20(dd,J=8.4,6.8Hz,2H),7.17-7.12(m,1H),6.78-6.72(m,4H),5.94(d,J=5.5Hz,1H),5.34(t,J=5.4Hz,1H),4.96(q,J=6.2Hz,1H),4.78(dt,J=10.8,4.5Hz,1H),4.01(q,J=4.4Hz,1H),3.75(s,6H),3.67(dq,J=11.5,6.0Hz,1H),3.48-3.35(m,4H),3.17(dd,J=10.2,4.9Hz,1H),3.13(s,3H),3.10(s,3H),3.03(qd,J=9.5,4.0Hz,1H),1.89-1.81(m,1H),1.78-1.72(m,1H),1.69-1.62(m,1H),1.15-1.06(m,1H),0.81(s,9H),-0.02(s,3H),-0.14(s,3H);<sup>31</sup>P NMR(243MHz,氯仿-d)  $\delta$ 152.36;MS(ESI),1036.85[M-H]<sup>-</sup>。

[1312] 9-((2R,4S,5R)-5-((双(4-甲氧基苯基)(苯基)甲氧基)甲基)-4-(((1S,3S,3aS)-3-((苯基磺酰基)甲基)四氢-1H,3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷-1-基)氧基)四氢呋喃-2-基)-7,9-二氢-1H-嘌呤-6,8-二酮的合成

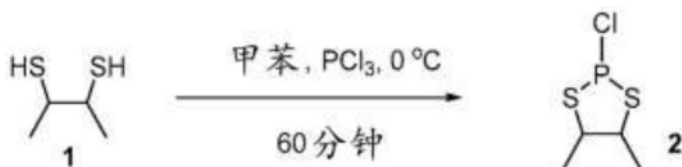


[1313] 向干9-[(2R,4R,5R)-5-[[双(4-甲氧基苯基)-苯基-甲氧基]甲基]-4-羟基-四氢呋喃-2-基]-1,7-二氢嘌呤-6,8-二酮(6.0g,10.52mmol)在THF(90mL)中的溶液中添加三乙

胺(3.08mL, 22.08mmol)。快速滴加(3S, 3aS)-3-(苯磺酰基甲基)-1-氯-3a, 4, 5, 6-四氢-3H-吡咯并[1,2-c][1,3,2]氧杂氮杂磷杂环戊烷(0.89M的THF溶液, 18.9mL, 16.82mmol)。在室温下搅拌2小时。LCMS显示转化率为约67%。再搅拌6小时。TLC显示起始材料很少。用水(113  $\mu$ L)淬灭反应。添加无水MgSO<sub>4</sub>(1.51g)。通过硅藻土过滤混合物, 浓缩滤液, 得到呈灰白色泡沫状的粗产物。将粗产物通过正相色谱法使用EtOAc中的0-100%ACN(各流动相含有5%的三乙胺)梯度纯化, 得到呈灰白色泡沫状的标题化合物(5.32g, 59.3%产率)。<sup>1</sup>H NMR (600MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 11.42(s, 2H), 7.88-7.81(m, 3H), 7.60(t, J=7.4Hz, 1H), 7.52(t, J=7.6Hz, 2H), 7.33(d, J=7.8Hz, 2H), 7.25-7.14(m, 7H), 6.79(dd, J=18.2, 8.5Hz, 4H), 6.11(dd, J=8.1, 4.6Hz, 1H), 5.10-5.00(m, 2H), 3.86-3.79(m, 2H), 3.73-3.69(m, 6H), 3.69-3.65(m, 1H), 3.58(dt, J=9.6, 5.3Hz, 1H), 3.24(dd, J=14.3, 7.6Hz, 1H), 3.11(dd, J=10.4, 3.8Hz, 1H), 3.08-3.03(m, 1H), 2.85(dt, J=13.2, 6.1Hz, 1H), 2.81-2.73(m, 1H), 2.60(qd, J=9.8, 3.9Hz, 1H), 2.27(dt, J=14.1, 7.4Hz, 1H), 1.63-1.50(m, 2H), 1.11(q, J=10.2, 9.7Hz, 1H); <sup>31</sup>P NMR (243MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$ 144.02; MS (ESI), 852.62[M-H]<sup>-</sup>。

[1314] 可用于寡核苷酸制备的另外的化合物的制备在下文作为实例描述。

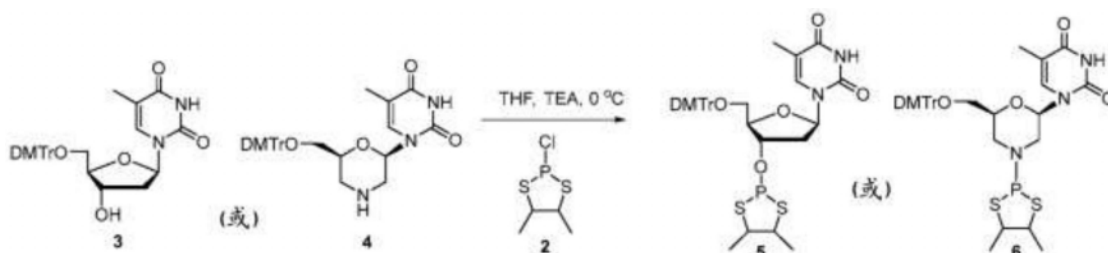
[1315] 氯试剂(2)的一般实验程序(A)



[1316] 在氩气下(3000mL单颈烧瓶)将二硫醇(360mmol)溶解在甲苯(720mL)中, 然后添加4-甲基吗啉(35.4mL, 792mmol)。在氩气下, 经30分钟通过套管将该混合物滴加到三氯化磷(720mL, 396mmol)在甲苯(720mL)中的冰冷溶液中。温热至室温1小时后, 将混合物在真空/氩气下小心过滤。将所得滤液通过旋转蒸发(用Ar冲洗)浓缩, 然后在高真空下干燥2小时。将所得粗化合物分离为粘稠油状物, 将其溶解在THF中以获得1M储备溶液, 该溶液不经进一步纯化即用于下一步。

[1317] 2的数据: 由化合物1合成, 遵循一般程序A。<sup>31</sup>P NMR (243MHz, THF-CDC1<sub>3</sub>, 1:2)  $\delta$  168.77, 161.4

[1318] 单体(5和6)的一般实验程序(B)



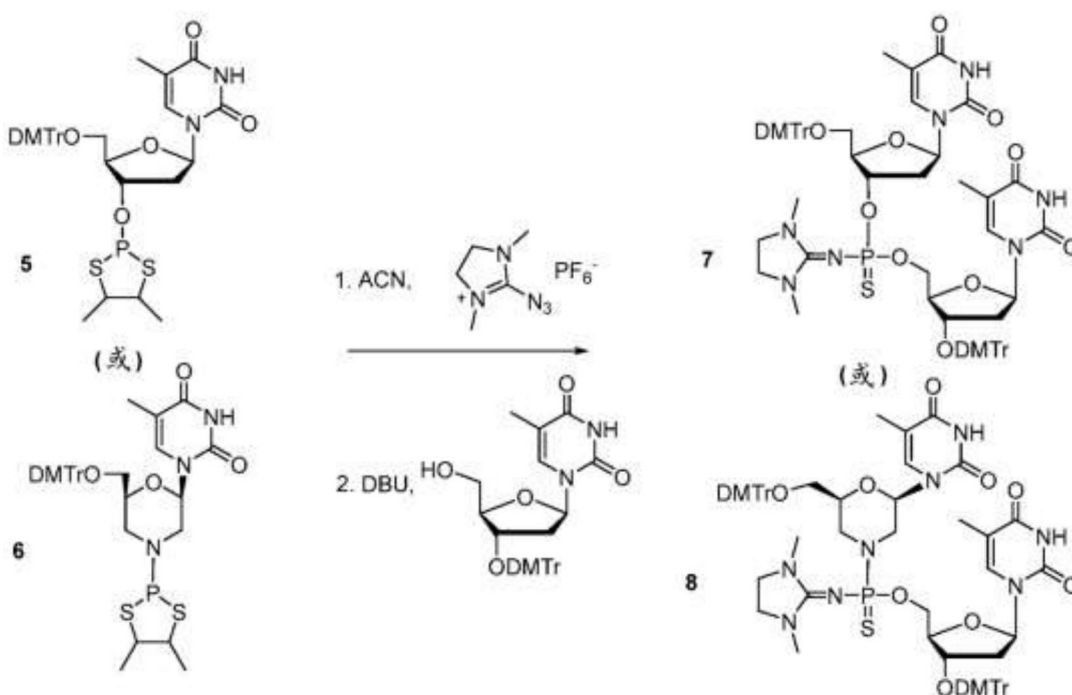
[1319] 5'-ODMTTr保护的核苷3或4(6.9mmol)在三颈250mL圆底烧瓶中通过与无水甲苯(50mL)共蒸发然后在高真空下18小时进行干燥。在氩气下, 将干燥的核苷溶解在干THF(35mL)中。然后, 将三乙胺(24.4mmol, 3.5当量)添加到反应混合物中, 然后冷却至约-10°C。将粗氯试剂的THF溶液(1M溶液, 2.5当量, 17.4mmol)通过套管经约5分钟添加到上述混合物中, 然后经约1小时逐渐升温至室温。LCMS显示起始材料被消耗。将反应混合物在真空/氩气

下小心过滤,并将所得滤液减压浓缩,得到黄色泡沫,将其在高真空下进一步干燥过夜。将粗混合物通过硅胶柱[柱使用乙腈然后乙酸乙酯(5%TEA)预失活,然后使用乙酸乙酯-己烷平衡]色谱法(使用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液)纯化。

[1320] 立体随机 (Rp/Sp) 单体5:产率86%。按照一般程序B,使用核苷3和氯试剂2进行反应。<sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ171.62, 155.50, 146.84, 146.17; MS (ES) m/z 针对C<sub>35</sub>H<sub>39</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>PS<sub>2</sub> [M+K]<sup>+</sup>的计算值:733.16, 观察值:733.40[M+K]<sup>+</sup>。

[1321] 立体随机 (Rp/Sp) 单体6:产率73%。按照一般程序B,使用核苷4和氯试剂2进行反应。<sup>31</sup>P NMR (243MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ121.87, 106.20, 93.58, 92.99; MS (ES) m/z 针对C<sub>35</sub>H<sub>40</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>PS<sub>2</sub> [M+K]<sup>+</sup>的计算值:773.28, 观察值:773.70[M+K]<sup>+</sup>。

[1322] PS-PN二聚体(7和8)的一般实验程序(C):

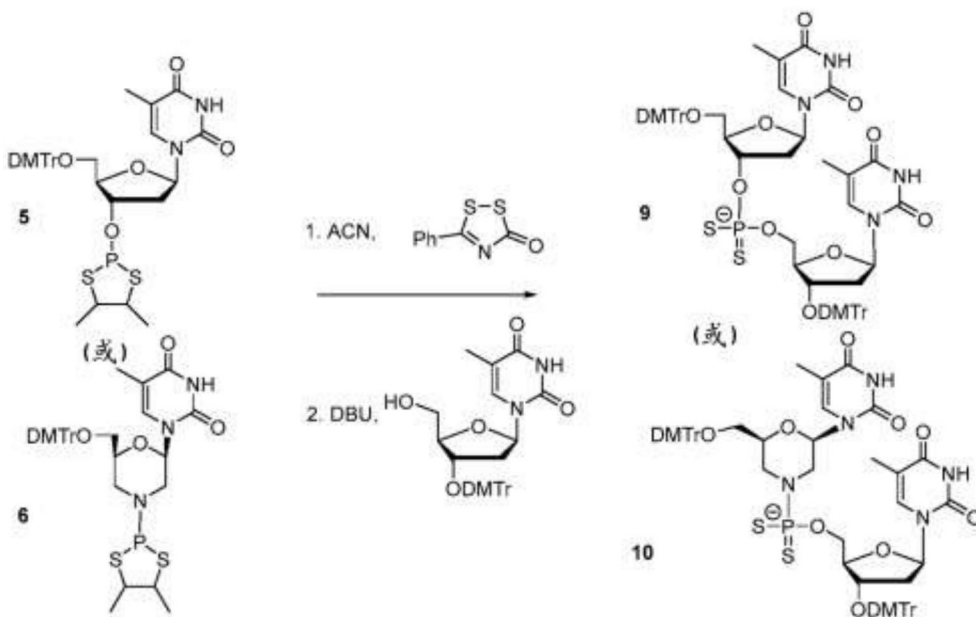


[1323] 在氩气氛下在室温下将单体5或6(0.10mmol, 2当量, 通过与干乙腈共蒸发预干燥并在真空下保持至少12小时)在干乙腈(0.5mL)中的搅拌溶液添加到2-叠氨基-1,3-二甲基咪唑啉鎓六氟磷酸盐(0.11mmol, 2.25当量)在乙腈(0.2mL)中的溶液中。将所得反应混合物搅拌10分钟,然后添加在干乙腈(0.25mL)中的DMTr保护的醇(0.05mmol, 通过与干乙腈共蒸发进行预干燥,并在真空条件下保持至少12小时)以及1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯(0.23mmol, 5当量, 在干乙腈中的0.23mL 1M溶液)。通过LCMS监测和分析反应。大约反应完成时间10-20分钟。

[1324] 立体随机二聚体7:按照一般程序C,使用5进行反应。MS (ES) m/z 针对C<sub>67</sub>H<sub>72</sub>N<sub>7</sub>O<sub>14</sub>PS [M+K]<sup>+</sup>的计算值1300.42, 观察值:1300.70[M+K]<sup>+</sup>。

[1325] 立体纯的 (Rp) 二聚体8:按照一般程序C,使用6进行反应。MS (ES) m/z 针对C<sub>67</sub>H<sub>73</sub>N<sub>8</sub>O<sub>13</sub>PS [M+K]<sup>+</sup>的计算值1299.44, 观察值:1299.65[M+K]<sup>+</sup>。

[1326] PS-PS二聚体(9和10)的一般实验程序(D):

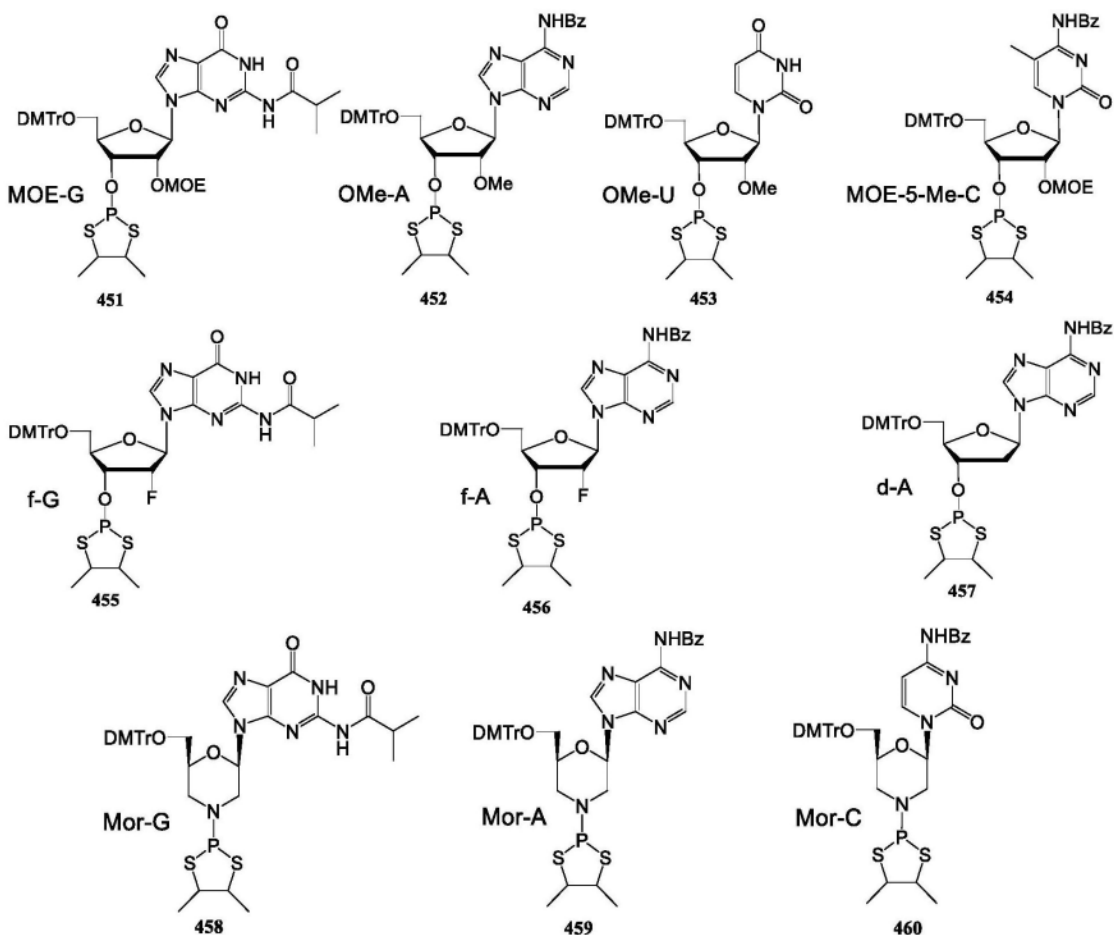


[1327] 在氩气氛下在室温下将单体5或6 (0.10mmol, 2当量, 通过与干乙腈共蒸发进行预干燥并在真空下保持至少12小时) 在干乙腈 (0.5mL) 中的搅拌溶液添加到5-苯基-3H-1,2,4-二噻唑-3-酮 (0.12mmol, 2.5当量, 0.2M) 在乙腈中的溶液中。将所得反应混合物搅拌10分钟, 然后添加在干乙腈 (0.2mL) 中的DMTr保护的醇 (0.05mmol, 1当量, 通过与干乙腈共蒸发进行预干燥并在真空下保持至少12小时) 以及1,8-二氮杂双环[5.4.0]十一碳-7-烯 (0.23mmol, 5当量, 在干乙腈中的1M溶液)。一旦反应完成 (通过LCMS监测), 则通过LCMS分析反应混合物。

[1328] 二聚体9: 按照一般程序D使用单体5进行反应。反应完成时间约30分钟。MS (ES) m/z 针对 $\text{C}_{62}\text{H}_{62}\text{N}_4\text{O}_{14}\text{PS}_2$  [M]<sup>-</sup> 的计算值1181.34, 观察值: 1181.66 [M]<sup>-</sup>。

[1329] 二聚体10: 按照一般程序D使用单体6进行反应。反应完成时间约20小时。MS (ES) m/z 针对 $\text{C}_{62}\text{H}_{63}\text{N}_5\text{O}_{13}\text{PS}_2$  [M]<sup>-</sup> 的计算值1180.36, 观察值: 1180.71 [M]<sup>-</sup>。

[1330] 制备了其他有用的化合物作为实例:



[1331] MOE-G单体451:产率81%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 175.14, 158.52, 150.30, 148.81; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{42}\text{H}_{50}\text{N}_5\text{O}_9\text{PS}_2$  [M+H] $^+$  的计算值864.29, 观察值:864.56 [M+H] $^+$ 。

[1332] OMe-A单体452:产率92%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 175.65, 159.27, 151.04, 150.10; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{43}\text{H}_{44}\text{N}_5\text{O}_7\text{PS}_2$  [M+H] $^+$  的计算值838.25, 观察值:838.05 [M+H] $^+$ 。

[1333] OMe-U单体453:产率94%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 175.09, 162.04, 154.12, 153.58; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_8\text{PS}_2$  [M+K] $^+$  的计算值749.15, 观察值:749.06 [M+K] $^+$ 。

[1334] MOE-5-Me-C单体454:产率91%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 175.53, 162.04, 153.78, 153.61; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{45}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}_9\text{PS}_2$  [M+H] $^+$  的计算值872.28, 观察值:872.16 [M+H] $^+$ 。

[1335] f-G单体455:产率97%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 176.88 (d), 161.94 (d), 154.16 (d), 152.48 (d); MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{39}\text{H}_{43}\text{FN}_5\text{O}_7\text{PS}_2$  [M+H] $^+$  的计算值808.24, 观察值:808.65 [M+H] $^+$ 。

[1336] f-A单体456:产率99%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 177.43 (d), 159.63 (d), 149.76 (d), 149.55 (d); MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{42}\text{H}_{41}\text{FN}_5\text{O}_6\text{PS}_2$  [M+H] $^+$  的计算值826.23, 观察值:826.56 [M+H] $^+$ 。

[1337] dA单体457:产率98%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 171.85, 154.47, 146.19, 144.48; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{42}\text{H}_{42}\text{N}_5\text{O}_6\text{PS}_2$  [M+K] $^+$  的计算值846.20, 观察值:846.56 [M+K] $^+$ 。

[1338] Mor-G单体458:产率72%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 121.26, 105.98, 93.48, 93.24; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{39}\text{H}_{45}\text{N}_6\text{O}_6\text{PS}_2$  [M+K] $^+$  的计算值827.22, 观察值:827.60 [M+K] $^+$ 。

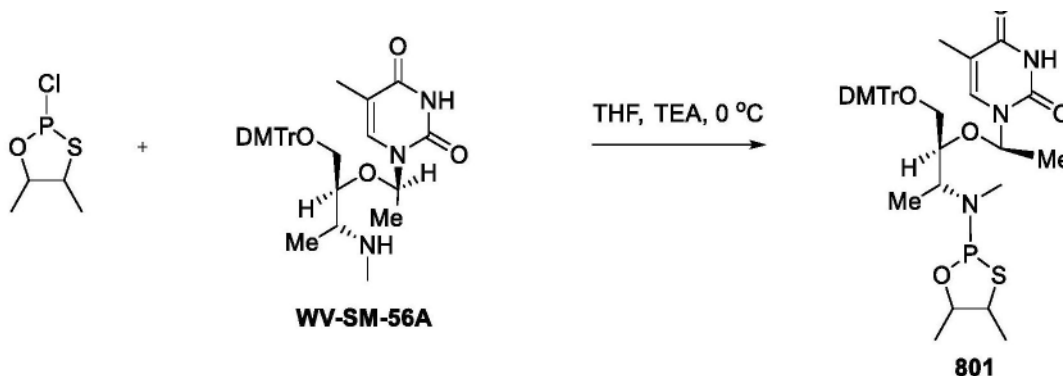
[1339] Mor-A单体459:产率37%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 121.87, 106.17, 93.23, 93.05; MS (ES) m/z 针对  $\text{C}_{42}\text{H}_{43}\text{N}_6\text{O}_5\text{PS}_2$  [M+K] $^+$  的计算值845.21, 观察值:845.32 [M+K] $^+$ 。

[1340] Mor-C单体460:产率68%。 $^{31}\text{P}$  NMR (243MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ 122.34, 106.05, 93.33,

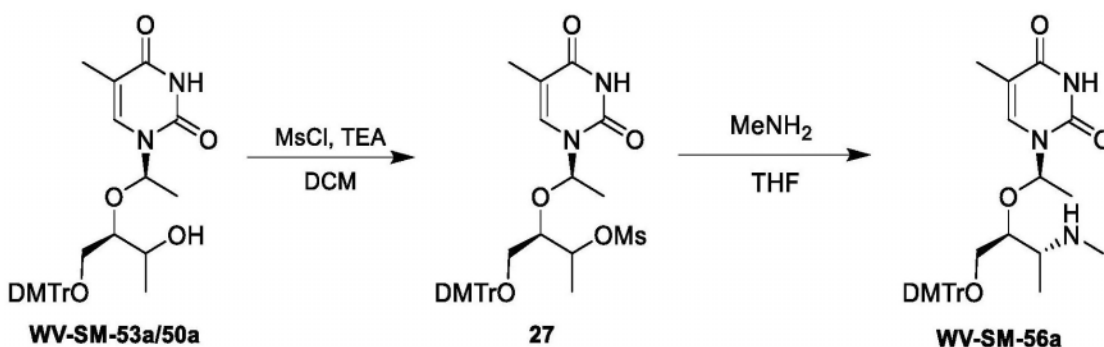
92.6116; MS (ES)  $m/z$  针对  $C_{41}H_{43}N_4O_6PS_2[M+K]^+$  的计算值 821.20, 观察值: 821.54  $[M+K]^+$ 。

[1341] 在一些实施例中, 糖是无环的。在一些实施例中, 本披露提供了用于制备包含环糖的寡核苷酸的技术, 例如, 试剂 (例如, 亚磷酰胺)、条件、方法等。下面以 sm18 为例描述。

[1342] 某些无环吗啉单体。



[1343] 5'-ODMTro保护的嘧啶代核苷 (5.05mmol) 在三颈100mL圆底烧瓶中通过与无水甲苯 (50mL) 共蒸发然后在高真空下18小时进行干燥。在氩气氛下, 将干燥的核苷溶解在干THF (25mL) 中。然后, 将三乙胺 (17.6mmol, 3.5当量) 添加到反应混合物中, 然后冷却至约-10°C。将粗氯试剂的THF溶液 (1.4M溶液, 1.8当量, 9.09mmol) 通过套管经约3分钟添加到上述混合物中, 然后经约1小时逐渐升温至室温。LCMS显示起始材料被消耗。然后在真空/氩气下小心过滤, 并将所得滤液减压浓缩, 得到黄色泡沫, 将其在高真空下进一步干燥过夜。将粗混合物通过硅胶柱 [柱使用乙腈然后乙酸乙酯 (5% TEA) 预失活, 然后使用乙酸乙酯-己烷平衡] 色谱法 (使用乙酸乙酯和己烷作为洗脱液) 纯化。产率66%。 $^{31}P$  NMR (243MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  154.93, 154.65, 154.58, 154.23, 150.54, 150.17, 145.69, 145.26; MS (ES)  $m/z$  针对  $C_{37}H_{46}N_3O_7PS[M+K]^+$  的计算值 746.24, 观察值: 746.38  $[M+K]^+$ 。



[1344] 在0°C向WV-SM-53a/50a (6g, 10.70mmol) 在DCM (40mL) 中的溶液中添加在DCM (20mL) 中的  $Et_3N$  (3.25g, 32.11mmol) 和  $MsCl$  (2.45g, 21.40mmol)。将混合物在0°C搅拌4小时。TLC显示WV-SM-53a/50a已被消耗, 并检测到一个新斑点。通过添加饱和  $NaHCO_3$  (水性, 50mL) 将反应混合物淬灭, 然后用  $EtOAc$  (50mL\*3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (50mL) 洗涤, 经  $Na_2SO_4$  干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。获得呈棕色油状物的化合物 27 (8.0g, 粗品)。TLC石油醚: 乙酸乙酯 = 1:3,  $R_f$  = 0.50。

[1345] 两批: 向化合物 27 (3.42g, 5.35mmol) 在THF (20mL) 中的溶液中添加甲胺 (10g, 96.60mmol, 30%纯度)。将混合物在100°C搅拌160小时。LC-MS显示化合物 27 被消耗, 并检测到一个具有所希望的MS的主峰。TLC显示一个主要斑点。合并两个批次, 并且将反应混合物



(700mL)中的溶液中添加在DCM(300mL)中的MsCl(59.97g,523.51mmol)。将混合物在0℃搅拌4小时。TLC指示化合物3被消耗,并且形成两个新的斑点。将反应混合物通过添加水(500mL)淬灭并保持36小时。TLC指示中间体被消耗,并留下一个斑点。将水层用DCM(800mL\*3)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0:1,然后MeOH/EtOAc=0/1至1/10)纯化。获得呈白色固体的化合物4(75g,74.26%产率)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1),R<sub>f</sub>=0.38;(乙酸乙酯:甲醇=9:1),R<sub>f</sub>=0.13。

[1349] 化合物5的制备。向化合物4(75g,176.71mmol)在DMF(650mL)中的溶液中添加HI(100.46g,353.42mmol,59.09mL,45%纯度)。将混合物在15℃搅拌0.5小时。TLC显示化合物4被消耗并且检测到一个主要斑点。将反应混合物通过饱和NaHCO<sub>3</sub>(水性)淬灭至pH=7。将残余物用EtOAc(800mL\*5)萃取。将合并的有机层用盐水(600mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。获得呈棕色油状物的化合物5(91.15g,粗品)。TLC(乙酸乙酯:甲醇=9:1),R<sub>f</sub>=0.80。

[1350] 化合物6的制备。将化合物5(91g,164.75mmol)、Pd/C(28g,10%纯度)和NaOAc(122.85g,1.50mol)在EtOH(700mL)中的混合物脱气并用H<sub>2</sub>吹扫3次,然后将混合物在H<sub>2</sub>气氛(15psi)下于15℃搅拌24小时。TLC显示化合物5被消耗并且发现一个主要斑点。滤出Pd/C并蒸发滤液。向残余物中添加水(500mL),用EtOAc(500mL\*6)萃取。然后将有机层用盐水(500mL)洗涤并经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。获得呈棕色油状物的化合物6(76g,粗品)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=1:3),R<sub>f</sub>=0.12。

[1351] 化合物7的制备。向化合物6(70g,164.15mmol)在MeOH(1000mL)中的溶液中添加NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O(1.15kg,8.21mol,1.26L,25%纯度)。将混合物在15℃搅拌16小时。TLC指示化合物6被消耗并且形成一个新的斑点。减压浓缩反应混合物以除去MeOH,并且将水相用EtOAc(300mL\*8)萃取。将有机相经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至0:1)纯化。获得呈白色固体的化合物7(33g,62.37%产率)。TLC(乙酸乙酯:甲醇=9:1),R<sub>f</sub>=0.39。

[1352] 化合物8的制备。向化合物7(33g,102.38mmol)在吡啶(120mL)中的溶液中添加DMTC1(41.63g,122.85mmol)。将混合物在15℃搅拌4小时。TLC指示化合物7被消耗并且形成一个新的斑点。将反应混合物用饱和NaHCO<sub>3</sub>(水性,100mL)稀释并用EtOAc(200mL\*5)萃取。将合并的有机层经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤,并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至1/5,5% TEA)纯化。获得呈黄色固体的化合物8(55g,86.00%产率)。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1),R<sub>f</sub>=0.65。

[1353] WV-SM-47a的制备。将化合物8(55g,88.04mmol)、NaOH(42.26g,1.06mol)在DMSO(300mL)和水(300mL)中的混合物脱气并用N<sub>2</sub>吹扫3次,然后将混合物在N<sub>2</sub>气氛下于90℃搅拌16小时。LCMS和TLC显示化合物8已消耗,并且发现了一个具有所需MS 545的主峰(NEG,M-H<sup>+</sup>)。将反应混合物通过添加EtOAc(1000mL)淬灭,然后用H<sub>2</sub>O(1000mL)稀释并用EtOAc(1000mL\*4)萃取。将合并的有机层用盐水(1000mL)洗涤,经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥,过滤并在减压下浓缩,以给出残余物。将残余物通过柱色谱法(SiO<sub>2</sub>,石油醚/乙酸乙酯=20/1至1/3,5% TEA)纯化。获得呈白色固体的WV-SM-47a(37.5g,77.92%产率)。LCMS(M-H<sup>+</sup>)545.3。TLC(石油醚:乙酸乙酯=0:1,5% TEA),R<sub>f</sub>=0.29。

[1354] 化合物9的制备。向WV-SM-47a (37.5g, 68.60mmol) 在DCM (400mL) 中的溶液中添加吡啶 (81.40g, 1.03mol, 83.06mL) 和戴斯-马丁高碘烷 (34.92g, 82.33mmol)。将混合物在20℃搅拌4小时。LC-MS显示WV-SM-47a已完全消耗, 并检测到具有所需MS的新峰。将反应混合物通过添加饱和NaHCO<sub>3</sub> (水性, 1000mL) 和饱和Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (水性) 1000mL淬灭, 然后用EtOAc (100mL\*5) 萃取。将合并的有机层用500mL盐水洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。获得呈黄色固体的化合物9 (43g, 粗品)。LCMS (M-H<sup>+</sup>) 543.3。

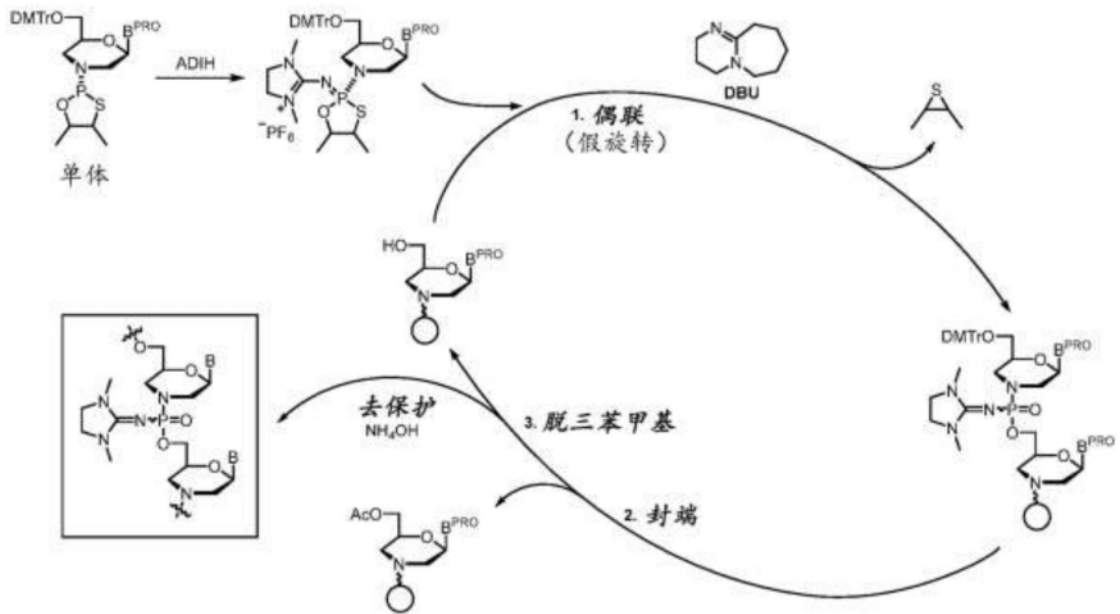
[1355] WV-NU-53a和WV-NU-50a的制备。在-40℃下向化合物9 (37.36g, 68.60mmol) 在THF (300mL) 中的溶液中添加MeMgBr (3M, 68.60mL)。将混合物在-40-15℃搅拌6小时。LC-MS显示化合物9已完全消耗, 并检测到新的质量峰。通过在0℃添加水 (20mL) 淬灭反应混合物, 并然后用EtOAc (300mL\*3) 萃取。将合并的有机层用盐水 (200mL) 洗涤, 经Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>干燥, 过滤并在减压下浓缩, 以给出残余物。TLC显示一个主要斑点。将残余物通过柱色谱法 (SiO<sub>2</sub>, 石油醚/乙酸乙酯=20/1至0/1, 5% TEA) 纯化。将6g残余物通过SFC纯化 (柱: DAICEL CHIRALPAK AD-H (250mm\*30mm, 5um); 流动相: [0.1%NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O IPA]; B%: 39%-39%, 9.33min)。并且将粗制WV-SM-50a通过制备型HPLC纯化 (柱: Agela Durashell 10u250\*50mm; 流动相: [水 (0.04% NH<sub>3</sub>H<sub>2</sub>O) -ACN]; B%: 37%-56%, 20min)。获得呈白色固体的WV-SM-53a (1.4g, 23.33%产率)。获得呈白色固体的WV-SM-50a (1.8g, 30.00%产率)。0.5g的WV-SM-53a: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ=7.37-7.30 (m, 2H), 7.28-7.18 (m, 8H), 7.12 (d, J=1.1Hz, 1H), 6.80 (d, J=8.6Hz, 4H), 6.08 (q, J=5.8Hz, 1H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.79 (d, J=0.9Hz, 6H), 3.51 (q, J=5.0Hz, 1H), 3.20-3.05 (m, 2H), 2.70 (q, J=7.1Hz, 2H), 1.71 (d, J=1.1Hz, 3H), 1.46 (d, J=6.0Hz, 3H), 1.14-1.10 (m, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, 氯仿-d) δ=163.19, 158.54, 150.48, 144.39, 135.53, 134.91, 129.86, 129.81, 127.90, 127.86, 126.93, 113.15, 111.48, 86.73, 81.44, 81.24, 68.14, 63.45, 55.22, 45.74, 21.45, 18.01, 12.43。HPLC纯度: 99.04%。LCMS (M-H<sup>+</sup>): 559.0。SFC dr=99.83:0.17。TLC (石油醚: 乙酸乙酯=1:3), R<sub>f</sub>=0.28。0.9g的WV-SM-53a: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ=7.36-7.30 (m, 2H), 7.29-7.15 (m, 9H), 7.13 (s, 1H), 6.80 (d, J=8.8Hz, 4H), 6.08 (q, J=6.0Hz, 1H), 4.11-3.97 (m, 1H), 3.79 (s, 6H), 3.51 (q, J=4.9Hz, 1H), 3.13 (dq, J=5.3, 10.1Hz, 2H), 1.72 (s, 3H), 1.47 (d, J=6.2Hz, 3H), 1.10 (d, J=6.4Hz, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, 氯仿-d) δ=163.19, 158.54, 150.47, 144.39, 135.50, 134.92, 129.86, 129.81, 127.89, 127.87, 126.94, 113.15, 111.48, 86.73, 81.44, 81.25, 68.14, 63.45, 55.22, 45.19, 21.46, 18.02, 12.44。HPLC纯度: 97.56%。LCMS (M-H<sup>+</sup>): 559.1, 纯度92.9%。SFC dr=98.49:1.51。1.75g的WV-SM-50a: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, 氯仿-d) δ=8.41 (s, 1H), 7.35-7.31 (m, 2H), 7.26-7.19 (m, 7H), 7.11 (d, J=1.3Hz, 1H), 6.82-6.77 (m, 4H), 6.00 (q, J=5.7Hz, 1H), 4.09-4.00 (m, 1H), 3.79 (d, J=0.9Hz, 6H), 3.51-3.44 (m, 1H), 3.22 (dd, J=5.3, 10.1Hz, 1H), 3.02 (dd, J=5.3, 10.1Hz, 1H), 2.20 (br s, 1H), 1.72 (d, J=0.9Hz, 3H), 1.47 (d, J=6.1Hz, 3H), 1.17 (d, J=6.6Hz, 3H)。<sup>13</sup>C NMR (101MHz, 氯仿-d) δ=163.29, 158.50, 150.43, 144.40, 135.55, 135.45, 134.86, 129.88, 129.84, 127.93, 127.84, 126.94, 113.12, 111.46, 86.55, 82.48, 82.43, 67.59, 63.24, 55.22, 21.40, 19.17, 12.43。HPLC纯度: 96.51%。LCMS (M-H<sup>+</sup>): 559.2, 纯度93.04%。SFC dr=0.88:99.12。

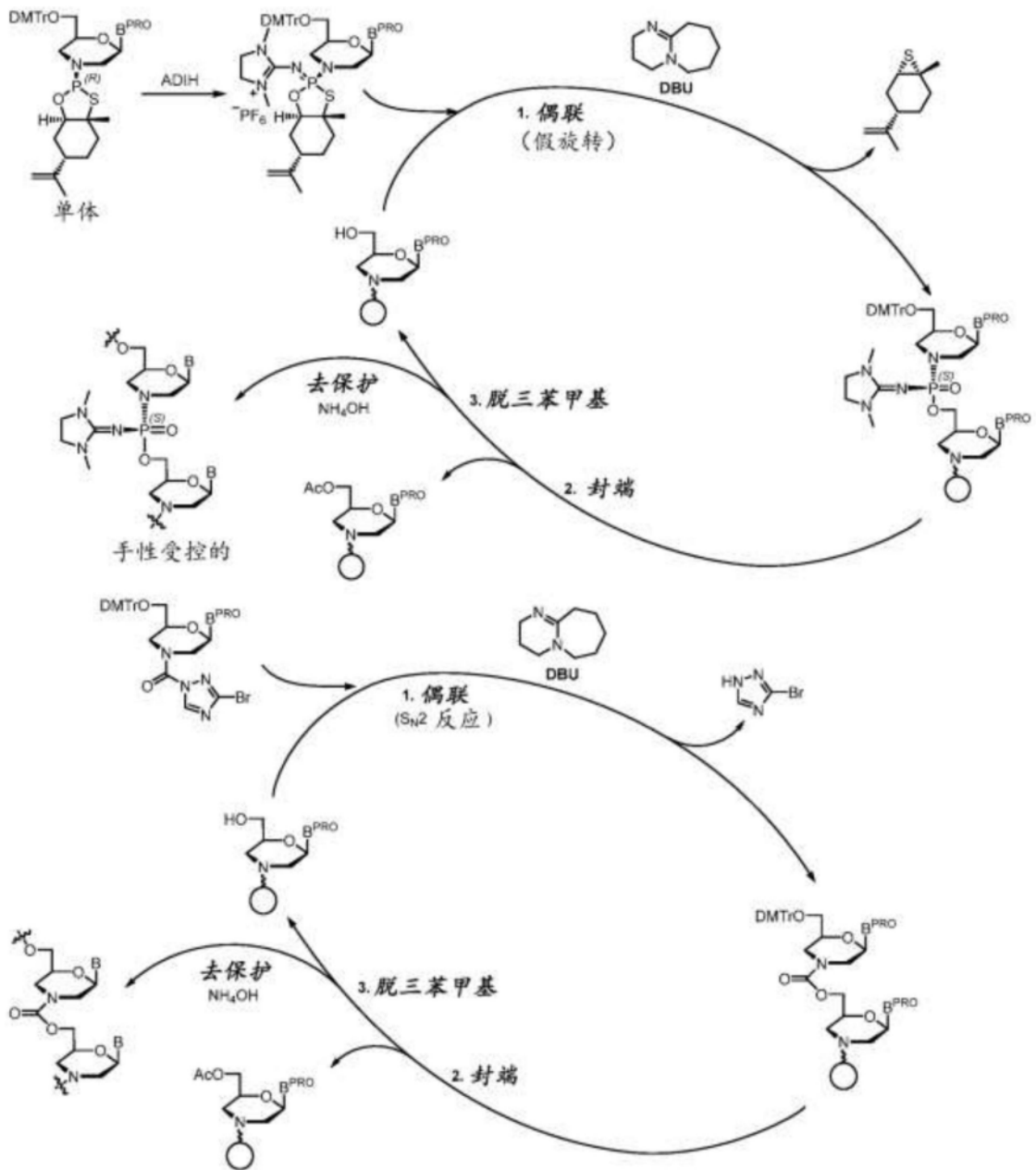
[1356] 实例3. 寡核苷酸和组合物的制备。

[1357] 用于制备寡核苷酸和寡核苷酸组合物 (立体随机的和手性受控的) 的多种技术可

以根据本披露使用,包括例如在以下文献中描述的方法和试剂:US 9982257、US 20170037399、US 20180216108、US 20180216107、US 9598458、WO 2017/062862、WO 2018/067973、WO 2017/160741、WO 2017/192679、WO 2017/210647、WO 2018/098264、WO 2018/223056、WO 2018/237194、WO 2019/032607、WO 2019/055951、WO 2019/075357、WO 2019/200185、WO 2019/217784、WO 2019/032612、WO 2020/191252和/或WO 2021/071858,它们各自的方法和试剂通过援引并入本文。制备并评估了许多寡核苷酸及其组合物,例如表1中的各种寡核苷酸及其组合物,并确认其提供各种活性,例如腺苷编辑。

[1358] 下面描述了某些有用的循环作为制备寡核苷酸的实例。





每个B独立地是核碱基，例如本文所述的BA(例如，A、C、G、T、U等)。每个B<sup>PRO</sup>独立地是任选地受保护的核碱基，例如本文所述的BA(例如，A<sup>bz</sup>、C<sup>ac</sup>、G<sup>ibu</sup>、T、U等，适用于寡核苷酸合成)。如所示，可以构建各种连接以将单体连接到核苷或寡核苷酸，包括在固体支持物上的那些。如本领域技术人员所理解的，这些循环可用于将单体偶联至各种其他类型糖的-OH。

[1359] 在一些实施例中，制备包括一个或多个DPSE和/或PSM循环。

[1360] 合成并评估了许多寡核苷酸组合物。在一些制备的寡核苷酸组合物中观察到的寡核苷酸的MS数据如下(当同一寡核苷酸呈现多个数字时，这些数字可以是在不同批次/实验中观察到的MS数据)：WV-20666:10167.1；WV-20689:10183；WV-20690:10198.4；WV-20691:10215.3；WV-20692:10230.3；WV-20693:10246.5；WV-20694:10262.7；WV-20695:10278.9；WV-20696:10294.3；WV-20697:10311.3；WV-20698:10327；WV-20699:10342.9；WV-20700:10358.5；WV-20701:10376；WV-20702:10391.1；WV-20703:10407.5；WV-20704:10423.6；WV-

20706:10199;WV-20707:10215.3;WV-20708:10230.6;WV-20709:10246.5;WV-20710:10262.6;WV-20711:10279.3;WV-20712:10294.2;WV-20713:10310.8;WV-20714:10327;WV-20715:10342.9;WV-20716:10358.7;WV-20717:10246.3;WV-20718:10262.7;WV-20719:10278.3;WV-20720:10294.2;WV-20721:10311.4;WV-20722:10327.1;WV-20723:10342.8;WV-20724:10358.7;WV-20725:10374.8;WV-20726:10391;WV-20727:10182.9;WV-20728:10182.7;WV-20729:10182.7;WV-20730:10182.9;WV-20731:10230.8;WV-20732:10199.1;WV-20733:10663.7;WV-20734:10194.7;WV-20735:10222.7;WV-20736:10250.5;WV-20737:10278.3;WV-20738:10306.7;WV-20739:10334.8;WV-20740:10362.9;WV-20741:10194.8;WV-20742:10208.5;WV-20743:10236.8;WV-20744:10263.9;WV-20745:10293.1;WV-20746:10320.4;WV-20747:10093.9;WV-20748:10098.1;WV-20749:10101.9;WV-20750:10106.4;WV-20751:10110.5;WV-20752:10113.5;WV-20753:10118.3;WV-20754:10122.6;WV-20755:10098;WV-20756:10100;WV-20757:10104.3;WV-20758:10107.7;WV-20759:10111.8;WV-20760:10116.7;WV-23388:10098;WV-23395:10612.3;WV-24111:10046.8;WV-24112:10047;WV-24113:10047;WV-24114:10046.8;WV-24115:10047;WV-24116:10046.8;WV-24117:10046.9;WV-24118:10046.8;WV-24119:10046.9;WV-24120:10047.1;WV-24121:10047;WV-24122:10047.1;WV-24123:10047;WV-24124:10047;WV-24125:10046.9;WV-24126:10046.9;WV-24127:10047;WV-24128:10046.5;WV-24129:10047;WV-24130:10046.8;WV-24131:10046.8;WV-24132:10047;WV-24133:10047.1;WV-24134:10047;WV-24135:10047;WV-24136:10046.9;WV-24137:10047.1;WV-24138:10047;WV-24139:10046.8;WV-24140:10046.4;WV-24141:10046.9;WV-24142:10047;WV-24143:10047.1;WV-24144:10047;WV-24145:10047.1;WV-24146:10046.9;WV-24147:10046.7;WV-24148:10047;WV-24149:10047;WV-24150:10047.1;WV-24151:10047.1;WV-24152:10047.1;WV-24153:10047.1;WV-24154:10047.1;WV-24155:10047.1;WV-24156:10046.7;WV-24157:10047;WV-24158:10047.1;WV-27457:12613.1;WV-27458:11954.6;WV-27459:12631;WV-27460:11972.7;WV-27521:10064.1;WV-31133:10737.8;WV-31134:10869.1;WV-31135:10790.3;WV-31137:10779.4;WV-31138:10788.2;WV-31139:10039.1;WV-31140:10168.8;WV-31141:10091.0;WV-31143:10079.0;WV-31144:10089.6;WV-31632:10772.7;WV-31633:10786.6;WV-31634:10072.7;WV-31635:10087.2;WV-31748:10762.5;WV-31749:10064.4;WV-28788:10169.1;WV-27458:11954.6;WV-31940:10285.5;WV-35741:12352.0;WV-42028:10252.9(计算值10254.9);WV-42680:10293.4(计算值10294.9);WV-44278:10326.5(计算值10329);WV-44279:10331.2(计算值10333);WV-44280:10346.3(计算值10348);WV-44281:10266.5(计算值10268.9);WV-44282:10195.8(计算值10197.9);WV-44283:10200.1(计算值10201.8);WV-44284:10135.4(计算值10137.8);WV-44285:10368.2(计算值10369);WV-44286:10307.1(计算值10308.9);WV-44287:10235(计算值10237.9);WV-44288:10175.9(计算值10177.8);WV-44327:10398.4(计算值10399.1);WV-44328:10357.7(计算值10359.1)。许多其他的也被准备、表征和评估,例如,参见图中的那些。

[1361] 如本文所述和证实的,本披露的技术可用于制备包含多种结构特征的寡核苷酸的多种组合物。在一些实施例中,如本文所证实的,所提供的技术,例如,利用包含吸电子基团的手性助剂(例如,包含吸电子基团(例如, $-\text{SO}_2\text{R}^{\text{C1}}$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\text{C1}}$ 等)的 $\text{R}^{\text{C11}}$ )的那些技术,尤其可

用于制备包含2'-OH糖(例如,  $R^{2s} = OH$ 的糖, 诸如通常在天然RNA中发现的糖)的寡核苷酸的手性受控的组合物, 尤其当这样的糖键合至手性受控的核苷酸间键联时。下面作为实例描述了WV-29874的制备。

[1362] 根据以下循环进行25 $\mu$ mol规模的手性受控的寡核苷酸组合物(WV-29874)的自动化固相合成:

步骤	操作	试剂和溶剂	体积	等待时间
1	脱三苯甲基	3% TCA/DCM	10 mL	65 s
2	偶联	0.2 M 单体/20% IBN-MeCN	0.5 mL	8 分钟
		0.5M PhIMT/MeCN	1.0 mL	
3	封端-1	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN	2.0 mL	2 分钟
4	硫化	0.2 M XH/吡啶	2.0 mL	6 分钟
5	封端-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN	1.0 mL	45 s
		20% MeIm/MeCN	1.0 mL	

IBN: 异丁腈; MeIm: N-甲基咪唑; PhIMT: N-苯基咪唑鎓三氟甲磺酸盐; XH: 苍耳烷氢化物。进行多次循环直至达到所需的长度。PSM亚磷酰胺用于形成手性受控的核苷酸间键联(对于2'-OH, 用TBS(叔丁基二甲基甲硅烷基)保护)。

[1363] 完成合成循环后, 通过无水碱处理(DEA处理)除去PSM手性助剂基团。将CPG在35 $^{\circ}$ C用40% MeNH<sub>2</sub> (5.0mL)处理30分钟, 然后冷却至室温并通过膜过滤分离CPG, 用8.0mL DMSO洗涤。向滤液中添加TEA(三乙胺)-3HF (5.0mL)并在45 $^{\circ}$ C搅拌1小时, 这可以从2'-OH移除TBS保护基。将反应混合物冷却至室温并用10mL 50mM NaOAc (pH 5.2)稀释。通过LTQ和RP-UPLC分析粗物质。将粗物质通过RP-HPLC采用50mM TEAA(三乙基乙酸铵)中的MeCN的线性梯度进行纯化, 通过tC18 SepPak柱脱盐, 得到目标寡核苷酸。

[1364] 使用以下程序进行脱盐:

如果存在, 从样品中蒸发MeCN。

采用4CV的100%乙腈(HPLC级)调节柱。

采用2CV的40% MeCN(溶于Millipore Bio-Pak水, 无内毒素)冲洗柱。

采用4CV的水(Millipore Bio-Pak, 无内毒素)冲洗柱。

采用2CV的50mM TEAA(溶于Millipore Bio-Pak水, 无内毒素)平衡柱。

将纯级分上样到经平衡的柱上。在一些实施例中, 重力上样提供最大量的结合, 用真空缓慢上样提供适当的结合, 而用真空快速上样导致较差的结合。

用2CV的BioPak水洗涤柱以洗去TEAA。

用2CV的100mM NaOAc洗涤柱,用钠交换寡核苷酸骨架上的铵。

用BioPak水洗涤柱,直到洗脱液的电导率<20uS/cm。

用2倍柱体积的40% MeCN(溶于Millipore Bio-Pak水,无内毒素)洗脱产物。

在30°C置于Speed-vac上过夜以除去乙腈并浓缩。

[1365] 一次制备的结果:合成规模:25 $\mu$ mol;粗OD:8740D;粗UPLC纯度:32.17%;粗LTQ纯度:62.45%;最终ODs:59.80D;最终UPLC纯度:59.85%;最终MS纯度:74.51%;以及最终观测到的MS:10064.4(计算值10,063.68)。

[1366] 根据本披露,本领域技术人员可以利用许多技术来制备本披露的寡核苷酸和组合物。

[1367] 例如,制备了多种手性受控的寡核苷酸组合物。下面描述了某些有用的程序作为示例。在一些实施例中,寡核苷酸包含混合的PS(硫代磷酸酯)/PO(天然磷酸酯键联)/PN(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)骨架。使用根据本披露的技术制备具有不同数量的PS/PO/PN键联的寡核苷酸(例如,参见表1)。例如,在一些实施例中,使用氰乙基亚酰胺形成磷酸二酯(PO)键联,使用DPSE手性亚酰胺形成硫代磷酸酯(PS)键联(S<sub>p</sub>和R<sub>p</sub>;在一些实施例中,全部是S<sub>p</sub>),使用PSM亚酰胺形成氨基磷酸酯键联(PN;例如n001)(S<sub>p</sub>和R<sub>p</sub>)。寡核苷酸通常包含各种糖修饰,例如2'-修饰,如2'-OMe、2'-F和2'-MOE等(例如,参见表1)。在一些实施例中,寡核苷酸包含另外的部分,例如在例如5'末端的三触角GalNAc部分。为了在5'末端引入GalNAc部分,在一些实施例中,通过与C-6氨基修饰剂偶联作为最后一个偶联循环合成寡核苷酸,并在纯化和脱盐后与三触角GalNAc缀合以制备缀合物。

[1368] 制备寡核苷酸组合物的示例程序(25 $\mu$ mol规模)

[1369] 对于手性受控的PS键联,使用DPSE亚酰胺,对于手性受控的PN键联,例如n001,使用PSM亚酰胺。寡核苷酸的自动固相合成是根据如下所示的循环进行的:用于PO键联的常规亚酰胺循环,用于手性受控的PS键联的DPSE亚酰胺循环,以及用于手性受控的PN键联(例如n001)的PSM亚酰胺循环。

#### 常规亚酰胺合成循环

步骤	操作	试剂和溶剂	体积	等待时间
1	脱三苯甲基	3% TCA/DCM	10 mL	65 s
2	偶联	0.2M 单体/20% IBN-MeCN CMIMT/MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 分钟
3	氧化	50mM I <sub>2</sub> / 吡啶-H <sub>2</sub> O (9 : 1, v/v)	2.0 mL	1 分钟
4	封端-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN 20% MeIm/MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 s

#### DPSE亚酰胺合成循环

步骤	操作	试剂和溶剂	体积	等待时间
1	脱三苯甲基	3% TCA/DCM	10 mL	65 s
2	偶联	0.2M 单体/20% IBN-MeCN CMIMT/MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 分钟
3	封端-1	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN	2.0 mL	2 分钟
4	硫化	0.2 M XH/吡啶	2.0 mL	6 分钟
5	封端-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN 20% MeIm/MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 s

## PSM亚酰胺合成循环

步骤	操作	试剂和溶剂	体积	等待时间
1	脱三苯甲基	3% TCA/DCM	10 mL	65 s
2	偶联	0.2M 单体/20% IBN-MeCN CMIMT/MeCN	0.5 mL 1.0 mL	8 分钟
3	封端-1	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN	2.0 mL	2 分钟
4	亚酰胺化	0.5M ADIH 试剂/MeCN	2.0 mL	6 分钟
5	封端-2	20% Ac <sub>2</sub> O, 30% 2,6-二甲基吡啶 /MeCN 20% MeIm/MeCN	1.0 mL 1.0 mL	45 s

[1370] 在一些实施例中,为了在5'末端引入GalNAc部分,通过与C-6氨基接头偶联作为最后一个偶联循环来合成寡核苷酸。

[1371] 切割和去保护的示例程序(25 $\mu$ mol规模)

[1372] 循环完成后,将CPG支持物用20%二乙胺/乙腈洗涤步骤处理5柱体积/15分钟,然后进行ACN洗涤循环。将CPG固体支持物干燥并转移到50mL塑料管中,并在28 $^{\circ}$ C用1X脱甲硅烷基化试剂(2.5mL;100 $\mu$ L/ $\mu$ mol)处理3小时,然后在37 $^{\circ}$ C添加浓NH<sub>3</sub>(5.0mL;200 $\mu$ L/ $\mu$ mol)保持24小时。将反应混合物冷却至室温,通过膜过滤分离CPG,并且用15mL H<sub>2</sub>O洗涤。通过LTQ和RP-UPLC分析粗材料(滤液)。对于某些要与其他另外的化学部分如GalNAc缀合的寡核苷酸,包含合适的反应基团如氨基的寡核苷酸在AKTA纯系统上使用氯化钠梯度通过离子交换色谱进行纯化。将所需产物脱盐并进一步与含GalNAc的酸缀合。发现缀合反应完成后,通过

离子交换色谱进一步纯化材料并使用切向流过滤 (TFF) 脱盐以获得所需产物 (例如, 表1中的各种寡核苷酸组合物, 包括WV-46312、WV-47606、WV-47608、WV-49085、WV-49086、WV-49087、WV-49088、WV-49089、WV-49090、WV-49092、WV-47603、WV-47604、WV-47605、WV-47607、WV-47609、WV-49091、WV-49093、WV-48453、WV-48454等)。

[1373] 例如, 制备WV-47595然后缀合以制备WV-46312。下面举例说明有用的合成过程。

[1374] 在制备中, WV-47595的合成是在AKTA 0P100合成仪 (通用医疗集团 (GE Healthcare)) 上使用直径为3.5cm的细线柱以1200 $\mu$ mol规模使用CPG支持物 (负载量72 $\mu$ mol/g) 进行的。某些合成循环包含五个步骤: 脱三苯甲基、偶联、封端1 (封端-1)、氧化/硫化/亚酰胺化和封端2 (封端-2)。

[1375] 脱三苯甲基: 使用甲苯中3% DCA和436nm处设置的UV观察指令进行脱三苯甲基。脱三苯甲基后, 使用乙腈对CPG支持物进行洗涤循环2CV。

[1376] 偶联: DPSE和PSM手性亚酰胺以0.2M浓度制备 (在ACN中或ACN中的20% IBN)。在添加到柱中之前, 将亚酰胺与CMIMT活化剂 (在乙腈中0.5M) 以5.83的比例在线混合。偶联混合物循环10分钟以最大化偶联效率, 然后用2CV的ACN洗涤柱。氰乙基亚酰胺以0.2M浓度制备 (在ACN中或ACN中的20% IBN)。在添加到柱中之前, 将亚酰胺与ETT活化剂 (在乙腈中0.5M) 以4.07的比例在线混合。偶联混合物循环10分钟以最大化偶联效率, 然后用2CV的ACN洗涤柱。

[1377] 封端1: 对于立体限定的偶联, 然后用封端1溶液 (乙酸酐、二甲基吡啶、ACN) 在2分钟内处理1个CV, 这可以使手性辅助胺乙酰化。在该步骤之后, 用1.5个CV的乙腈洗涤柱。对于立体随机偶联, 未执行封端1。

[1378] 硫化/亚酰胺化/氧化步骤: 如下进行硫化: 在吡啶/乙腈 (1.2当量) 中使用0.1M黄原烷氢化物, 接触时间为6分钟, 然后是2个CV的洗涤步骤。如下进行亚酰胺化: 使用乙腈中的0.3M ADIH试剂, 具有18个当量和15分钟的接触时间, 然后是2个CV的洗涤步骤。如下进行氧化步骤: 使用氧化试剂 (50mM  $I_2$ /吡啶- $H_2O$  (9:1, v/v)) 3.5当量2.5分钟, 然后是2个CV的乙腈洗涤。

[1379] 封端2: 如下进行封端2步骤: 使用封端A和封端B试剂在线混合 (1:1) (例如, 参见封端-2), 然后进行2个CV的ACN洗涤。

[1380] 合成完成后, 将CPG支持物最后用20% 二乙胺/乙腈洗涤步骤处理5柱体积/15分钟, 然后进行ACN洗涤循环。将CPG固体支持物干燥并转移到压力容器中。通过使用脱甲硅烷基化试剂以每 $\mu$ mol支持物/100 $\mu$ L脱甲硅烷基化试剂的比例处理支持物来去除DPSE。通过以下制备脱甲硅烷基化试剂: 混合DMSO: 水: TEA: TEA. 3HF, 比例为7.33:1.47:0.7:0.5。在27 $^{\circ}$ C将CPG支持物与脱甲硅烷基化试剂一起在孵化器振荡器中孵育3小时。之后, 以每 $\mu$ mol支持物/200 $\mu$ L浓氨水的比例添加浓氨水。将混合物在37 $^{\circ}$ C孵育和振荡24小时。将混合物冷却并使用0.2-0.45微米过滤器过滤, 将CPG支持物冲洗三次以收集作为滤液的所有所需材料。通过RP-UPLC分析含有粗寡核苷酸的滤液, 并使用Nanodrop One分光光度计 (赛默飞世尔科技公司 (Thermo Scientific)) 进行定量, 得到110,000D/ $\mu$ mol的产率。

[1381] 纯化和脱盐: 将粗寡核苷酸加载到装有Source 15Q (思拓凡公司 (Cytiva)) 的Waters AP-2玻璃柱 (2.0cm x 20cm) 上。使用以下缓冲液在AKTA150 Pure (通用医疗集团) 上进行纯化: (缓冲液A: 20mM NaOH、20% 乙腈v/v) (缓冲液B: 20mM NaOH、2.5MNaCl、20% 乙

睛v/v)。将具有70%-80%范围内的全长产物的所需级分汇集在一起。然后将汇集的材料在2KD再生纤维素膜上脱盐,然后冻干以获得呈蓬松白色饼状物的寡核苷酸,准备用于缀合。

[1382] WV-46312的制备:根据本披露,可以利用各种技术将寡核苷酸与其他部分缀合。GalNAc缀合的有用方案在下面作为示例进行描述。缀合前材料:WV-47595.01(.01表示批号)。产品材料:WV-46312.01。

试剂	Mol.Wt.用于本方案	当量	体积(mL)
WV-47595	10050.80	1	-
三触角GalNAc酸	2006	1.8	-
HATU	382	1.4	-
DIEA	129	10	-
乙腈		-	4

#### 寡核苷酸水溶液

寡核苷酸溶液	浓度 (mg/mL)	总体积 (mL)	总计 (mg)
WFI 水中的 WV-47595	50	8	400

[1383] 三触角GalNAc酸(羟基保护为-OAc)和HATU在50mL塑料管中称重并溶解在无水乙腈中,然后将DIEA添加到管中。将所得混合物在37°C搅拌10分钟。将冻干的WV-47595在单独的管中用水重构,并将GalNAc混合物添加到寡核苷酸溶液中,并在37°C搅拌60分钟。通过RP-UPLC监测反应。发现反应在1小时内完成。将反应混合物在真空下浓缩以除去乙腈,并将所得的GalNAc缀合的寡核苷酸用浓氨水在37°C处理2小时。通过质谱法和RP-UPLC确认最终产物的形成。将缀合的材料通过阴离子交换色谱纯化,并且通过切向流过滤(TFF)脱盐得到最终产物(目标质量:12110.65;观察到的质量:12112.3)。使用类似的程序制造了各种寡核苷酸和组合物。

[1384] 实例4.所提供的技术可以为产物提供改进的特性和/或活性。

[1385] 如本文所述,在一些实施例中,所提供的技术可以校正突变并提供各种产物(例如蛋白质)的改进的或恢复的水平、特性和/或活性。例如,在一些实施例中,所提供的技术校正突变并提供具有改进的或恢复的水平、特性和/或活性的蛋白质,例如野生型蛋白质。在一些实施例中,所提供的技术提供了增加水平的所需蛋白质,例如,与施用所提供的技术(例如,寡核苷酸、组合物等)之前的相应蛋白质相比,具有改进的特性和/或活性的蛋白质。在一些实施例中,所提供的技术提供增加水平的野生型蛋白质。在一些实施例中,所提供的技术提供增加水平的正确折叠的蛋白质。尤其是,本披露使用SERPINA1中1024G>A的编辑作为实例提供了确认各种这样的益处的数据。

[1386] 在一些实施例中,包含人SERPINA1中的1024G>A突变的细胞、组织或动物被用于评估所提供的技术。在一些实施例中,动物是NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl Tg(SERPINA1\*E342K)#S1cw/SzJ小鼠(例如,参见杰克逊实验室货号:028842;NSG-PiZ,还有Borel F;Tang Q;Gernoux G;Greer C;Wang Z;Barzel A;Kay MA;Shultz LD;Greiner DL;Flotte TR;Brehm MA;Mueller C.2017.Survival Advantage of Both Human Hepatocyte

Xenografts and Genome-Edited Hepatocytes for Treatment of alpha-1Antitrypsin Deficiency. [人肝细胞异种移植物和基因组编辑的肝细胞治疗 $\alpha$ -1抗胰蛋白酶缺乏症的生存优势] *Mol Ther* [分子疗法] 25(11):2477-2489 PubMed:29032169 MGI:J:243726, 和 Li S; Ling C; Zhong L; Li M; Su Q; He R; Tang Q; Greiner DL; Shultz LD; Brehm MA; Flotte TR; Mueller C; Srivastava A; Gao G. 2015. Efficient and Targeted Transduction of Nonhuman Primate Liver With Systemically Delivered Optimized AAV3B Vectors. [用系统递送的优化AAV3B载体高效和靶向转导非人灵长类动物肝] *Mol Ther* [分子疗法] 23(12):1867-76 PubMed:26403887 MGI:J:230567)。在一些实施例中,来自这样的动物的细胞、组织或器官被用于评估所提供的技术。

[1387] 在一些实施例中,将原代鼠肝细胞接种到96孔板的孔中,每个测定时间点一个板。在合适的时间段(例如24小时)后,施用寡核苷酸组合物,例如,在一些实施例中,使用合适的技术(例如RNAiMAX,如制造商的说明)以25nM最终寡核苷酸浓度用寡核苷酸组合物转染细胞。在合适的时间点(例如120小时)收集培养基用于蛋白质分析(例如,使用ELISA),并收集细胞用于RNA编辑分析(例如,在RNA裂解缓冲液(普洛麦格公司(Promega))中用于以后的测序)。

[1388] ELISA. 在一些实施例中,根据制造商的说明,使用A1AT ELISA测定,例如Abcam-ab108799测定,评估A1AT蛋白浓度。在一些实施例中,使用在稀释剂中稀释至25ng/ml的重组A1AT蛋白生成标准品并连续稀释2倍7个点。将细胞培养基通过以3000g离心10分钟澄清,然后在稀释剂中稀释1至400。将制备好的标准品和稀释的培养基添加到包被并封闭的96孔板的SERPINA1抗体孔中,并在室温下孵育2小时。用提供的ELISA洗涤缓冲液洗涤板6次(300 $\mu$ L/孔),然后将生物素化的SERPINA1抗体在稀释剂中稀释至1X,并添加到每个孔中在室温下1小时。如前所述清洗孔,将在稀释剂中稀释至1X的链霉亲和素-过氧化物酶复合物添加到每个孔中在室温下30分钟。在将3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)添加到每个孔之前最后一次清洗孔,并将板显影20分钟,之后添加终止溶液。然后在450nm和570nm读取板。从450nm读数中减去570nm处的读数以说明光学不完整性,并对板进行定量。某些数据显示在图1中。

[1389] 如图1所示,所提供的技术可以提供与病症、障碍或疾病相关的突变(例如SERPINA1(SA1)的PiZ突变)的编辑。尤其是,所提供的技术不仅可以提供在RNA水平上的编辑,还可以提供改进的蛋白质水平、特性和/或活性。例如,如图1所示,除了RNA编辑外,所提供的技术可以提供增加的分泌蛋白水平(例如,与非靶向(NT)对照WV-37317相比,WV-38621、WV-38622和WV-38630),这些分泌蛋白可以包括与未经编辑的RNA所编码的蛋白(例如,包含E342K突变的蛋白质(来自1024G>A突变))相比具有改进的折叠性和/或更高的活性的蛋白质。如本领域技术人员所理解的,水平、特性和/或活性,包括序列,也可以使用其他技术例如质谱法来评估。在一些实施例中,基于LC-MS的蛋白质组学技术用于定量A1AT蛋白(例如,野生型和/或突变蛋白(例如,由经编辑或未经编辑的RNA编码))。

[1390] 实例5. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1391] 设计并评估了各种寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。寡核苷酸被设计为在一个结构域(5')中具有大多数2'-F修饰的糖,在另一个结构域(3')中具有大多数2'-OMe修饰的糖,或者在一个结构域(5')中具有大多数2'-OMe修饰的糖,在另一个结构域(5')中具

有大多数2'-F。然后在稳定表达SERPINA1-PIZ等位基因的293T或ARPE19细胞中筛选寡核苷酸组合物。如图2(a)和(b)所示,包含某些序列和/或与靶腺苷(例如,C)相对的核苷的5'-和/或3'侧长度某些寡核苷酸组合物提供更高水平的编辑。在一些实施例中,WV-42028和WV-42029在所有三种细胞系293T-SERPINA1-ADAR1-p110p110、293T-SERPINA1-p150和ARPE19-SERPINA1中给出比WV-42027更高的编辑水平。在一些实施例中,如图2(a)和(b)所示,当编辑位点从一个结构域移动到另一个结构域时,移动周围的2'化学(例如,2'-OMe修饰的糖)可以改善编辑效率。在一些实施例中,观察到当编辑位点位于结构域(5')中时,具有包含多个2'-OMe修饰的糖的结构域(以及任选地包含多个2'-F修饰的糖的另一个结构域)可能会有所帮助。

[1392] 实例6. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1393] 设计并评估了各种寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。寡核苷酸设计为在结构域(3')中包含8-氧代-dA碱基修饰。然后在稳定表达SERPINA1-PIZ等位基因的293T或SF8628细胞中筛选寡核苷酸。在一些实施例中,WV-42680和WV-42681在所有三种细胞系293T-SERPINA1-ADAR1-p110、293T-SERPINA1-p150和SF8628-SERPINA1中给出比WV-42679更高的编辑水平(图3)。

[1394] 实例7. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1395] 在PIZ靶位点周围设计并评估在编辑位点处或周围包含各种经修饰的核碱基(例如b008U)和/或各种类型的糖(例如DNA糖、RNA糖等)的寡核苷酸。在稳定表达SERPINA1-PIZ等位基因的293T或SF8628细胞中筛选寡核苷酸组合物。在一些实施例中,WV-38621、WV-38622、WV-28923、WV-42328、WV-38629、WV-38630和WV-42327在293T-SERPINA1-ADAR1-p110、293T-SERPINA1-p150和SF8628-SERPINA1中给出比WV-38620更高的编辑水平(图4)。

[1396] 实例8. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1397] 设计和评估了包含各种碱基序列、经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等)和/或经修饰的核苷酸间键联(例如、中性核苷酸间键联例如n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中,通过GalNAc介导的摄取以多剂量浓度施用寡核苷酸。如图5所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,如图5所示,例如在结构域2(3')中添加一个或多个2'F修饰的糖可以提高编辑效率。

[1398] 实例9. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1399] 设计和评估了包含各种类型糖(包括经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等))和经修饰的核苷酸间键联(例如、不带负电荷的核苷酸间键联n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联)的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中,通过裸式摄取以多剂量浓度施用寡核苷酸。在一些实施例中,如图6所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。

[1400] 实例10. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1401] 设计和评估了包含含有经修饰的碱基(例如、8-氧代-dA)、各种类型糖(包括经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等))和/或经修饰的核苷酸间键联(例如、不带负电荷的核苷酸间键联n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中,通过裸式摄取施用寡核苷酸。在一些实施例中,与

WV-42028相比,WV-42680、WV-42935和WV-42938显示出更高的编辑效率。在一些实施例中,如图7所示,经修饰的碱基(例如、8-氧代-dA)、某些糖(例如、阿糖胞苷)或其组合可展示了增加的编辑效率。

[1402] 实例11.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1403] 设计和评估了包含含有经修饰的碱基(例如、8-氧代-dA)、各种类型糖(包括经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等))和/或经修饰的核苷酸间键联(例如、不带负电荷的核苷酸间键联n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的寡核苷酸。某些寡核苷酸可以靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取将寡核苷酸施用到表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中。在一些实施例中,与WV-42679和WV-42027相比,WV-42680和WV-42028显示出更高的编辑水平。在一些实施例中,如图8所示,将靶序列移动1nt可以提高编辑效率。在一些实施例中,包含经修饰的碱基(例如、8-氧代-dA)可提高编辑效率。

[1404] 实例12.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1405] 设计和评估了包含含有经修饰的碱基(例如、8-氧代-dA)、各种类型糖(包括经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等))和/或经修饰的核苷酸间键联(例如、不带负电荷的核苷酸间键联n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。在一些实施例中,与WV-42680相比,WV-43112、WV-431113和WV-43114显示出更高的编辑水平。参见图9。在一些实施例中,向寡核苷酸添加2'-F修饰的糖,例如,在结构域2(3')中,可以增加编辑活性。在一些实施例中,在5'末端添加2'-OMe修饰的糖可以提高编辑效率。

[1406] 实例13.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1407] 设计和评估了包含含有经修饰的碱基、各种类型糖(包括经修饰的糖(例如、2'-F、2'-OMe等))和/或经修饰的核苷酸间键联(例如、不带负电荷的核苷酸间键联n001、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的寡核苷酸。某些寡核苷酸可以靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图10所示,在一些实施例中,在不同位置包含经修饰的核苷酸间键联的各种寡核苷酸可提供编辑活性。在一些实施例中,与其他位置相比,在某些位置具有不带负电荷的核苷酸间键联例如n001的寡核苷酸提供更高的活性。

[1408] 实例14.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1409] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图11所示,在一些实施例中,Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联可以在不同位置掺入以提供具有编辑活性的寡核苷酸,并且在某些位点可以提高编辑水平。

[1410] 实例15.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1411] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图12所示,在一些实施例中,向例如某些寡核苷酸中包含多个2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如2'-OMe修饰的糖))的结构域(如结构域2(3'))中的某些位点添加2'-F修饰的糖可能会增加或维持编辑水平。

[1412] 实例16.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1413] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图13所示,在一些实施例中,向例如某些寡核苷酸中的包含多个2'-F修饰的糖的结构域(诸如结构域-1(5'))中的某些位点添加2'-OR修饰糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基)(例如,2'-OMe修饰的糖)可能会增加或维持编辑水平。在一些实施例中,在5'末端和/或3'末端寡核苷酸处利用2'-OR修饰的糖,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe修饰的糖)。

[1414] 实例17.各种长度的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。

[1415] 设计并评估了包含各种修饰和碱基序列以及不同长度(例如、28nt、29nt、30nt、31nt、32nt)的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图14所示,各种长度的寡核苷酸,包括那些比其他报道的显著更短的寡核苷酸,都可以提供编辑活性。在一些实施例中,31nt和32nt寡核苷酸可以提供改进的编辑水平。

[1416] 实例18.包含各种类型的核苷酸间键联的寡核苷酸的组合物可以提供编辑。

[1417] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图15所示,在一些实施例中,天然磷酸酯键联、不带负电荷的核苷酸间键联例如n001和硫代磷酸酯核苷酸间键联可用于各种位置以提供编辑。在一些实施例中,某些位点处(例如结构域2(3'))的某些位置的天然磷酸酯键联可以提高编辑水平。在一些实施例中,某些位点处的各种核苷酸间键联和/或立体化学的某些组合可以提高编辑水平。

[1418] 实例19.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1419] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过GalNAc介导的摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图16所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,在寡核苷酸的5'末端和/或3'末端处添加2'-OR修饰的糖(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe修饰的糖))可以提高编辑水平。

[1420] 实例20.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1421] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试了GalNAc缀合的寡核苷酸。如图17所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,在某些位置处包含增加水平的2'-F修饰的糖和/或某些碱基/核碱基(例如、8-氧代-dA、b001A、b008U、I等)的寡核苷酸可以提供提高的编辑水平。

[1422] 实例21.所提供的编辑区可以改进编辑。

[1423] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,以及各种编辑区,包括与靶腺苷相对的核苷周围的各种序列。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式介导的摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图18(a)-(c)所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,与完全互补的编辑区相比,距编辑位点最近的5'和/或3'位置处的某些错配或摇摆碱基对可以降低编辑

水平。在一些实施例中,在距离编辑位点最近的5'和/或3'位置处的某些错配或摇摆碱基对维持或提高编辑水平。

[1424] 实例22.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1425] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。通过裸式介导的摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图19所示,各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,在编辑位点附近引入2'-DNA核苷(例如,T而不是2'-F U) (例如,作为N<sub>1</sub>)可以提高编辑水平。

[1426] 实例23.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1427] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。通过裸式介导的摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。各种这样的寡核苷酸可以提供编辑活性。如图20所示,在一些实施例中,提高2'-F修饰的糖的水平可提高编辑水平。

[1428] 实例24.所提供的各种设计的寡核苷酸可以提供编辑。

[1429] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。如图21所示,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,R<sub>p</sub>、S<sub>p</sub>及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸与其他寡核苷酸相比提供更高的编辑水平。

[1430] 实例25.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1431] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。如图22所示,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,R<sub>p</sub>、S<sub>p</sub>及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸与其他寡核苷酸相比提供更高的编辑水平。

[1432] 实例26.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1433] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。如图23所示,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,R<sub>p</sub>、S<sub>p</sub>及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸与其他寡核苷酸相比提供更高的编辑水平。在一些实施例中,在5'和/或3'末端处的2'-OR修饰的糖,其中R不是氢(例如,当R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基时),例如2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸在5'和3'末端两者处包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,寡核

苷酸在5'末端处包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,寡核苷酸在3'末端处包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。

[1434] 实例27.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1435] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。如图24所示,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸与其他寡核苷酸相比提供更高的编辑水平。在一些实施例中,在5'和/或3'末端处的2'-OR修饰的糖,其中R不是氢(例如,当R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基时),例如2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸在5'和/或3'末端处包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,在具有经修饰的核苷酸间键联(例如不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸胍核苷酸间键联,例如n001)、硫代磷酸酯核苷酸间键联等)的末端区(例如,如图24中所示的5'末端区)可使用天然DNA糖。

[1436] 实例28.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1437] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图25所示,包含各种类型的糖、核碱基和核苷酸间键联,包括与靶腺苷相对的核苷处和/或周围的各种核碱基、糖、核苷(例如,b001A、b001rA、Csm15、I等)的各种寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,某些寡核苷酸提供更高的编辑水平。

[1438] 实例29.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1439] 在一些实施例中,寡核苷酸在与靶核酸比对时包含错配和/或摇摆碱基对。如本文所展示的,各种这样的寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,在某些位置包含G-U摇摆碱基对的寡核苷酸被设计为靶向PIZ靶位点。通过裸式摄取在表达人SERPINA1-PIZ的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图26所示,在各种实施例中,包含G-U摇摆碱基对的寡核苷酸提供编辑活性。

[1440] 实例30.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1441] 包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,Rp、Sp及其模式)及其模式,包括编辑区的各种结构特征(例如,各种类型的糖、核碱基、核苷、键联等,诸如对于N<sub>1</sub>、N<sub>0</sub>、N<sub>-1</sub>、N<sub>-2</sub>等而言的5MRm5dC、5MSm5dC、5MSm5fC、fC、dC、m5dC、dA、5MSdT、5MRdT等)的寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,包含5'-(R)-Me或5'-(S)-Me修饰的糖的寡核苷酸提供编辑活性。某些数据显示在图27中。通过GalNAc介导的摄取以各种浓度在原代人肝细胞中测试寡核苷酸

[1442] 实例31.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1443] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向ACTB靶位点。通过GalNAc介导的摄取以各种浓度在原代人肝细胞中测试寡核苷酸。如图28所示,各种寡核苷酸,包括那些包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如\*n001)和/或UNA(解锁核酸)糖的寡核苷酸可以提供编辑活性。

[1444] 实例32.各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1445] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-帽。在一些实施例中,寡核苷酸包含无碱基5'-帽。在一些实施例中,寡核苷酸包含另外的化学部分,例如,其连接到寡核苷酸的5'末端。制备并获得了多种这样的寡核苷酸。在一些实施例中,通过GalNAc介导的摄取在原代人肝细胞中测试寡核苷酸。如图29所示,这样的寡核苷酸可以提供编辑活性。

[1446] 实例33.某些编辑区提供高编辑水平。

[1447] 尤其是,本披露提供了对编辑特别有用的编辑区。在一些实施例中,本披露提供了对编辑特别有用的5'-N<sub>1</sub>N<sub>0</sub>N<sub>-1</sub>-3'元件。在一些实施例中,它们与直接位于其5'和3'的靶腺苷和核苷完全互补。在一些实施例中,它们包含一个或多个错配和/或摇摆碱基对。在一些实施例中,包含(包括在N<sub>-1</sub>和/或N<sub>1</sub>处)错配和/或摇摆碱基对的那些,与不存在这样的错配和/或摇摆碱基对相比提供相当或更高水平的编辑。在一些实施例中,设计和评估了包含直接位于编辑位点5'和3'或在编辑位点处的各种核苷的寡核苷酸,以靶向ACTB靶标为例。在一些实施例中,设计表达全长ACTB cDNA的质粒报告基因(具有直接在靶腺苷的5'和3'的核苷的各种组合)并用对应的寡核苷酸进行测试,所述对应的寡核苷酸各自以直接在编辑位点的5'和3'的碱基和/或糖的独特组合为特征。通过转染在293T细胞中测试质粒和寡核苷酸。如下所示,在一些实施例中,在直接位于编辑位点的5'和/或3'包含某些错配和/或摇摆碱基对的寡核苷酸可以维持或提高编辑水平。每个靶标的最近邻居的组合在图表顶部水平地表示(5'到3'取向),并且寡核苷酸中编辑位点的最近邻居的组合在图表左侧垂直表示(3'到5')。内源性ACTB转录物用\*表示。与寡核苷酸中的靶腺苷相对的是dC。绘制了每个报告的寡核苷酸组合的平均编辑值。从上到下的寡核苷酸是WV-42331到WV-42335、WV-37317、WV-42337到WV-42349。

	AA	AU	AG	AC	UA	UU	UG	UC	GA	GU	GG	GC	CA	CU	CG	CC	UG*
TU	51.8	22.3	58.9	17.1	29.0	0.9	28.2	2.7	29.5	2.1	22.6	0.9	5.9	2.1	4.4	1.6	8.0
TA	20.2	51.3	28.4	35.9	3.0	27.0	3.5	2.9	4.7	23.4	4.1	1.8	1.8	8.8	3.1	2.5	1.4
TC	50.5	25.5	58.4	12.3	11.9	2.5	60.2	1.0	30.5	3.0	40.7	2.4	1.6	1.7	22.3	1.2	37.0
TG	32.6	46.1	36.7	51.2	3.4	11.4	5.4	45.2	20.6	7.8	14.5	27.3	4.2	4.3	4.6	12.5	1.9
AU	36.4	4.7	42.1	4.8	65.4	51.6	70.3	55.6	37.4	3.8	28.0	2.6	12.6	1.7	12.9	1.8	75.1
AA	4.4	43.7	6.3	8.7	52.4	63.5	54.0	61.0	6.7	29.3	5.4	3.3	7.4	12.8	2.3	4.3	42.3
AC	23.0	3.3	52.7	2.2	69.0	57.7	75.2	57.1	38.7	5.2	48.3	4.0	6.5	0.4	36.2	3.8	78.7
AG	5.4	16.6	17.4	43.2	56.9	60.9	67.2	71.3	21.1	13.5	16.7	40.5	2.2	4.9	4.0	20.0	61.5
CU	38.2	10.8	41.6	13.6	30.6	20.6	37.6	29.2	36.0	6.8	37.1	9.6	13.9	10.2	25.3	12.3	17.6
CA	4.4	44.9	7.3	9.8	3.4	31.6	3.2	5.3	15.3	19.1	19.9	9.7	1.2	7.5	1.7	0.0	2.8
CC	24.9	3.3	52.7	3.2	9.9	1.5	54.3	1.3	50.8	9.9	41.2	3.8	3.4	1.3	21.7	2.4	27.0
CG	4.8	17.0	15.5	48.3	3.7	6.2	9.2	43.7	16.5	16.1	20.2	24.6	0.7	0.6	2.2	7.9	3.5
IU	56.2	16.7	60.2	9.5	57.9	15.0	66.3	12.0	46.7	6.0	38.3	2.4	52.2	45.0	56.6	36.4	47.0
IA	6.6	55.9	13.1	19.0	8.2	56.0	17.2	19.0	8.3	38.6	8.4	4.1	35.3	54.8	45.0	44.5	4.3
IC	45.7	12.6	60.7	5.2	49.5	14.5	64.6	11.2	46.3	6.2	48.8	4.7	48.8	42.9	58.3	32.3	69.2
IG	18.9	42.9	39.4	53.0	16.2	43.7	39.5	70.0	33.3	22.5	27.6	49.3	39.0	54.0	54.3	52.3	18.0
GU	48.6	8.5	47.7	4.6	34.2	7.3	37.9	3.9	53.4	7.3	45.8	3.1	42.9	25.9	58.5	21.0	12.4
GA	5.1	47.8	8.1	9.9	3.7	32.2	5.8	7.9	11.1	42.4	12.0	7.2	24.7	48.1	38.6	30.1	1.4
GC	36.9	7.5	62.7	4.3	37.3	5.3	57.2	2.6	52.1	10.7	49.9	4.1	49.8	29.8	57.6	20.3	35.0
GG	10.2	29.3	24.8	53.5	7.0	18.6	16.9	49.6	32.2	31.3	29.9	49.7	33.6	37.3	49.8	46.6	7.5

[1448] 实例34. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1449] 在一些实施例中,寡核苷酸包含5'-帽。在一些实施例中,寡核苷酸包含无碱基5'-

帽。在一些实施例中，寡核苷酸包含另外的化学部分，例如，其连接到寡核苷酸的5'末端。制备并获得了多种这样的寡核苷酸。在一些实施例中，随后在表达人ADAR-p110的原代小鼠肝细胞中测试寡核苷酸。如图30所示，这样的寡核苷酸可以提供编辑活性。

[1450] 实例35. 所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1451] 尤其是，本披露证明所提供的寡核苷酸可以提供体内编辑。在实例中，非人灵长类动物(NHP)以50mg/kg (3X食蟹猴)或PBS作为对照(1X食蟹猴)给予单次皮下(SC)剂量的WV-37317。给药细节如下所示。第8天处死动物(第1天给药，第8天收集)，并收集所有组织用于PK/PD分析。如图31(a)所示，多个组织(肾、肝、肺、心脏、胰腺、肺静脉和动脉、十二指肠、回肠、空肠、PBMC)显示出ACTB编辑，并且在所有组织中检测到高水平的WV-37317(见图31, (b))。尤其是，本披露的寡核苷酸可以例如通过SC施用在NHP中递送，从而允许在多种组织类型中进行广泛的组织分布和有效的内源性ADAR介导的编辑。

组	TA	描述	品种	性别	剂量	给药方案	剂量体积	NHP #	尸体剖检
1	PBS	NA	食蟹猴, 初次亚洲原种	1M	n/a	s.c. (第1天)	1 ml/kg	1	第8天
2	WV-37317	ACTB		2M, 1F	50 mpk	s.c. (第1天)	1 ml/kg	3	第8天

[1452] 实例36. 所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1453] 尤其是，本披露证明所提供的寡核苷酸可以提供体内编辑。在实例中，非人灵长类动物(NHP)以10mg或5mg (6X食蟹猴)或PBS作为对照(1X食蟹猴)给予单次鞘内(IT)剂量的WV-37317。给药细节如下所示。在第8天或第29天处死动物(第1天给药，第8天和第29天收集)，并收集组织用于PK/PD分析。如图32(a)所示，多个组织(例如，脊髓、皮层、海马、中脑、小脑、胼胝体和视神经等)显示出ACTB编辑。如图32(b)所示，在各种CNS组织中检测到WV-37317。尤其是，本披露的寡核苷酸可以例如通过IT施用在NHP中递送，并且在包括CNS组织的各种组织中提供广泛分布和有效的内源性ADAR介导的编辑。

组	测试物品	描述	剂量 (mg)	剂量方案	总#/组	性别	尸体剖检时间点
1	PBS	control	NA	IT x 1	1	M	第 8 天
2	WV-37317	SP-PN	5		2	M/F	第 8 天
3	WV-37317	SP-PN	10		2	M/F	第 8 天
4	WV-37317	SP-PN	10		2	M/F	第 29 天

[1454] 实例37. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1455] 在一些实施例中,寡核苷酸包括双链体化寡核苷酸和靶向寡核苷酸。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可与例如双链体化核酸和寡核苷酸形成双链体。在一些实施例中,寡核苷酸和相应的双链体化寡核苷酸。在一些实施例中,寡核苷酸被设计成靶向荧光素酶报告子靶标并被评估。在一些实施例中,设计组合了共享16bp或18bp互补序列的两个寡核苷酸片段,允许两个片段在细胞内相关联。通过在293T细胞中转染以组合来测试某些寡核苷酸。通过确定cLUC/gLUC比率来计算编辑效率。如图33所示,在一些实施例中,寡核苷酸片段的某些组合可以提供编辑。图35中提供了某些双链体设计作为示例。正如本领域技术人员所理解的,根据本披露,各种合适的长度可用于部分、区、寡核苷酸等。

[1456] 实例38. 各种寡核苷酸组合物可以提供编辑。

[1457] 在一些实施例中,寡核苷酸包含茎环以及双链和单链区。在一些实施例中,这样的寡核苷酸可用作双链体化寡核苷酸以与包含双链体化区和靶向区的寡核苷酸形成复合物。图35显示了示例设计。正如本领域技术人员所理解的,根据本披露,各种合适的长度可用于部分、区、寡核苷酸等。例如,某些寡核苷酸被设计为靶向荧光素酶报告子构建体中的位点。设计组合了共享互补序列(例如15bp)的两个寡核苷酸,允许两个片段相关联并在细胞内形成茎环复合物。通过在293T细胞中转染以组合来测试寡核苷酸。通过确定cLUC/gLUC比率来计算编辑效率。如图34所示,各种组合提供了编辑活性。

[1458] 实例39. 各种寡核苷酸组合物可以提供体内编辑。

[1459] 尤其是,所提供的技术可以在体内提供编辑。在一些实施例中,显示寡核苷酸(例如,WV-43120、WV-44464、WV-44465)证实了本文所述的人ADAR (huADAR) 转基因小鼠中SERPINA1-Z等位基因的体内编辑。使用了JAX huADAR x SA1小鼠品系的三十二只雄性小鼠,它们都是SA1-PiZ杂合子。其中,二十只小鼠也是huADAR-p110杂合子,十二只小鼠是小鼠ADAR野生型(无huADAR-p110表达)。UGP2用作huADAR活性的对照。小鼠每隔一天皮下(s.c.)给药10mg/kg选定的寡核苷酸或PBS对照,持续三天(第0、2、4天)。在给药前和治疗后第7天收集小鼠的血清,并在第7天收集肝活检。对样品进行PK和PD分析以及杂交ELISA。以下提供了某些信息:

TA	描述	品种	性别	剂量	给药方案	小鼠#
PBS	NA	-对于 SA1-PiZ 是 Het -对于 huADAR-p110 是 Het	M	n/a	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-43120	SA1-PiZ		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-44464	SA1-PiZ		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-44465	SA1-PiZ		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-38702	UGP2		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
PBS	NA	-对于 SA1-PiZ 是 Het -对于小鼠 ADAR 是 WT (无 huADAR-p110 表达)	M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-44464	SA1-PiZ		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4
WV-44465	SA1-PiZ		M	10 mpk	s.c. (第 0、2、4 天)	4

[1460] 在一些实施例中,将来自转基因模型(表达人ADARp110和人SERPINA1-Z等位基因)的原代小鼠肝细胞用各种GalNAc缀合的寡核苷酸处理48小时。通过桑格测序测量RNA编辑。在一些实施例中,如图36所示,各种寡核苷酸提供SERPINA1-Z等位基因的体外编辑。

[1461] 第7天从huADAR/SA1转基因小鼠收集的肝活检样品进行了桑格测序以测量编辑百分比。在一些实施例中,如图37中证实的,各种寡核苷酸组合物为SERPINA1-Z等位基因提供高达约20%、高达约30%或高达约40%的体内编辑活性。

[1462] 从给药前和治疗后第7天从小鼠收集的血清样品,通过市售的ELISA试剂盒(艾博抗公司)确定血清中总人AAT的浓度。在一些实施例中,如图38所示,通过给予各种寡核苷酸进行体内编辑增加了血清中总人AAT浓度。

[1463] 从给药前和治疗后第7天从小鼠收集的血清样品,通过质谱法确定Z(突变体)与M(野生型)AAT同种型的相对丰度。然后将相对丰度应用于从ELISA获得的绝对浓度来计算每种同种型的绝对量(参见图38)。在一些实施例中,如图39中所证实,WV-44464处理的编辑导致血清中野生型AAT蛋白的分泌和突变体Z-AAT蛋白的显著减少。如本文所确认,在一些实施例中,所提供的技术可提高血液中的野生型SERPINA1蛋白水平。在一些实施例中,所提供的技术可降低血液中的突变体SERPINA1蛋白水平。在一些实施例中,如图38所示,血液

中约75%的总AAT是野生型。

[1464] 下面提供了某些数据作为示例。

huADAR小鼠中的体内SERPINA1-Z等位基因编辑(例如,图37):

ID	PBS				WV-43120				WV-44464			
编辑	1.4	0	1.38	0	15	16	18.7	17.6	39.8	38.8	36.4	37.2
ID	WV-44465				WV-38702 (UGP2 对照)							
编辑	29.8	33.2	26	28.4	0	0.12	0	0				

血清中的人AAT浓度(ELISA)(例如,图38):

ID	给药前				第7天			
PBS	256.527	266.166	239.436	235.305	127.656	177.39	182.655	193.914
WV-38702	280.017	252.153	298.485	217.242	194.643	247.293	217.242	177.633
WV-43120	208.656	239.274	269.73	189.783	241.38	365.472	387.666	255.636
WV-44464	296.703	303.507	325.296	247.941	527.229	493.695	572.508	463.077
WV-44465	280.26	193.104	195.615	187.353	417.96	410.67	372.762	356.643

血清中的AAI同种型(质谱;PBS和WV-44464)(例如,图39):

	PiM (WT)				PiZ (E342K 突变体)			
给药前	0.21	0.24	0.24	0.21	256.32	265.93	239.2	235.09
第7天	0.13	0.16	0.14	0.16	127.53	177.23	182.52	193.75
给药前	0.31	0.13	0.28	0.17	296.39	303.37	325.02	247.77
第7天	385.89	346.79	392.73	316.84	141.34	146.91	179.77	146.24

血清中的弹性蛋白酶抑制活性(例如,图40)

ID	给药前	第7天

<b>PBS</b>	<b>19.52</b>	<b>23.94</b>	<b>34.47</b>	<b>23.75</b>	<b>18.28</b>	<b>30.92</b>	<b>46.04</b>	<b>30.03</b>
<b>WV-43120</b>	<b>17.89</b>	<b>15.23</b>	<b>21.31</b>	<b>15.16</b>	<b>35.29</b>	<b>36.63</b>	<b>36.9</b>	<b>21.82</b>
<b>WV-44464</b>	<b>33.11</b>	<b>27.94</b>	<b>26.44</b>	<b>23.85</b>	<b>64.01</b>	<b>73.62</b>	<b>79.2</b>	<b>67.21</b>
<b>WV-44465</b>	<b>36.58</b>	<b>29.43</b>	<b>23.4</b>	<b>25.86</b>	<b>58.68</b>	<b>57.7</b>	<b>43.65</b>	<b>50.53</b>
<b>WV-38702</b>	<b>33.78</b>	<b>25.74</b>	<b>35.88</b>	<b>35.71</b>	<b>23.57</b>	<b>28.97</b>	<b>32.29</b>	<b>26.03</b>

[1465] 已证实所提供的技术可以提供编辑和功能蛋白。从给药前和治疗后第7天从小鼠收集的血清样品,使用市售试剂盒(**EnzChek®**弹性蛋白酶测定试剂盒(E-12056))确定相对弹性蛋白酶抑制活性。将稀释的血清与重组弹性蛋白酶和加荧光标签的弹性蛋白底物一起孵育。弹性蛋白酶的活性可以通过弹性蛋白切割后检测到的荧光信号来检测。相对抑制是针对不存在血清(100%弹性蛋白酶活性)的对照反应计算的。每个样品都以技术性重复运行。尤其是,图40中显示的数据证实,由于提供的技术进行编辑而产生和分泌的野生型AAT蛋白具有功能,例如,用于弹性蛋白酶抑制。

[1466] 尤其是,本文提供的数据证实,表达人ADAR的转基因小鼠模型可用于评估ADAR编辑剂,例如寡核苷酸。在一些实施例中,如本文所证实,提供了SERPINA1Z等位基因mRNA的高达40%或更多的编辑(例如,在某些时间点肝中)。在一些实施例中,所提供的编辑水平接近于对杂合子(MZ)的校正。在一些实施例中,如本文所证实,所提供的技术提供体内循环功能性野生型M-AAT蛋白的显著增加。在一些实施例中,所提供的技术降低了例如肝、血清等中的突变体Z-AAT蛋白的水平。

[1467] 实例40. 所提供的技术可以调节蛋白质-蛋白质相互作用。

[1468] 如本文所证实,所提供的技术尤其可以调节蛋白质-蛋白质相互作用,例如,通过mRNA中的腺苷编辑和改变其编码的多肽中氨基酸残基的身份。在一些实施例中,所提供的技术通过例如编辑一个或多个蛋白质的一个或多个氨基酸残基来调节蛋白质-蛋白质相互作用、活性和/或功能。如本文所示,编辑Keap1或Nrf2的各残基可以调节它们的相互作用、活性和/或功能。例如,在一些实施例中,编辑Keap1或Nrf2的残基增加Nrf2的水平、可被Nrf2活化的核酸的转录和/或受Nrf2调节的基因的表达。据报道,Keap1可作用于NRF2并介导NRF2蛋白酶体降解。在一些实施例中,破坏Keap1和NRF2之间的相互作用允许NRF2的转录后上调和NRF2易位到细胞核,在那里它可以活化受NRF2调节的基因的转录。如本文所示,各种寡核苷酸被设计为靶向Keap1或Nrf2转录物中的特定编辑位点。如图41(a)所示,各种寡核苷酸可以在Keap1或NRF2转录物的多个位点提供编辑。在一些实施例中,编辑Keap1和/或Nrf2转录物可改变受NRF2调节的下游基因(例如SRGN、HMOX1、SLC7a11、NQO1等,如图41所示,(b))的表达水平。在一些实施例中,寡核苷酸提供改变氨基酸残基的Keap1或NRF2转录物编辑,这可以破坏Keap1/NRF2复合物的形成和稳定性,并调节NRF2水平、易位和/或受NRF2调节的核酸的表达。在一些实施例中,某些寡核苷酸与其他寡核苷酸相比提供更高的编辑水平。在一些实施例中,寡核苷酸在5'和/或3'末端处包含不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001)。在一些实施例中,寡核苷酸在5'末端和/或3'末

端包含2'-OR修饰的糖,其中R不是氢(例如,其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基),例如2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸在5'末端和/或3'末端包含2'-F修饰的糖。本领域技术人员理解本文所述的各种寡核苷酸设计可用于调节多肽之间的相互作用。

[1469] 实例41.所提供的技术可以提供稳健持久的体内编辑。

[1470] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸组合物尤其可以在多种系统中,例如在体内的多种细胞、组织和/或器官中提供编辑活性。图42中呈现了某些数据,从而证实所提供的技术可以在体内在多种组织(包括CNS)中提供持久的编辑。通过脑室内(ICV)注射,用单次100ug剂量的WV-40590寡核苷酸组合物处理本文所述的人ADAR(hADAR)转基因小鼠。在给药后1周、2周、4周、8周、12周和16周处死小鼠,并收集和分析多个CNS组织。如图42所示,在所有分析的组织中实现了UGP2 mRNA编辑。在一些实施例中,UGP2编辑水平在分析的各个时间点之间是相当的。尤其是,这些数据表明,所提供的技术在体内对各种组织的编辑至少16周有效。

[1471] 实例42.所提供的技术可以提供编辑。

[1472] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向UGP2转录物中的特定编辑位点。如图43和图44所示,包含各种类型的糖(例如,DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是氢)及其模式)、核碱基(经修饰和未经修饰的碱基及其模式)、核苷酸间键联(例如,天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式)和立体化学(例如,R<sub>p</sub>、S<sub>p</sub>及其模式)及其模式的寡核苷酸可以提供编辑活性。在一些实施例中,第二结构域(例如,在N<sub>0</sub>的3'侧区中;在一些实施例中,从N<sub>2</sub>到寡核苷酸的3'末端)中的2'-F和/或第一结构域(例如,在N<sub>0</sub>的5'侧区中;在一些实施例中,从寡核苷酸的5'末端到N<sub>2</sub>)和/或第二结构域中的天然磷酸酯键联和/或2'-OR(其中R是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基(例如,2'-OMe、2'-MOE等))提供改进的编辑效率。在人肝细胞(通过裸式摄取)(图43)和IPSC衍生神经元(图44)中测试了寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸在特定浓度下提供比其他更高的编辑。

[1473] 实例43.所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1474] 设计和评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联、立体化学、另外的化学部分等及其模式的寡核苷酸。某些寡核苷酸靶向UGP2转录物中的特定编辑位点。如图45所示,所提供的寡核苷酸组合物可以在体内的各种组织(包括肝)中提供编辑活性。通过皮下施用3次10mg/kg剂量(分别为0、2和4天),在野生型(Wt)和转基因hADAR小鼠中测试寡核苷酸。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物提供比其他更高的编辑。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物在hADAR小鼠中提供比在wt小鼠中高得多的编辑。在一些实施例中,某些寡核苷酸组合物在wt和hADAR小鼠中提供高编辑水平。

[1475] 实例44.所提供的技术可以在各种细胞群中提供编辑。

[1476] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸组合物尤其可以在多种系统中,例如在各种细胞、组织和/或器官中提供编辑活性。某些数据显示在图46中,证实所提供的技术可以在包括PBMC在内的各种免疫细胞群中提供编辑。尤其是,所提供的技术可以在细胞群(例如CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD14<sup>+</sup>、CD19<sup>+</sup>、NK、Treg细胞等)中提供编辑。在活化(添加PHA)或非活化条件下用10uM WV-37317处理细胞。处理后4天通过台式抗体/珠方案分离RNA。如图46所示,在多个免疫细胞群中实现了ACTB mRNA编辑。在一些实施例中,ACTB编辑

水平对于活化和未活化的细胞群是相当的。在一些实施例中，活化的细胞群的ACTB编辑水平增加。

[1477] 实例45.所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1478] 在一些实施例中，本披露提供了寡核苷酸组合物，这些寡核苷酸组合物尤其可以在多种系统中，例如在体内的多种细胞、组织和/或器官中提供编辑活性。图47中呈现了某些数据，从而证实所提供的技术可以在体内（包括眼）中提供编辑。将WV-40590寡核苷酸组合物的单次10ug或50ug ICV注射施用于转基因hADAR小鼠的眼后室。处理后1周和4周分离RNA。如图47所示，在两种剂量下均在眼中实现了稳健的UGP2 mRNA编辑。

[1479] 实例46.所提供的技术可以在体内提供持久的编辑。

[1480] 尤其是，所提供的技术可以在体内提供持久的编辑。某些数据显示在图48中，证实所提供的技术可以在小鼠模型中提供持久的编辑。在第0、2和4天，用PBS或10mg/kg的WV-44464寡核苷酸组合物处理野生型和转基因hADAR小鼠。通过每周抽血收集血清，并通过ELISA和质谱法对总人AAT蛋白（总，野生型（M-AAT）和突变体（Z-AAT））的水平进行定量。如图48所示，所提供的技术可以增加人AAT血清总浓度，并且可以产生或增加野生型AAT蛋白（M-AAT）。在一些实施例中，观察到AAT血清浓度在最后一次给药后30天内高 $\geq 3$ 倍（图48，（a））。在一些实施例中，在最后一次给药后30天内检测到恢复的野生型M-AAT（图48，（b））。

[1481] 实例47.所提供的技术可以提供编辑。

[1482] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸，从而证实各种设计的寡核苷酸可以提供有效的编辑，包括如本文所述的包含以下的那些寡核苷酸：交替的包含2'-F的嵌段和包含2'-OR（其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基（2'-OMe和/或2'-MOE））嵌段的嵌段、天然磷酸键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联（例如，磷酸基胍核苷酸间键联，诸如n001）、受控立体化学、其模式等。如图49和图51所示，包含各种类型的糖（例如，DNA糖、2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖（其中R不是氢）及其模式）、核碱基（经修饰和未经修饰的碱基及其模式）、核苷酸间键联（例如，天然磷酸酯键联、非带负电荷核的核苷酸间键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联及其模式）和立体化学（例如，Rp、Sp及其模式）及其模式的寡核苷酸可以提供稳健编辑活性。将hADAR p110和SERPINA1-Z等位基因转基因的原代小鼠肝细胞通过裸式摄取用GalNAc缀合的寡核苷酸进行处理。处理后48小时收获RNA，并通过桑格测序测量RNA编辑（n=2个生物学重复）。下面提供了某些EC50（nM）数据（图49和图51）：

ID	EC50	95% CI (nM)	ID	EC50	95% CI (nM)
WV-44464	13.67	8.574 - 21.50	WV-46323	4.951	2.790 - 8.281
WV-46312	5.139	3.347 - 7.647	WV-46312	3.52	2.98-4.04
WV-46313	4.304	2.59 - 6.778	WV-47606	3.38	2.78-3.96
WV-46314	6.179	2.798 - 12.54	WV-47608	2.44	1.91-2.96
WV-46315	7.121	3.471 - 13.75	WV-49085	2.70	2.13-3.26
WV-46316	6.957	4.929 - 9.661	WV-49086	2.81	2.28-3.34
WV-46317	5.34	3.743 - 7.471	WV-49087	4.53	3.61-5.43
WV-46318	9.433	6.306 - 13.89	WV-49088	4.03	3.23-4.83
WV-46319	6.068	2.971 - 11.57	WV-49089	6.14	5.06-7.21
WV-46320	7.058	3.923 - 12.17	WV-49090	2.46	2.14-2.76
WV-46321	9.851	5.987 - 15.84	WV-49092	3.47	2.97-3.96
WV-46322	6.574	4.944 - 8.657			

[1483] 实例48.所提供的技术可以在体内提供编辑。

[1484] 设计并评估了包含各种类型的糖、核碱基、核苷酸间键联和立体化学及其模式的寡核苷酸,包括如本文所述的包含以下的那些寡核苷酸:交替的包含2'-F的嵌段和包含2'-OR(其中R是C<sub>1-6</sub>脂肪族基(2'-OMe和/或2'-MOE))嵌段的嵌段、天然磷酸键联、硫代磷酸酯核苷酸间键联、不带负电荷的核苷酸间键联(例如,磷酰基胍核苷酸间键联,诸如n001)、受控立体化学、其模式等。某些数据显示在图50中,证实所提供的技术可以在小鼠模型中提供稳健的编辑。在第0天、第2天和第4天,通过皮下施用,用指定的寡核苷酸以5mg/kg处理雄性和雌性转基因hADAR小鼠。在治疗后第7天收集肝活检,并通过桑格测序测量RNA编辑(每种性别n=3只动物)。如图50所示,所提供的寡核苷酸组合物可以提供高编辑水平。在一些实施例中,与雌性小鼠相比,某些寡核苷酸组合物可在雄性小鼠中提供更高的编辑水平。

[1485] 实例49.所提供的技术可以在体内提供具有所需特性和功能的经编辑的多肽

[1486] 在一些实施例中,本披露提供了寡核苷酸组合物,这些寡核苷酸组合物尤其可以在多种系统中,例如在体内的多种细胞、组织和/或器官中提供编辑活性并生成具有所需性质和活性的多肽(例如,在一些实施例中,野生型蛋白质)。某些数据呈现在图52中,证实一些实施例中所提供的技术可以在小鼠模型中提供编辑,和/或可以产生提高水平的循环

蛋白质,包括血清中的野生型蛋白质。在第0、2和4天,用PBS或10mg/kg的WV-46312寡核苷酸组合物处理野生型和转基因hADAR小鼠。通过每周抽血收集血清,并通过ELISA和质谱法对总人AAT蛋白(野生型(PiM)和突变体(PiZ))的水平进行定量。如图52所示,相对于参考(例如,给药前水平),所提供的技术可以将AAT血清浓度增加约4倍或更多,并且可以在血清中产生高水平的野生型AAT。

[1487] 实例50.所提供的技术可以提供体外和体内编辑。

[1488] 尤其是,本实例提供的数据进一步证实所提供的技术可以提供编辑。

[1489] 例如,图53证实包含各种修饰(包括本文所述的各种碱基修饰(例如,s b001A、b001rA、CSM15、b008U等))的寡核苷酸可以编辑靶腺苷。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg) 48小时(裸式)。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1490] 图54证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg) 48小时(裸式)。评估包含经修饰的核碱基(诸如在靶腺苷编辑位点对面的位置处的b008U)、各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1491] 图55证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg) 48小时(裸式)。评估包含经修饰的核碱基(诸如在靶腺苷编辑位点对面的位置处的b001A)、各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。正如证实的那样,可以在不同的位置使用不带负电荷的核苷酸间键联,例如磷酰基胍核苷酸间键联如n001;也可以使用Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联和天然磷酸酯键。在一些实施例中,第一结构域包含一个或多个Rp硫代磷酸酯核苷酸间键联、一个或多个不带负电荷的核苷酸间键联诸如像n001等磷酰基胍核苷酸间键联(各自任选且独立地处于Rp构型)和一个或多个天然磷酸酯键联。在一些实施例中,如各图所示,当接近N<sub>0</sub>时,例如在位置N<sub>1</sub>处,使用次黄嘌呤代替G。

[1492] 图56证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg) 48小时(裸式)。评估包含经修饰的核碱基(诸如在靶腺苷编辑位点对面的位置处的b001A、b008U、b010U、b001C、b008C、b011U、b002G、b012U等)、各种类型的经修饰的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)等)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其能够提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。据观察,某些碱基修饰可以在测试条件下提供更高的编辑水平。

[1493] 图57证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg) 48小时(裸式)。评估包含经修饰的核碱基(例如b008U、b010U、b001C、b008C、b011U和b012U(例如,在

$N_1$ 、 $N_0$ 等处))、各种类型的经修饰的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001)等)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其能够提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。据观察,某些碱基修饰可以在测试条件下提供更高的编辑水平。

[1494] 图58证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SAITg) 48小时(裸式)。在某些情况下,评估在 $N_0$ 和/或 $N_1$ 处包含经修饰的核苷(例如Usm04、Csm04和rCsm13)的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,观察到在 $N_0$ 和/或 $N_1$ 处的某些修饰(例如,包含UNA糖的那些修饰,例如sm04)与测试条件下的其他修饰相比,提供了更低的编辑水平。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1495] 图59证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SAITg) 48小时(裸式)。评估包含各种修饰(例如Csm11、Csm12、b009Csm11、b009Csm12、Gsm11、Gsm12、Tsm11、Tsm12、L010等)(例如,在 $N_1$ 、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 位置中的一个或多个处)的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。在一些实施例中,与包含无环糖的那些相比,在 $N_{-1}$ 和/或 $N_0$ 处包含天然DNA糖的寡核苷酸提供更高的编辑水平。在一些实施例中,无环糖例如sm11、sm12等可在 $N_1$ 处使用。

[1496] 图60证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SAITg) 48小时(裸式)。包含本文所述的各种修饰及其模式的寡核苷酸可以提供稳健的编辑。例如,在一些实施例中,其2'-基团独立地选自-H和-OH的 $N_0$ 糖可以提供稳健的编辑(例如,天然DNA糖、sm15等)。在一些实施例中, $N_1$ 糖是天然DNA糖或2'-F修饰的糖。在一些实施例中,包含在 $N_1$ 位置的2'-F修饰的糖或天然DNA糖和在 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 位置的天然DNA糖的寡核苷酸可以提供高编辑水平。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1497] 图61证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SAITg) 48小时(裸式)。评估包含各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,包含增加水平的2'-OMe修饰的糖和PO键联的寡核苷酸可以在某些浓度下提供相对于参考相当或增加的编辑活性。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。如所示,其中R不是-H的2'-OR修饰的糖(例如,2'-OMe修饰的糖)可用于各种位置处,包最前和最后几个核苷、第一结构域、第一子结构域、第三子结构域等。在一些实施例中,寡核苷酸中所有糖中的约30%-80%(例如,约30%-75%、30%-70%、30%-65%、30%-60%、30%-50%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、40%-50%或约30%、40%、50%、60%、65%或70%)各自独立地是2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2'-MOE、2'-O-L<sup>B</sup>-4'修饰的糖)。在一些实施例中,寡核苷酸中所有糖中的约30%-80%(例如,约30%-75%、30%-70%、30%-65%、30%-60%、30%-50%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、40%-50%或约30%、40%、50%、60%、65%或70%)各自独立地是2'-OMe或2'-MOE修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸中所有糖中的约

30%-80% (例如,约30%-75%、30%-70%、30%-65%、30%-60%、30%-50%、40%-70%、40%-65%、40%-60%、40%-50%或约30%、40%、50%、60%、65%或70%)各自独立地是2'-OMe修饰的糖。在一些实施例中,寡核苷酸包含一个或多个(例如,1-10、2-10、3-9、3-8、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个)天然寡核苷酸磷酸酯键联。在一些实施例中,在内部使用天然磷酸酯键联(例如,不键合至最前和最后1个、2个或3个核苷)。在一些实施例中,至少约50%、60%、70%、75%、80%、85%或90%的天然磷酸酯键联各自独立地键合至至少一个包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。在一些实施例中,天然磷酸酯键联各自独立地键合至至少一个包含2'-OR修饰的糖,其中R不是-H(例如,2'-OMe、2'-MOE等)。

[1498] 图62证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种类型的核碱基、键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。如本文所示,可以在第一结构域、第一子结构域和/或第三子结构域中的不同位置使用其中R不是-H的2'-OR修饰(例如,2'-OMe)。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1499] 参见,例如,图63、图64、图65、图66、图67、图68、图69和图70的另外数据证实了糖修饰,例如2'-OR修饰,其中R不是-H(例如如2'-OMe、2'-MOE等)、2'-F等,可以与根据本披露的各种其他结构元件一起使用以提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,包含增加水平的2'-OMe和/或2'-MOE修饰的糖和PO键联的寡核苷酸在某些条件下提供相对于参考相当或增加的靶腺苷编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1500] 图71进一步证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酰基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖、sm15等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,在N<sub>2</sub>处包含sm15或天然RNA糖的寡核苷酸可以在某些条件下提供稳健的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1501] 如本文所述,可根据本披露利用各种经修饰的带电核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,不带负电荷的核苷酸间键联是中性核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是磷酰基胍核苷酸间键联。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联是n001。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联具有-OP(O)(-N(R')SO<sub>2</sub>R'')O-或其盐的结构,其中R'和R''中的每一个独立地是如本文所述。在一些实施例中,R'是如本文所述的R。在一些实施例中,R'是-H或任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R'是-H。在一些实施例中,经修饰的核苷酸间键联

具有-OP(O)(-NHSO<sub>2</sub>R”)O-或其盐的结构,其中R”如本文所述。在一些实施例中,R”是如本文所述的R,其中R不是-H。在一些实施例中,R”是任选地经取代的选自C<sub>1-6</sub>脂肪族基和苯基的基团。在一些实施例中,R”是任选地经取代的苯基。例如,在一些实施例中,R”是4-甲基苯基。在一些实施例中,R”是4-(CH<sub>3</sub>C(O)NH)C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>。在一些实施例中,R”是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>脂肪族基。在一些实施例中,R”是任选地经取代的C<sub>1-6</sub>烷基。在一些实施例中,R”是甲基。在一些实施例中,R”是乙基。在一些实施例中,R”是正丙基。在一些实施例中,R”是异丙基。在一些实施例中,R”是正丁基。在一些实施例中,键联是n002。在一些实施例中,键联是n006。在一些实施例中,键联是n020。在一些实施例中,如图72中证实的,这样的核苷酸间键联可用于代替磷酸基胍核苷酸间键联,例如n001。例如,在一些实施例中,这样的核苷酸间键联在5’末端和/或3’末端使用。在一些实施例中,这样的键联在内部使用。例如,在一些实施例中,可以在核苷N<sub>1</sub>和N<sub>2</sub>之间利用这样的核苷酸间键联。对于图72,用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1502] 在一些实施例中,可以使用吗啉单元代替天然糖。图73证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用这样的修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2’-OMe修饰的糖、2’-F修饰的糖、天然DNA糖、吗啉糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,包含吗啉糖和各种修饰(例如,Gsm01、Tsm01、Tsm01n013、Gsm01n013、Tsm18)的寡核苷酸在某些浓度下提供相对于参考相当或减少的靶腺苷编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1503] 图74证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种碱基修饰(例如,b001A、b008U等)、各种类型的键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001)核苷酸间键联)和各种类型的糖(例如,2’-OMe修饰的糖、2’-F修饰的糖、天然DNA糖、吗啉糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,包含吗啉糖和各种修饰(例如Gsm01、Tsm01、Csm01、Csm01n013、Tsm01n013、Gsm01n013、Tsm18)的寡核苷酸在某些浓度下提供相对于参考相当或减少的靶腺苷编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1504] 评估了各种寡核苷酸组合物的剂量反应。某些组合物的某些结果在下面作为实例给出。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠(人ADARp110和SERPINA1-Z等位基因转基因)肝细胞48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。评估包含各种修饰的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。从约1000nM到约0.5nM的连续稀释浓度。在最低浓度下观察到约15%-40%的编辑,在最高浓度下观察到约85%的编辑。

ID	绝对EC50 (nM)	95%CI (nM)
WV-46312	7.74	1.09-14.39
WV-46313	4.19	1.88-6.51
WV-47597	6.74	4.45-9.03
WV-47598	7.02	3.53-10.52

WV-47599	6.73	4.44-9.02
WV-47600	8.24	6.18-10.29
WV-47601	5.03	3.61-6.45
WV-47602	3.76	1.32-6.2
WV-47603	6.93	5.21-8.66
WV-47604	8.01	6.17-9.85
WV-47605	6.98	4.01-9.95
WV-47606	4.32	3.19-5.46
WV-47607	4.89	1.3-8.48
WV-47608	3.26	0.41-6.11
WV-47609	10.71	7.38-14.04
WV-44464	10.70	6.11-15.29

[1505] 尤其是,本披露提供了各种最近邻对,它们在 $N_1$ 和 $N_{-1}$ 位置都不是完全匹配,但在一些实施例中可以提供稳健性,与完全匹配相当或更好。图75显示了实例。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1506] 图76证实可以根据本披露在寡核苷酸中使用各种修饰来提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种修饰(例如,在b008U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b004I、b002G、b009U等中)的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,跨编辑位点(位置 $N_0$ )包含经修饰的碱基(例如b008U、b012U、b013U、b001A、b002A、b003A、b004I、b002G、b009U等)的寡核苷酸提供了与参考相比相当或增加的编辑活性。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。

[1507] 如本文所述,可在包括 $N_1$ 的位置使用各种糖和核碱基。图77证实根据本发明,各种这样的糖和/或核碱基,包括经修饰的糖和/或核碱基,可以用于寡核苷酸中以提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估在 $N_1$ 处包含各种核碱基和糖(例如,在dT中,b002A、b003A、b008U、b001C、Tsm11、Tsm12、b004C、b007C等中)的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,在 $N_1$ 位置包含这样的糖和/或核碱基的寡核苷酸在某些条件下提供了稳健的编辑活性。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。图78提供了另外的数据,证实了各种糖和核碱基可以与其他结构元件(例如,各种糖、核碱基、核苷酸间键联、立体化学等)组合在 $N_1$ 处使用以提供编辑。对于图78,用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估在 $N_1$ 处包含各种糖和核碱基(例如,在dT中,b003A、b008U、b001C、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等中)的寡核苷酸并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,在 $N_1$ 位置包含这样的糖和/或核碱基的寡核苷酸在某些条件下提供了稳健的编辑活性。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。如各图所示,在许多实施例中,天然的和/或经修饰的核碱基(例如,C、b008U等)和/或天然DNA糖在 $N_0$ 处使用,和/或天然的和/或经修饰的核碱基(例如,次黄嘌呤)和/或天然DNA糖在 $N_{-1}$ 处使用。

[1508] 类似地,本披露描述了在 $N_{-1}$ 处利用的各种有用的糖和核碱基,以及可用于将 $N_{-1}$ 连

接到其相邻核苷的有用的核苷酸间键联。例如,图79证实可以利用各种糖、核苷、核苷酸间键联等以提供编辑。将原代肝细胞用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理48小时。评估在 $N_{-1}$ 处包含各种糖和核碱基(例如,在dI、b001A、b003A、b008U、b001C、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等中)、各种键联(例如, $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 之间的PS(硫代磷酸酯)或PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001)键联(例如,Rp、Sp或立体随机)、 $N_0$ 和 $N_{-1}$ 之间的PS键联等)等的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。在一些实施例中,某些核碱基、糖和/或核苷酸间键联与其他相比提供更高的编辑水平。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。另外的数据显示于图80(例如,在 $N_{-1}$ 处包含dI、b001A、b002A、b003A、b008U、b008C、Tsm11、Tsm12、b004C、Csm17等的寡核苷酸)和图81(例如,包含dI、Csm11、Csm12、b009Csm11、b009Csm12等的寡核苷酸)。在一些实施例中, $N_{-1}$ 处的某些糖(例如,天然DNA糖)和/或核碱基(例如,次黄嘌呤、b001A、b003A等)与其他相比提供更高的编辑水平。在一些实施例中, $N_0$ 处的某些糖(例如,DNA糖)和/或核碱基(例如,b008U)与其他相比提供更高的编辑水平。

[1509] 尤其是,本披露提供了多种核苷酸间键联以与其他结构元件一起使用以提供寡核苷酸及其组合物。在一些实施例中,核苷酸间键联是不带负电荷的核苷酸间键联。在一些实施例中,核苷酸间键联是磷酸基胍核苷酸间键联。如图82所示,根据本披露,可以在寡核苷酸中使用各种核苷酸间键联,例如PN核苷酸间键联,如n001、n004、n008、n025、n026等,以提供编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。评估包含各种核碱基(例如,b008U、次黄嘌呤、b014I等)、键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酸基胍键联,诸如n001、n004、n008、n025、n026等)核苷酸间键联)和糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖、2'-MOE修饰的糖等)的寡核苷酸,并确认其提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。在一些实施例中,包含与 $N_{-1}$ 和 $N_{-2}$ 键合的各种磷酸基胍核苷酸间键联例如n001、n004、n008、n025、n026等的寡核苷酸提供稳健的编辑。在一些实施例中,这样的核苷酸间键联是手性受控的并且是Sp。在一些实施例中,一个或多个非n001磷酸基胍核苷酸间键联可独立地用于代替一个或多个n001(和/或一个或多个其他类型的键联)。

[1510] 如本文所述,寡核苷酸可包含双链体区或可用作双链体。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸与可以靶向和编辑靶腺苷的寡核苷酸形成双链体。下面给出了某些示例作为实例。从约1000nM到约0.5nM的连续稀释浓度。在最低浓度下观察到约5%-20%的编辑,在最高浓度下观察到约70%-90%的编辑。用指定的靶向SERPINA1-Z等位基因的寡核苷酸组合物处理原代小鼠肝细胞(huADAR/SA1Tg)48小时(裸式)。包含各种类型的核碱基、键联(例如,PS(硫代磷酸酯)、PO(天然磷酸酯键联)和/或PN(例如,磷酸基胍键联,例如n001)核苷酸间键联)和糖(例如,2'-OMe修饰的糖、2'-F修饰的糖、天然DNA糖、2'-MOE修饰的糖等)的寡核苷酸可与相应的双链体化寡核苷酸形成双链体。某些双链体作为实例进行了评估,并被证实可提供靶腺苷的编辑。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。在一些实施例中,某些双链体提供与参考相当或增加的编辑活性。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸在两个末端包含2'-OR修饰的糖(其中R不是-H,例如,2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等)和/或经修饰的核苷酸间键联(例如,硫代磷酸酯核苷酸间键联)。在一些实施例中,双链体化寡核苷酸包含2'-F修饰的糖、2'-OR修饰的糖(其中R不是-H,例如2'-OMe修饰的糖、2'-MOE修饰的糖等)和/或天然RNA糖。在一些实施例中,观察到包含内部天然RNA糖的双链体化寡核苷酸在与靶

向寡核苷酸(例如,WV-46312)双链化时可以提供更高的编辑效率。

<b>寡核苷酸 (WV-)</b>	<b>绝对 EC50 (nM)</b>	<b>95% CI (nM)</b>
<b>46312</b>	<b>3.90</b>	<b>2.25 - 5.54</b>
<b>46312/48444</b>	<b>8.92</b>	<b>7.72 - 10.1</b>
<b>46312/48445</b>	<b>5.71</b>	<b>4.89 - 6.52</b>
<b>46312/48446</b>	<b>2.91</b>	<b>2.32 - 3.50</b>
<b>46312/48447</b>	<b>9.68</b>	<b>8.36 - 10.9</b>
<b>46312/48448</b>	<b>6.58</b>	<b>5.83 - 7.33</b>
<b>46312/48449</b>	<b>3.08</b>	<b>2.47 - 3.68</b>
<b>46312/48450</b>	<b>16.66</b>	<b>14.4 - 18.8</b>
<b>46312/48451</b>	<b>8.83</b>	<b>7.92 - 9.73</b>
<b>46312/48452</b>	<b>3.09</b>	<b>2.64 - 3.53</b>

[1511] 如本文所述,所提供的技术可用于编辑各种核酸中的靶腺苷。例如,如图83所示,包含各种修饰及其模式的各种寡核苷酸可以提供对UGP2转录物中的靶腺苷的编辑。用指定的寡核苷酸组合物处理原代人肝细胞48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。另外的数据作为示例显示在图84中。用指定浓度的靶向UGP2的指定寡核苷酸组合物处理原代人肝细胞48小时。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。在一些实施例中,包含某些结构元件(例如末端区的2'-OR修饰的糖、由多个分隔嵌段(例如,一个或多个或各自独立地2'-OR嵌段)分隔的多个2'-F嵌段,和/或N<sub>3</sub>处的2'-F修饰的糖等)的寡核苷酸可以提供改进的编辑效率。

[1512] 如本文所述,所提供的技术提供体内编辑并且可以提供由经编辑的核酸编码的产物,例如多肽。例如,图85证实了SERPINA1的体内编辑和血清AAT水平的增加。人ADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因小鼠在第0、2和4天皮下给予PBS或10mg/kg寡核苷酸。在第7天收集肝活检,并在给药前和第7天收集血清AAT。如图85中所证实的,所提供的寡核苷酸组合物相对于参考(例如,PBS对照,给药前水平)递送显著的编辑活性并且增加血清AAT水平。使用ELISA对血清AAT进行定量。某些另外的结果显示在图86中,其证实可以根据本披露利用

各种修饰来提供在体内具有活性的寡核苷酸。人ADAR和SERPINA1-Z等位基因转基因小鼠在第0天皮下给予PBS或10mg/kg寡核苷酸。在第10天收集肝活检。在给药前、第7天和第10天收集血清。评估各种寡核苷酸组合物并确认其提供靶腺苷的编辑和血清AAT水平的增加。通过桑格测序对RNA编辑进行定量。使用ELISA对血清AAT进行定量。

[1513] 虽然本文中已描述且展示了各种实施例,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,并且这样的变化和/或修改中的每一者均被视为包括在内。更一般而言,本领域普通技术人员将容易理解,本文所述的所有参数、尺寸、材料和构型意在作为实例,并且实际参数、尺寸、材料和/或构型可取决于使用本披露的教导的一个或多个特定应用。本领域技术人员将认知到、或不使用过度常规实验就能够确定本披露的实施例的许多等效物。因此,应理解,前述实施例仅通过实例方式呈现,且在所附权利要求书及其等效物的范围内,可以与具体描述和要求的不同的方式实践所要求的技术。另外,如果特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法不是相互不兼容的,则在本披露的范围内包括两个或更多个这样的特征、系统、物品、材料、试剂盒和/或方法的任何组合。

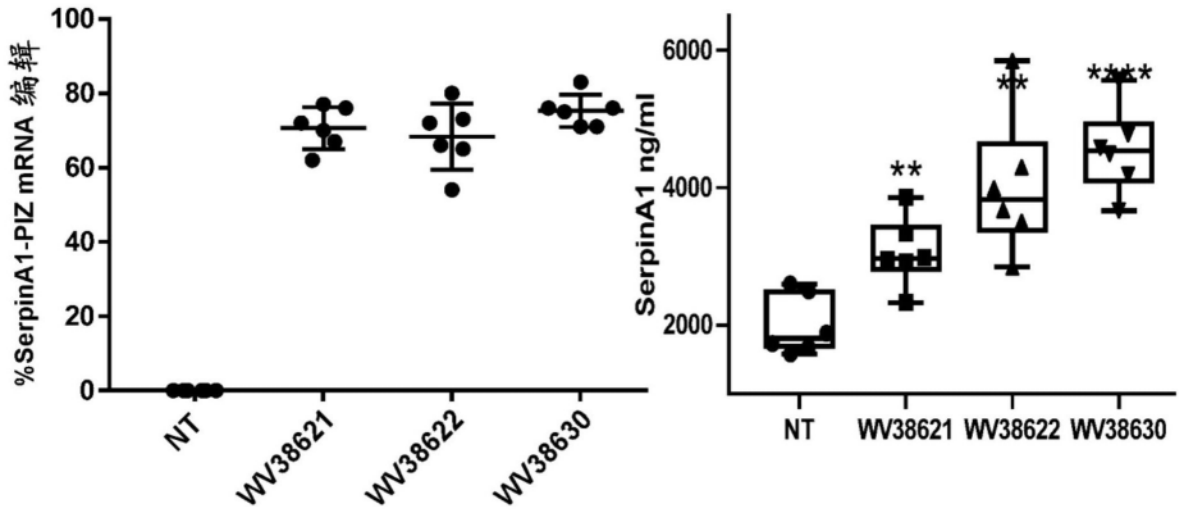
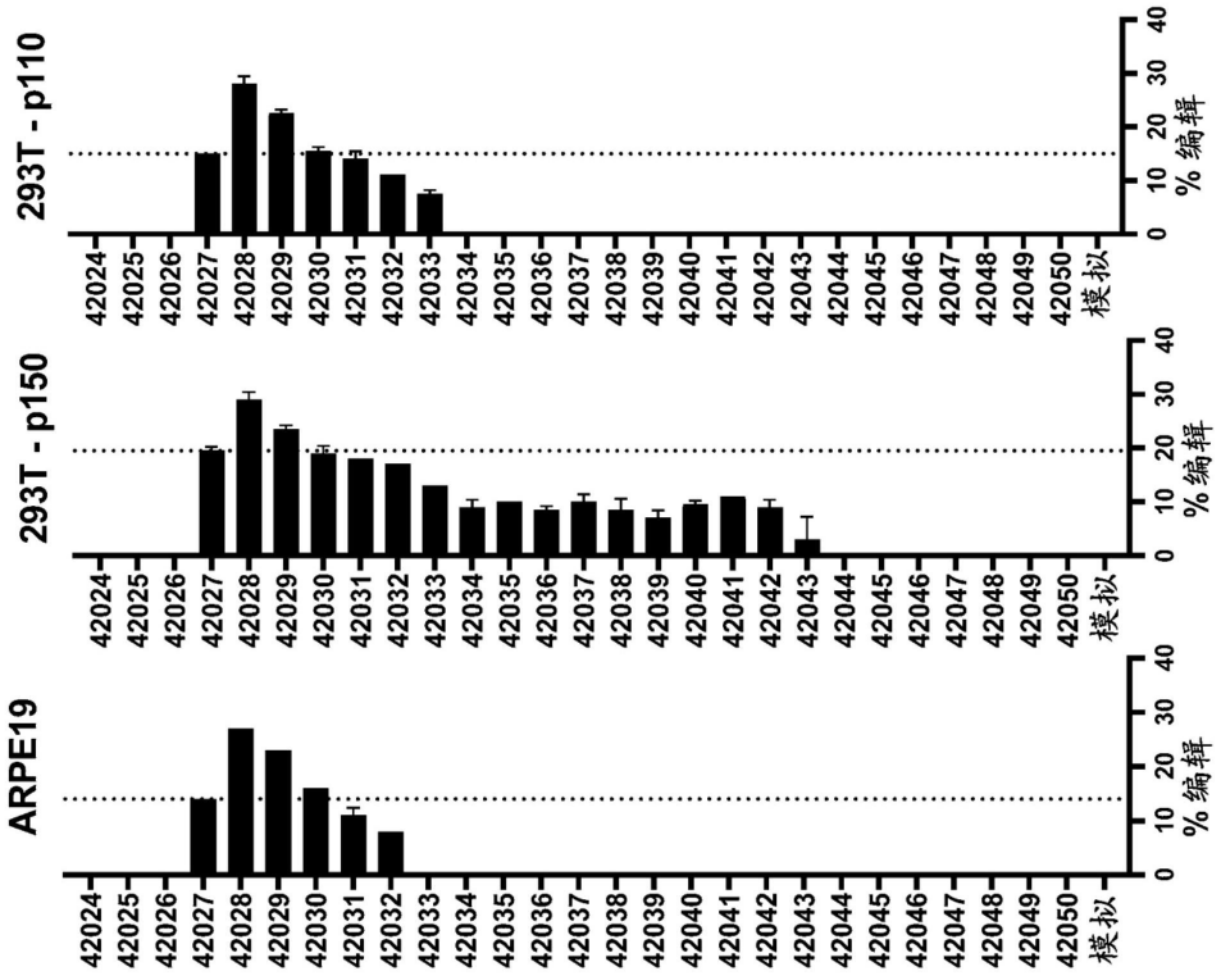
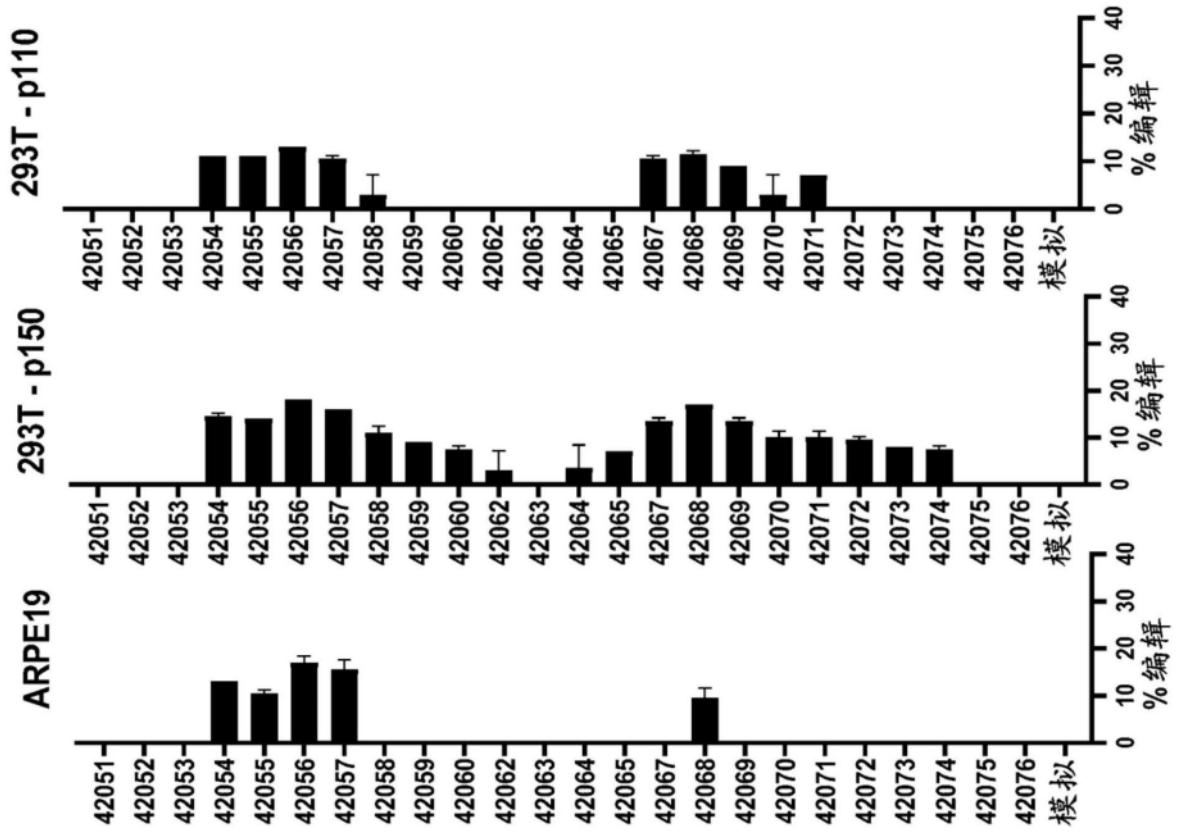


图1



(a)



(b) 图 2

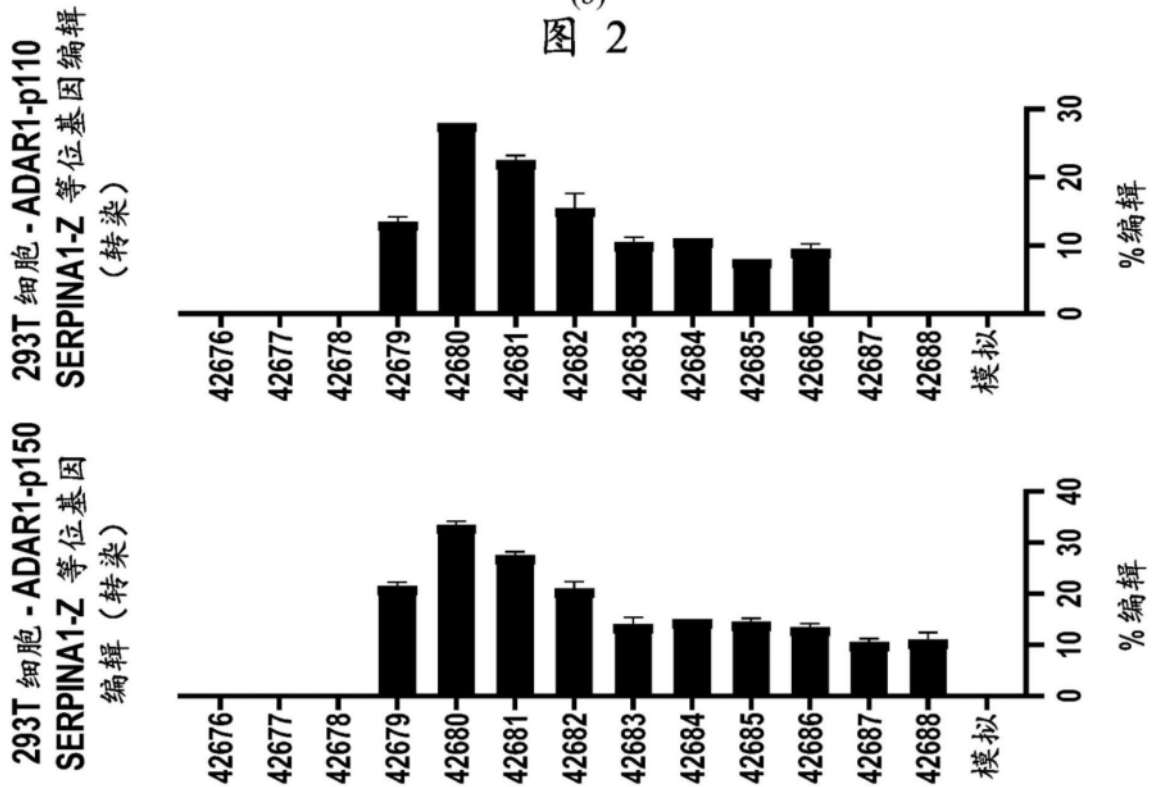


图 3

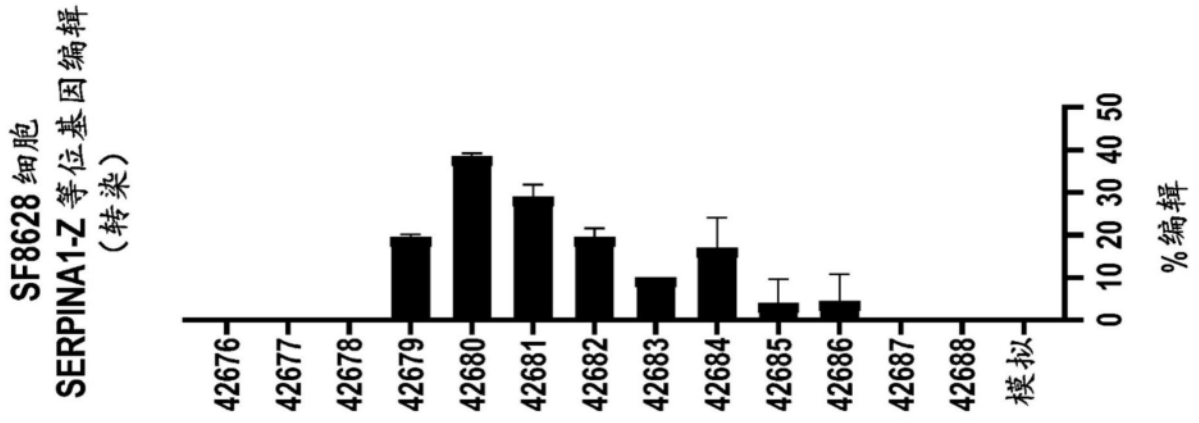


图3(续)

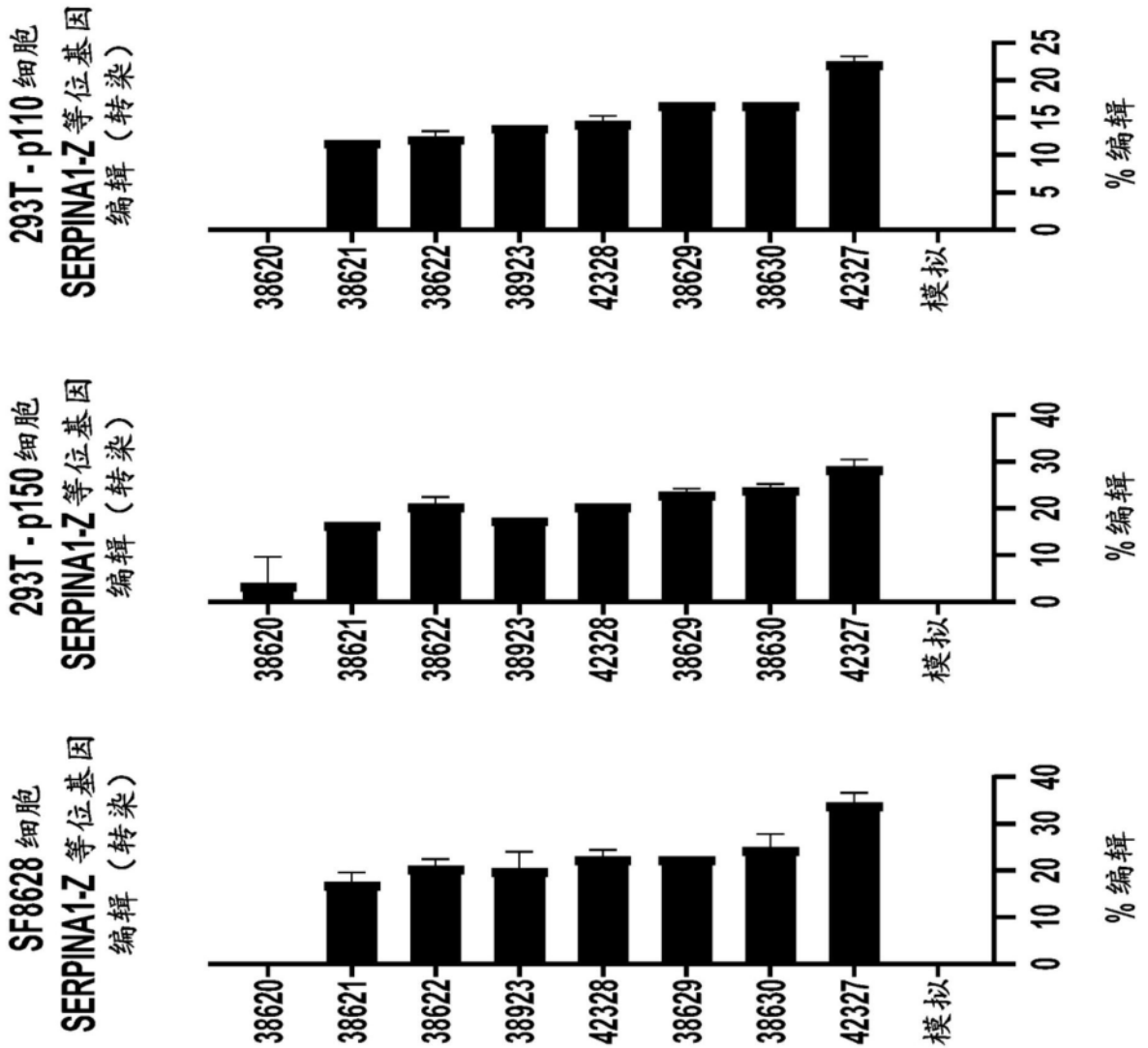


图4

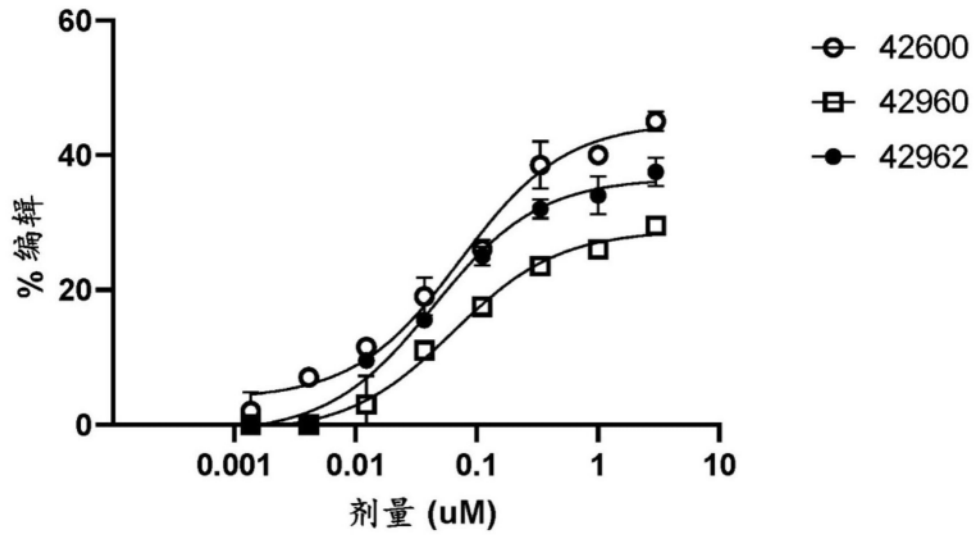


图5

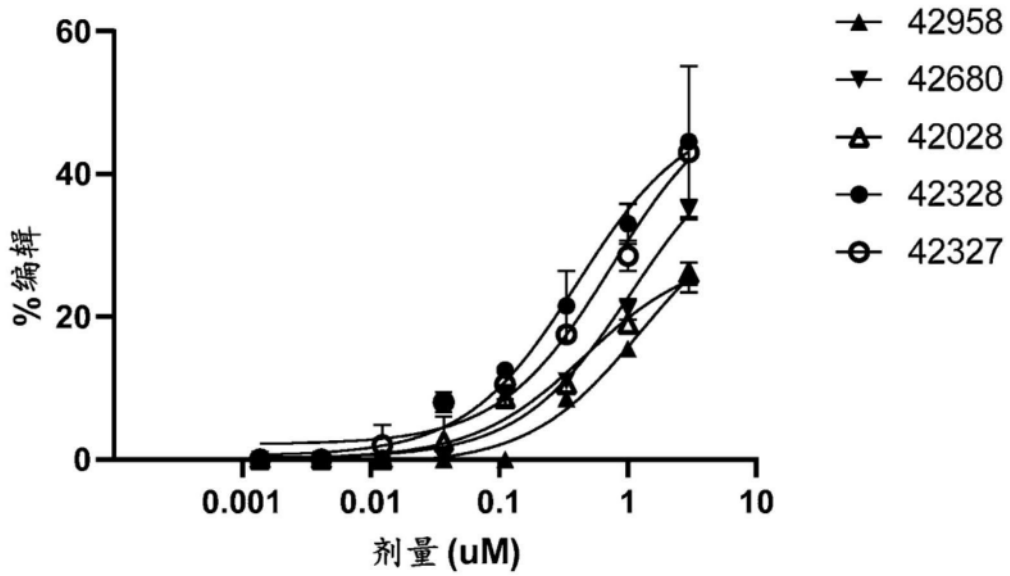


图6

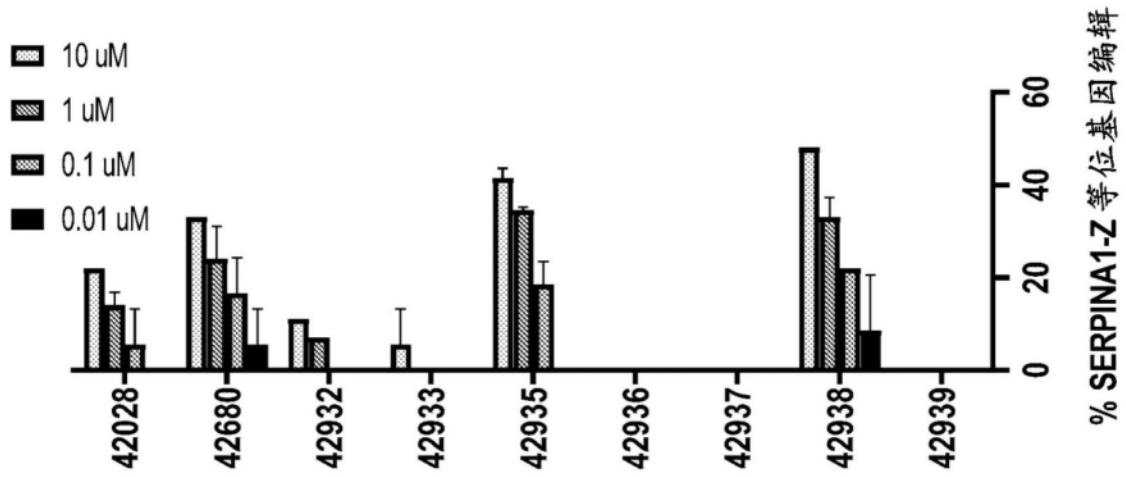


图7

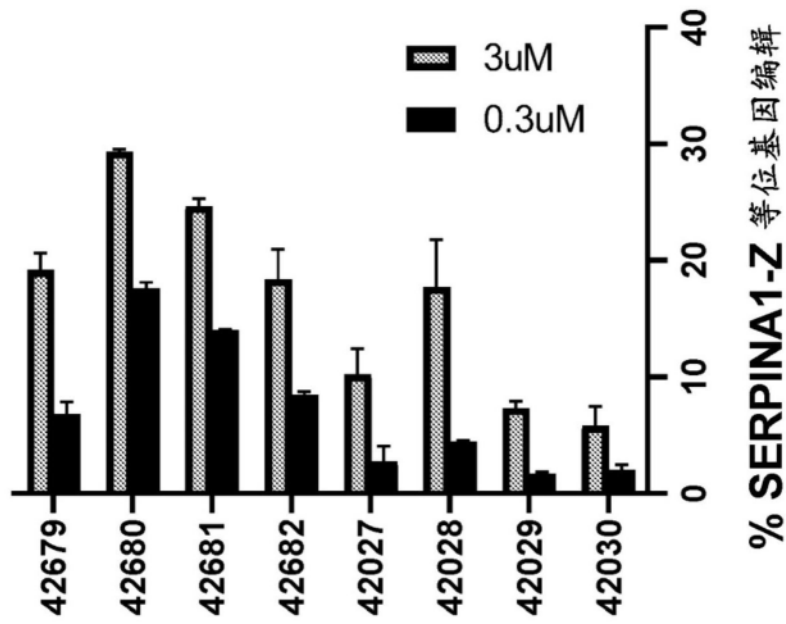


图8

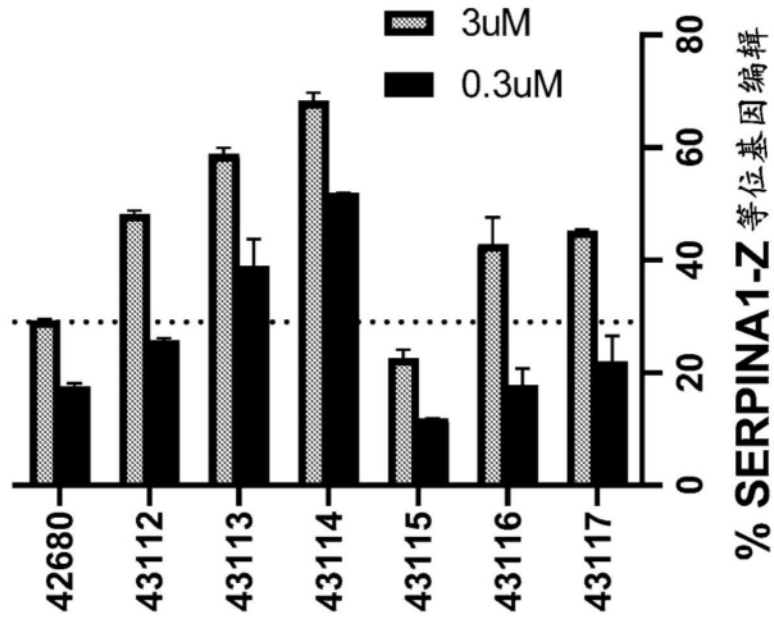


图9

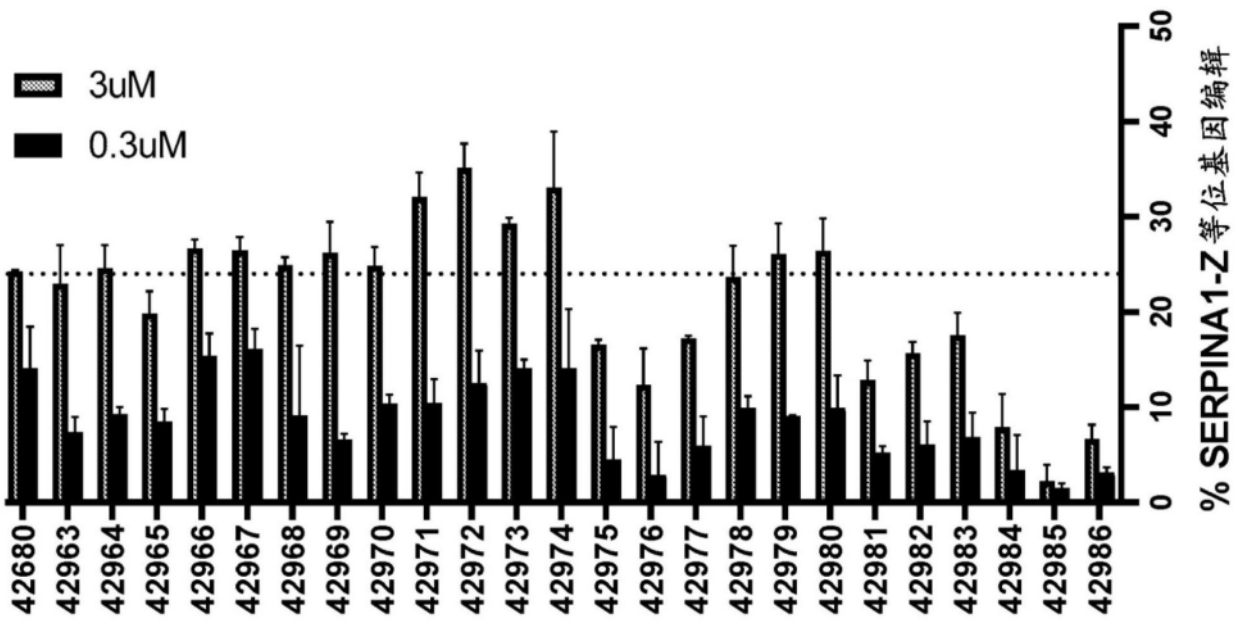


图10

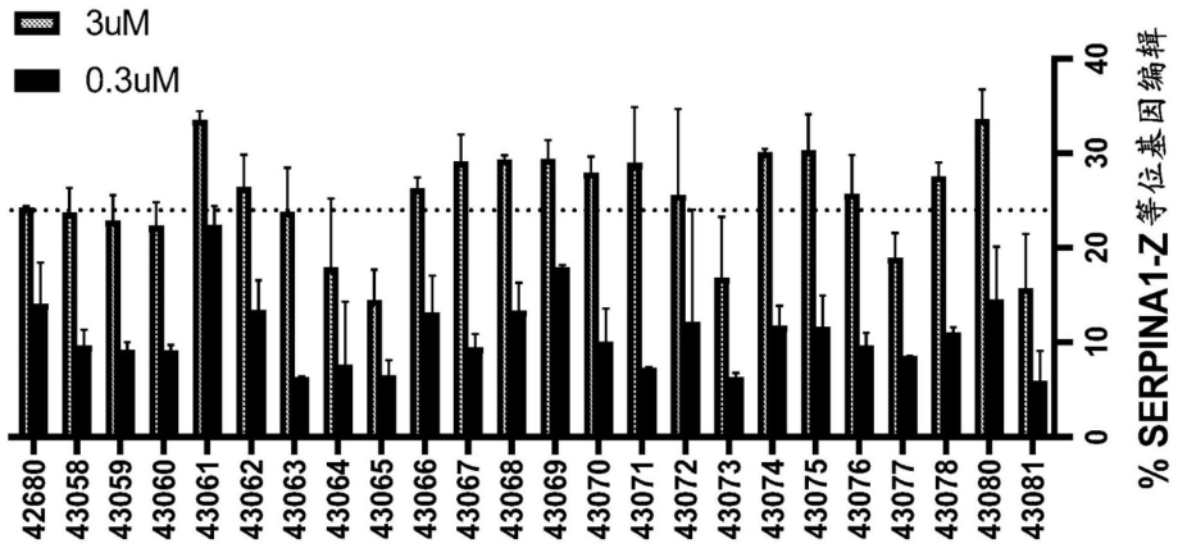


图11

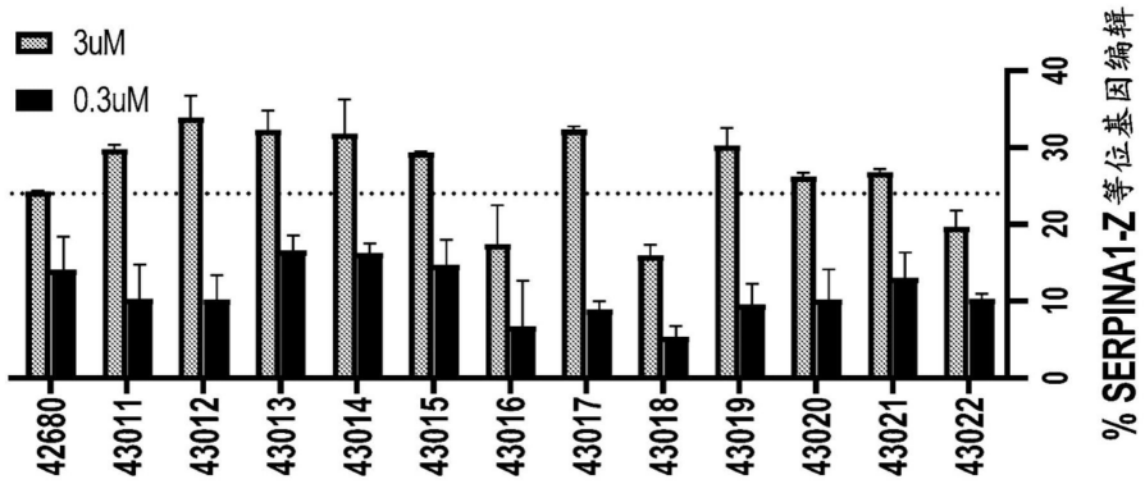


图12

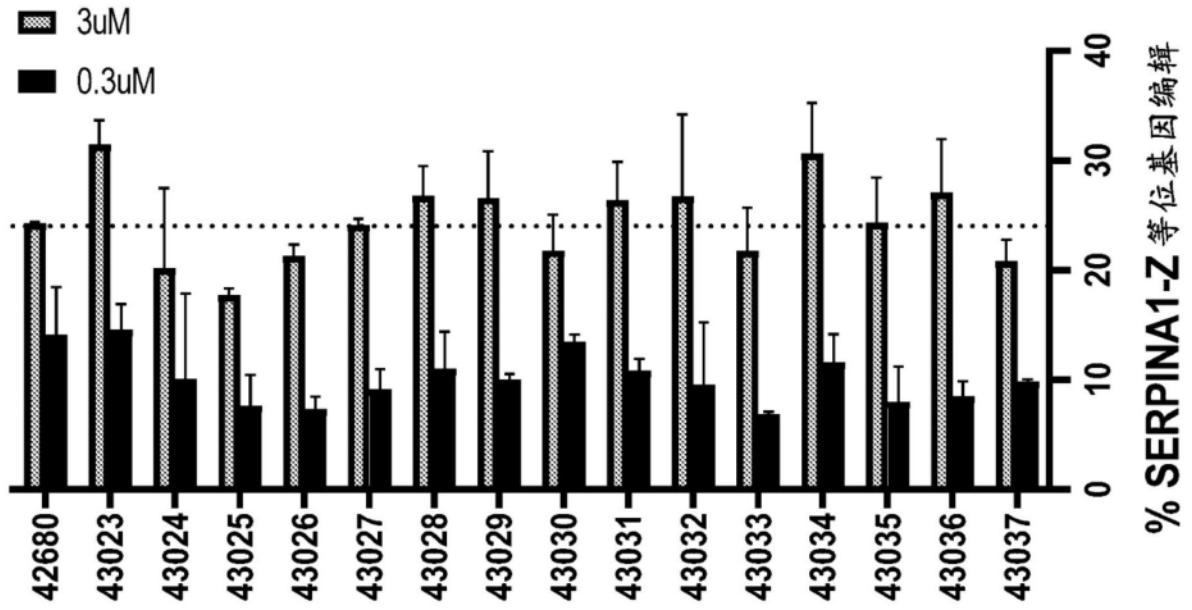


图13

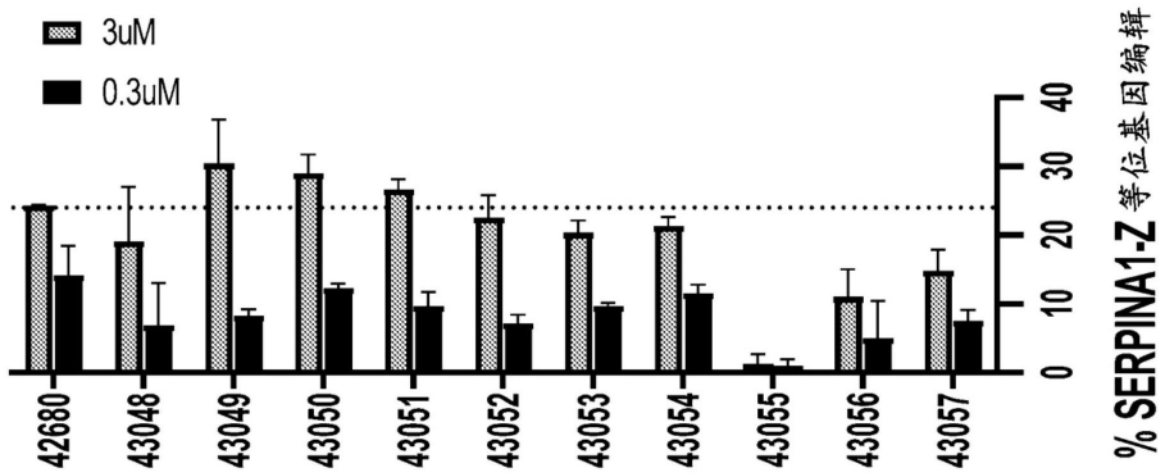


图14

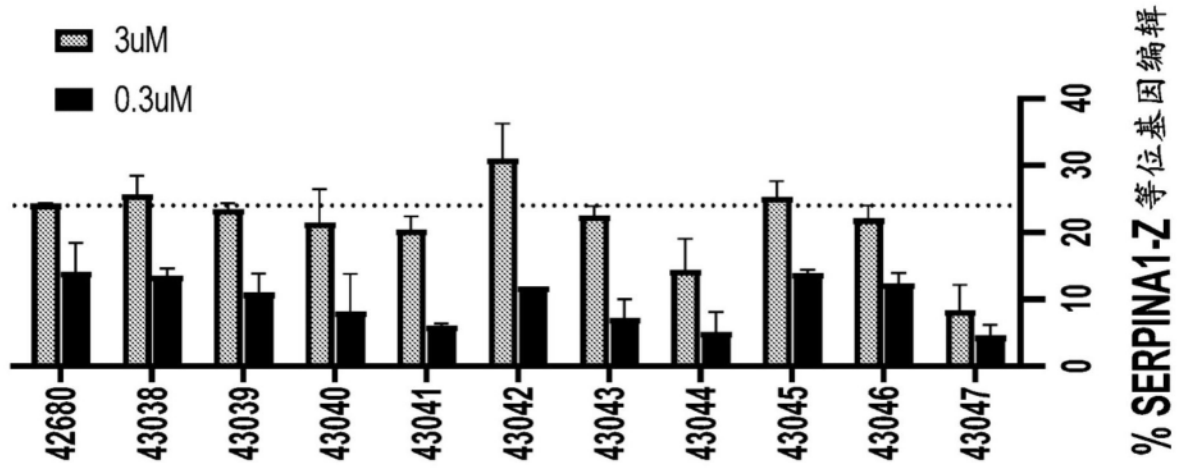


图15

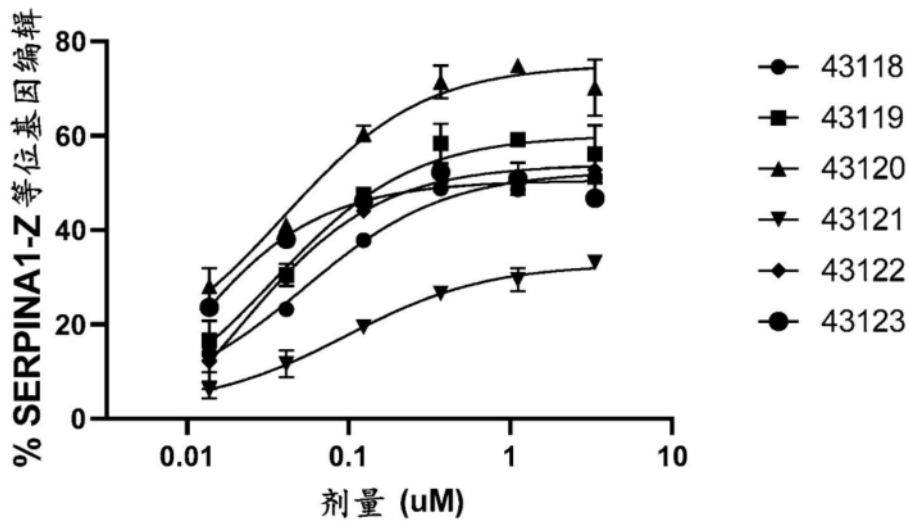


图16

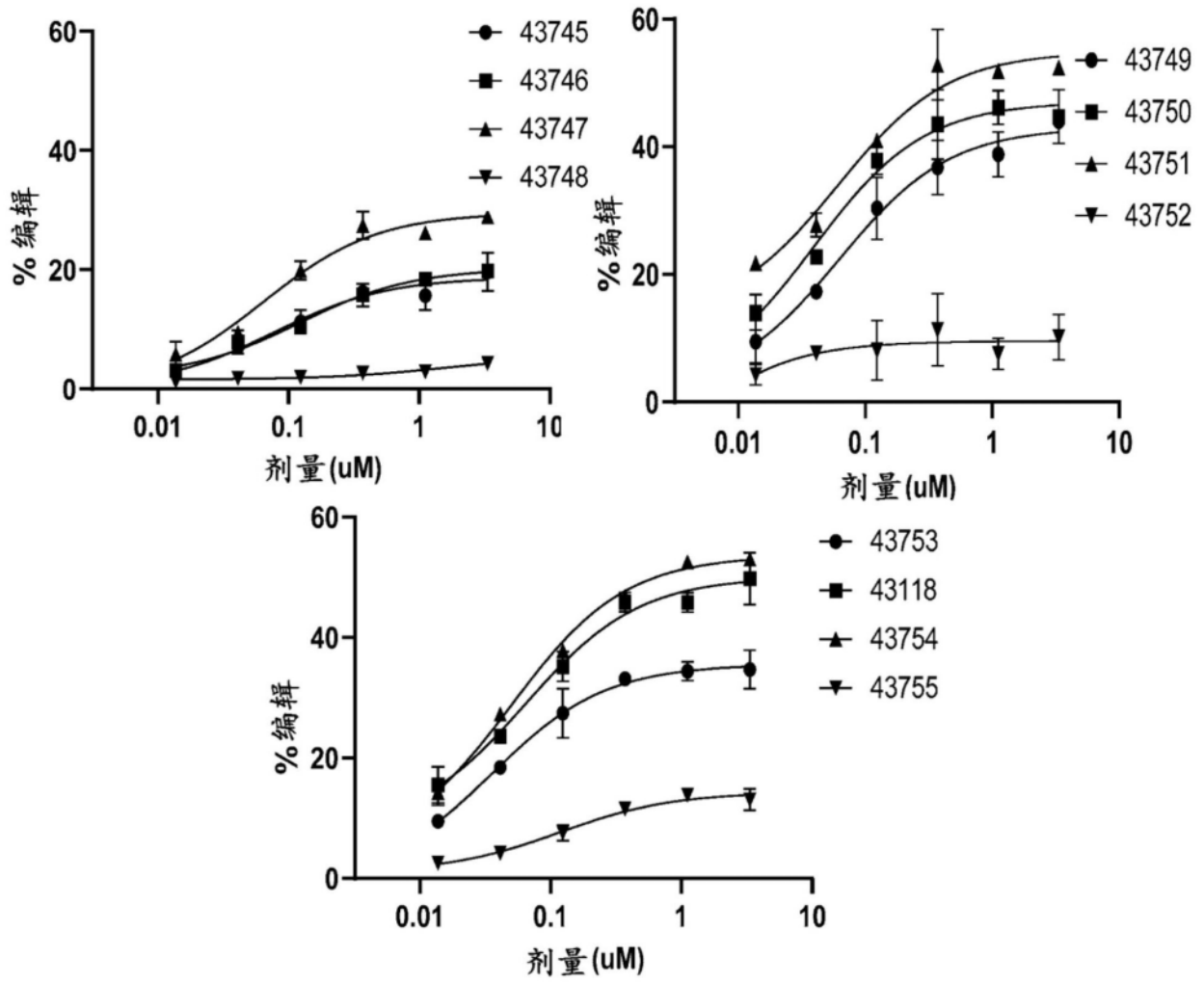
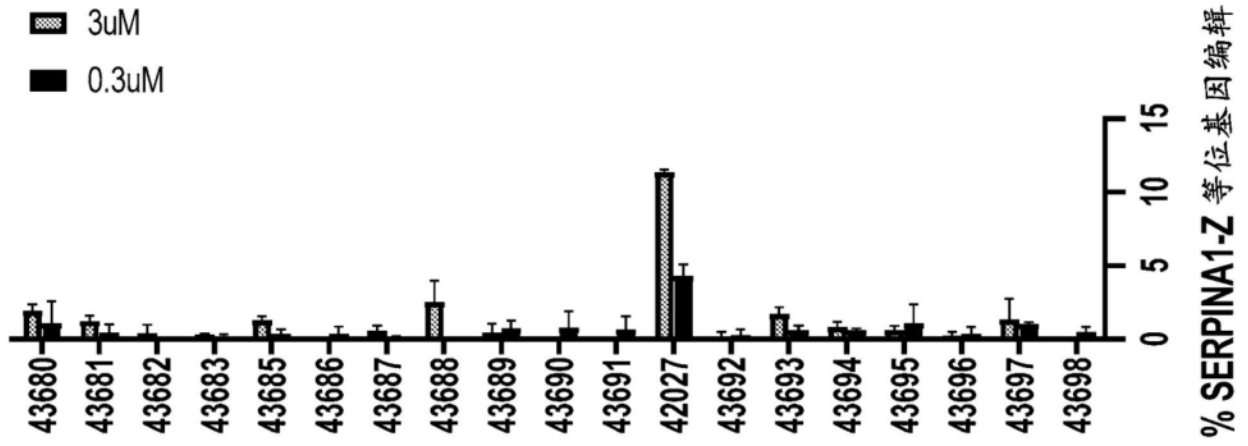
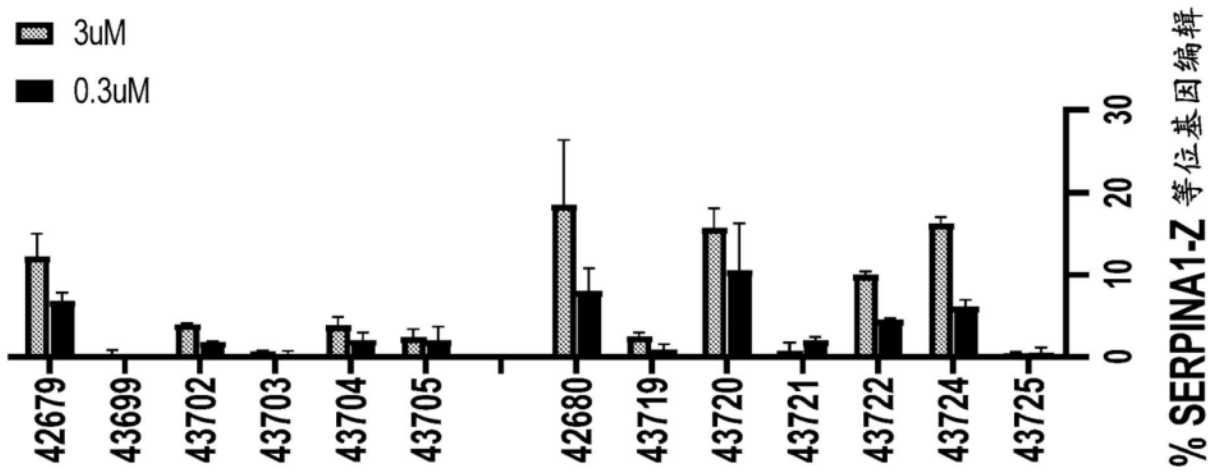


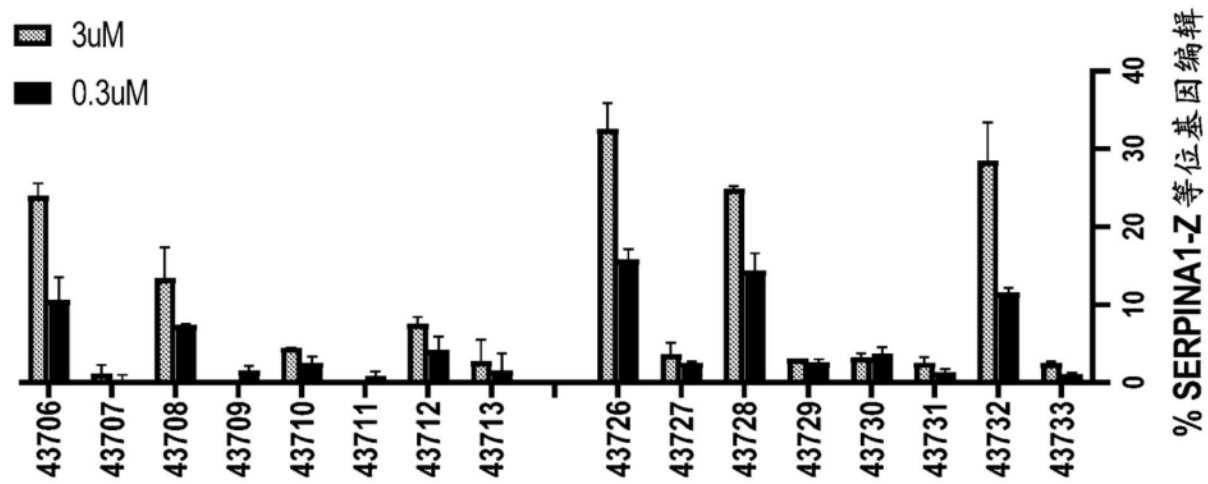
图17



(a)



(b)



(c)

图18

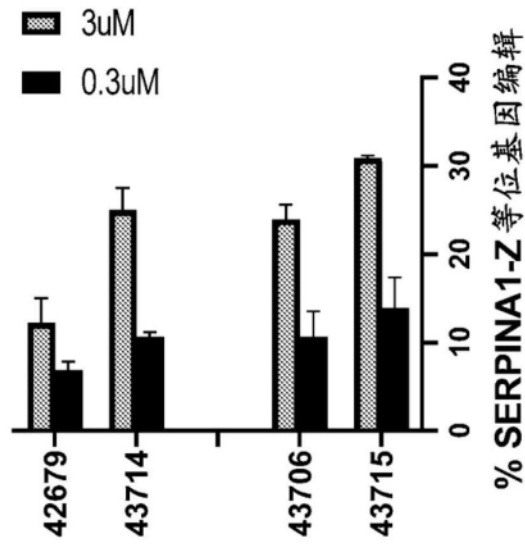


图19

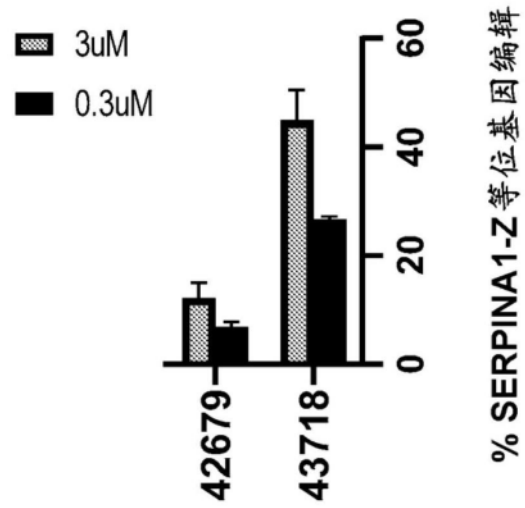


图20

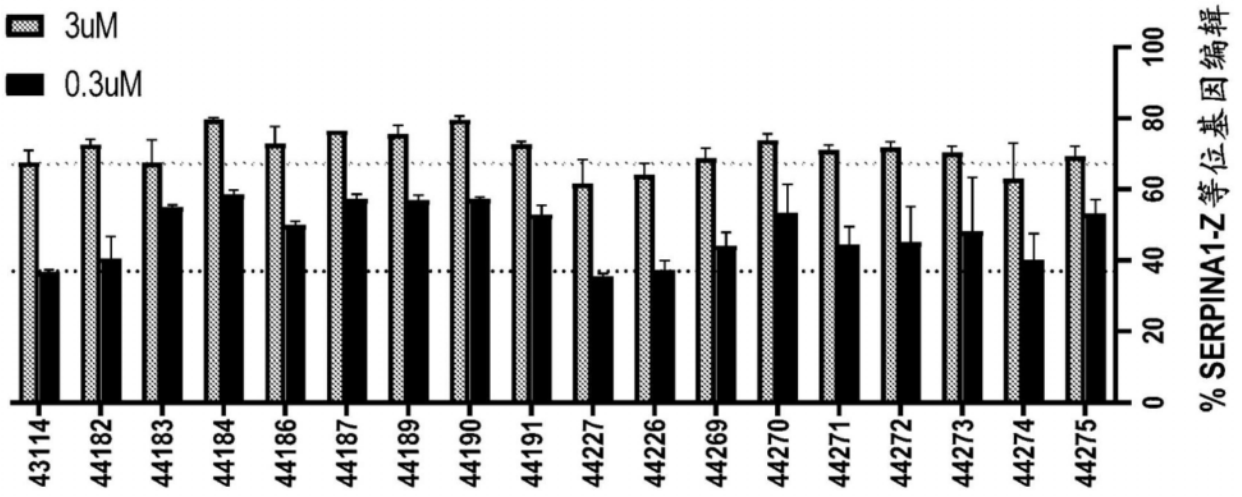


图21

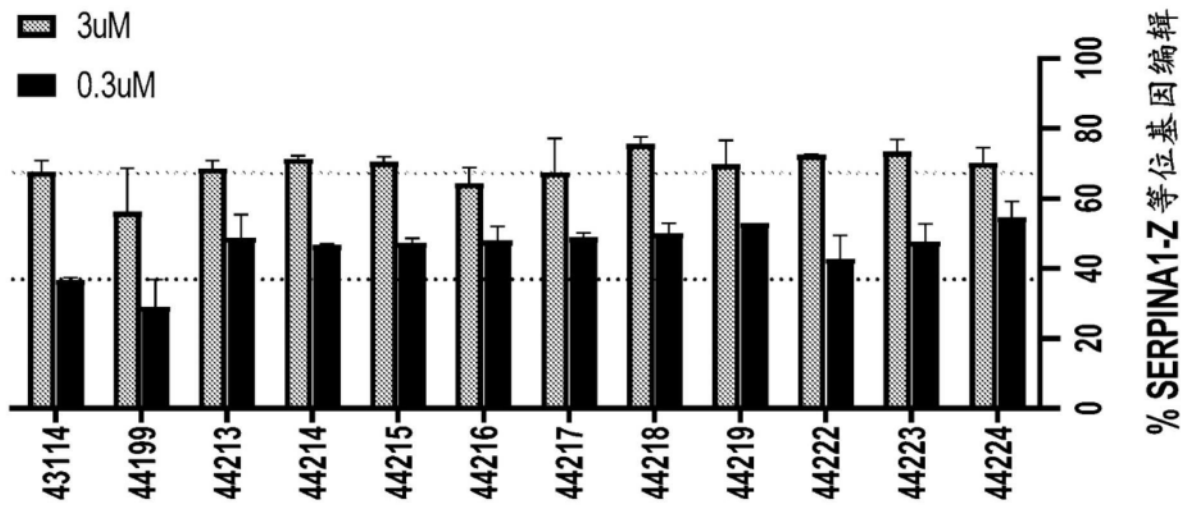


图22

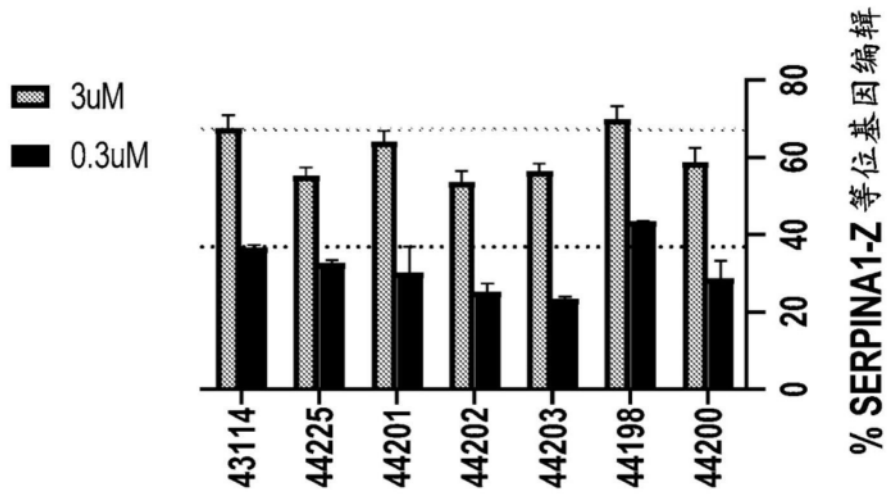


图23

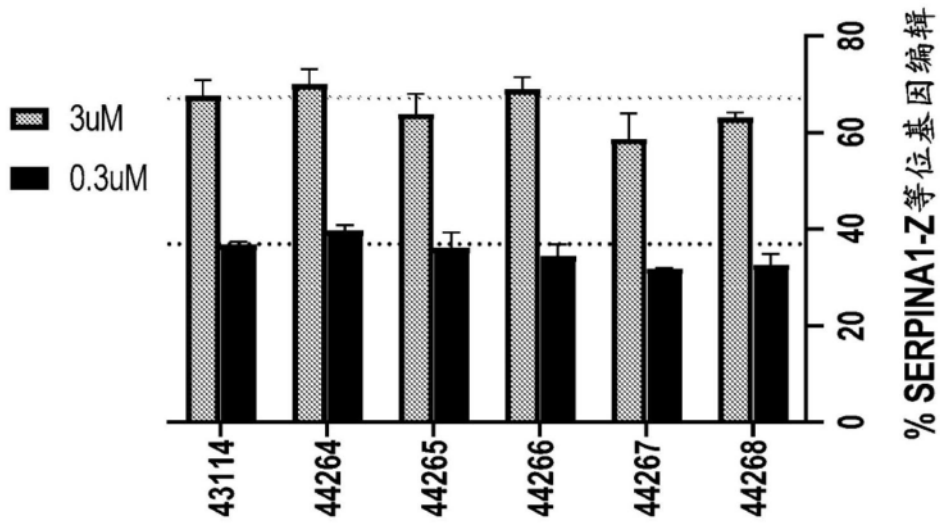


图24

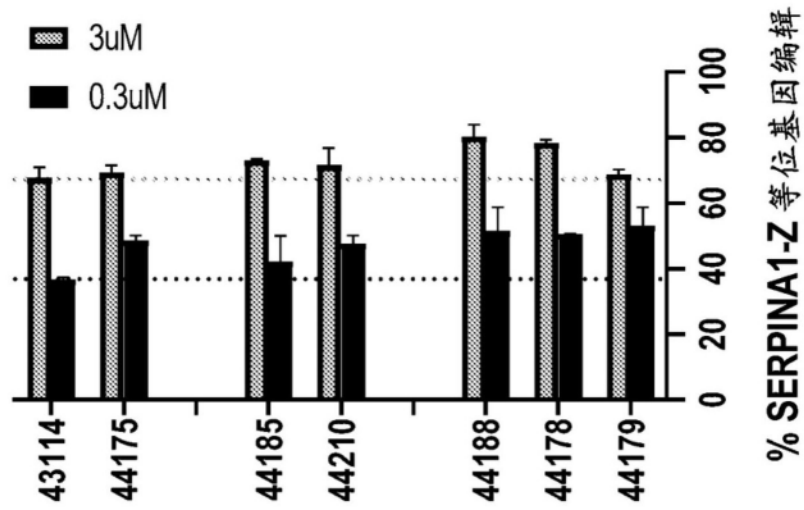


图25

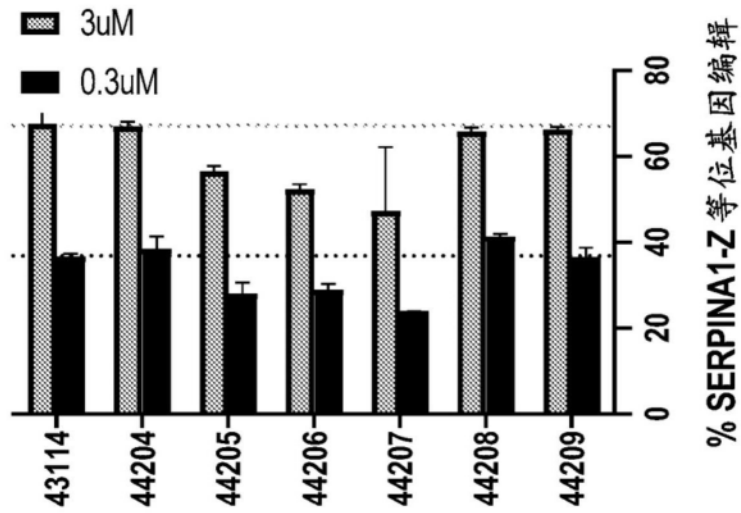


图26

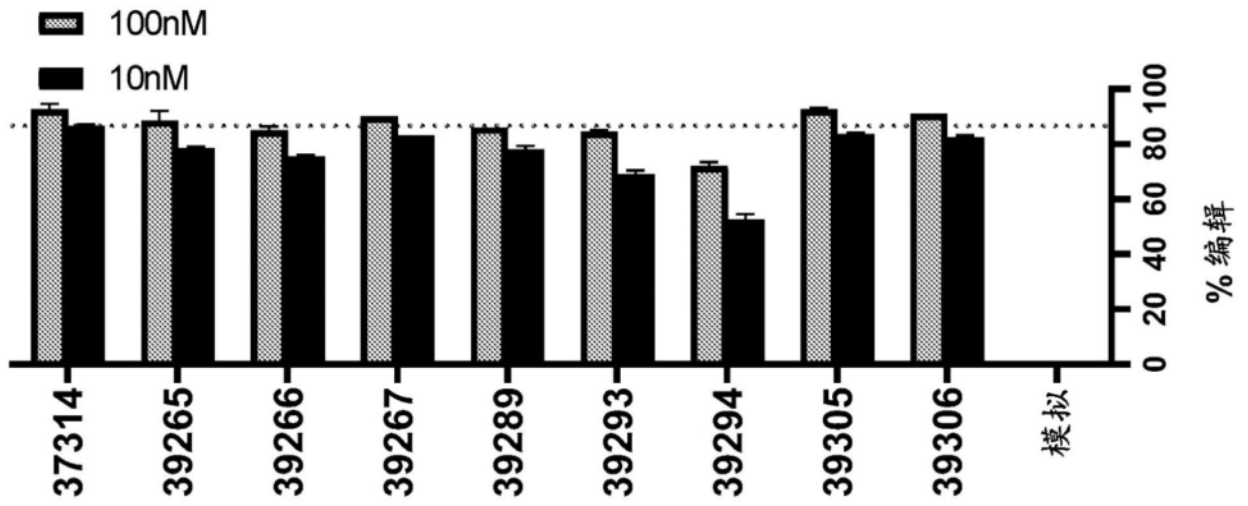


图27

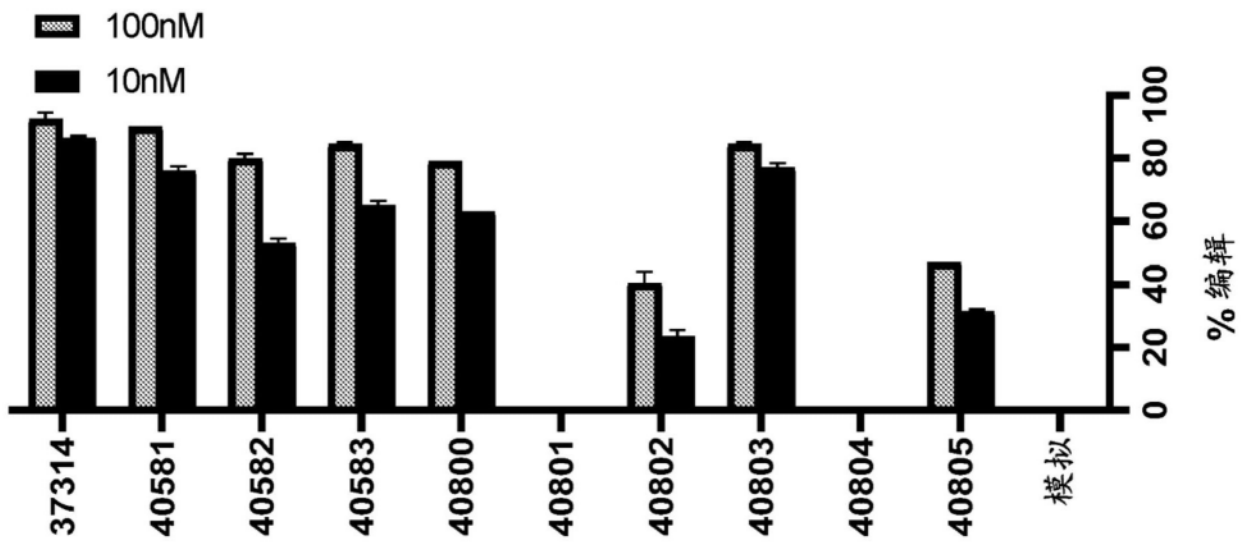


图28

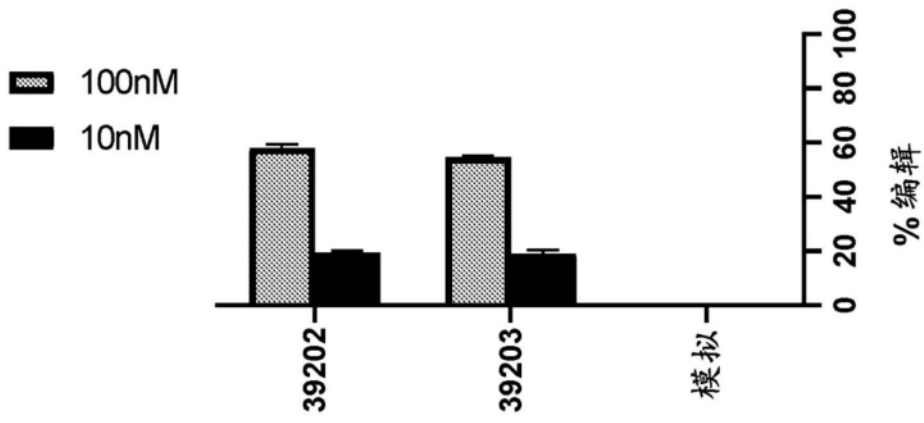


图29

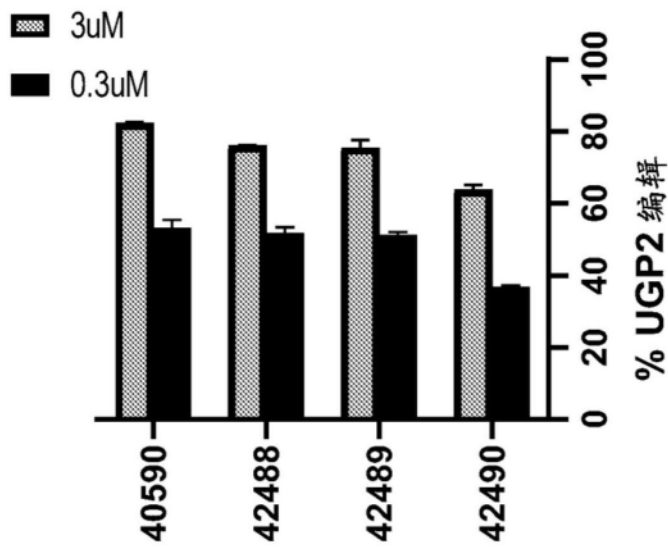
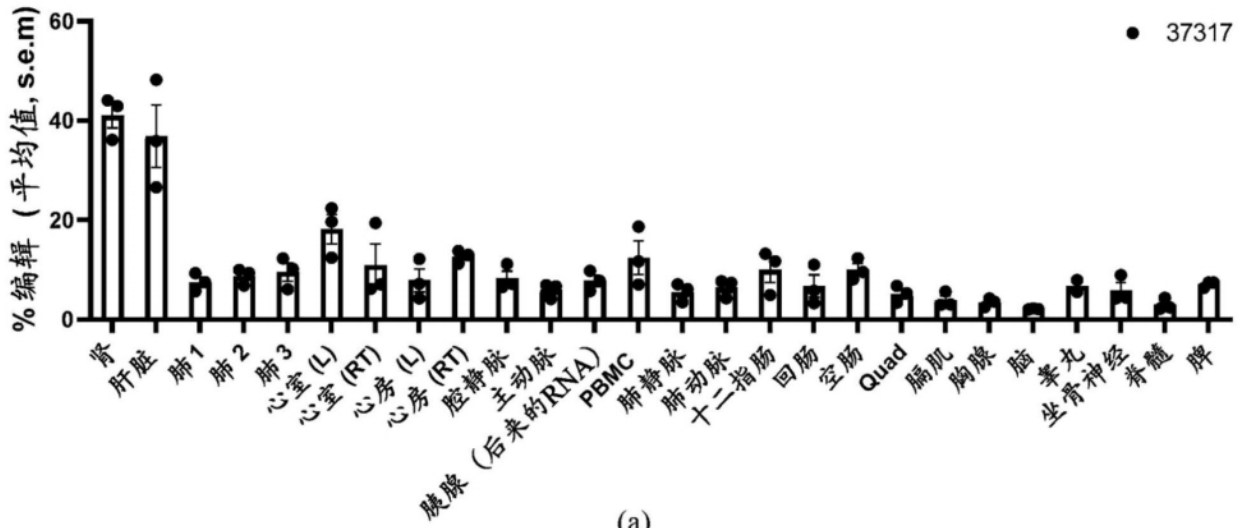


图30

NHP中的体内ACTB编辑  
全身施用 - 50mpk, 7 天



WV-37317 NHP PK

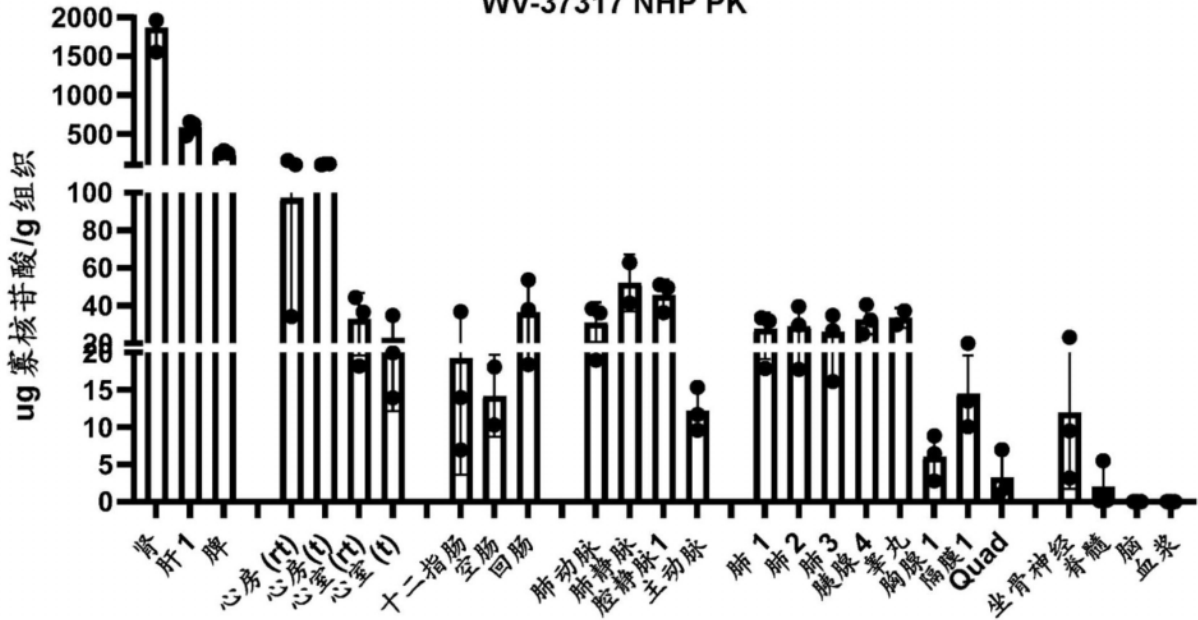


图31

NHP中的体内 ACTB 编辑鞘内施用

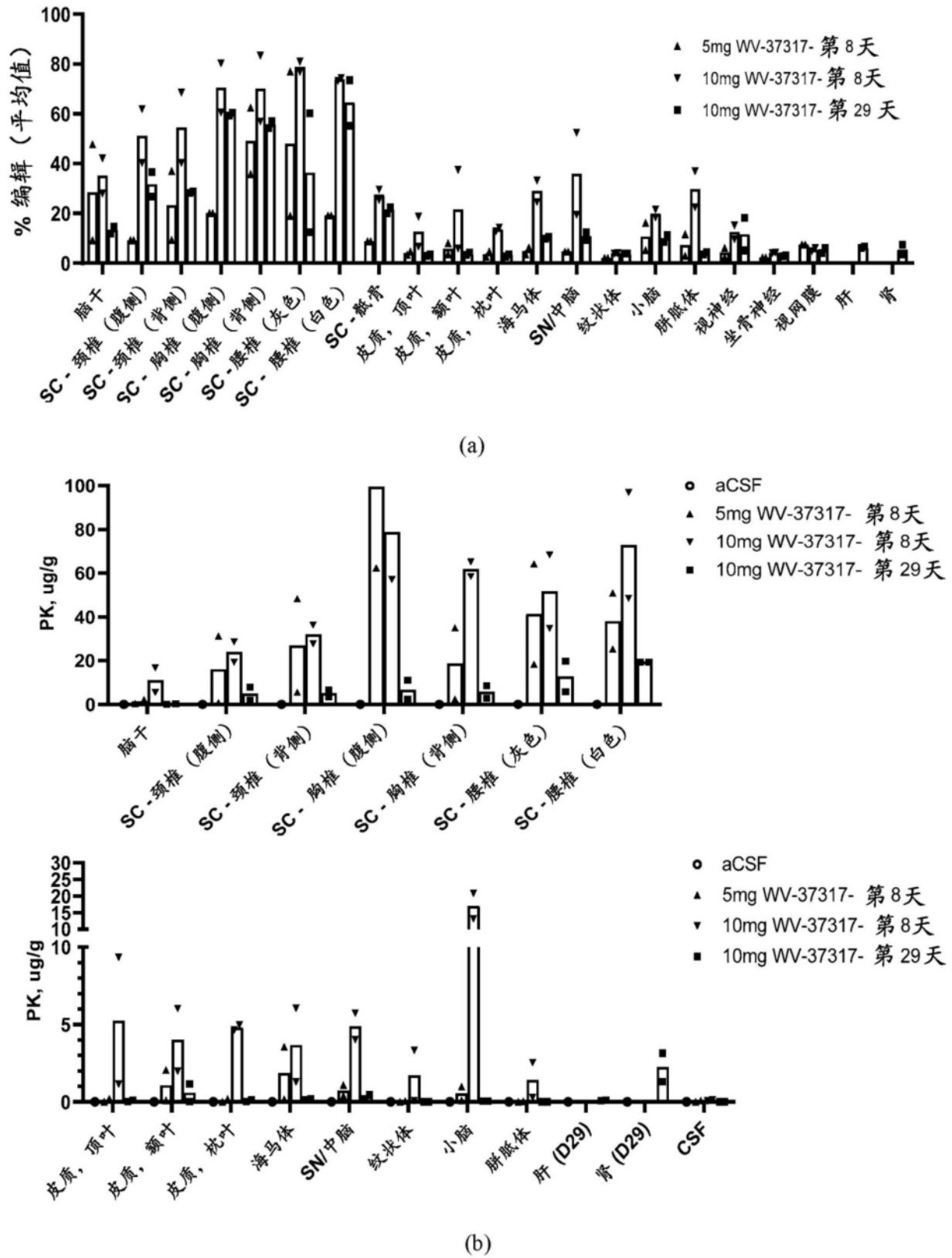


图32

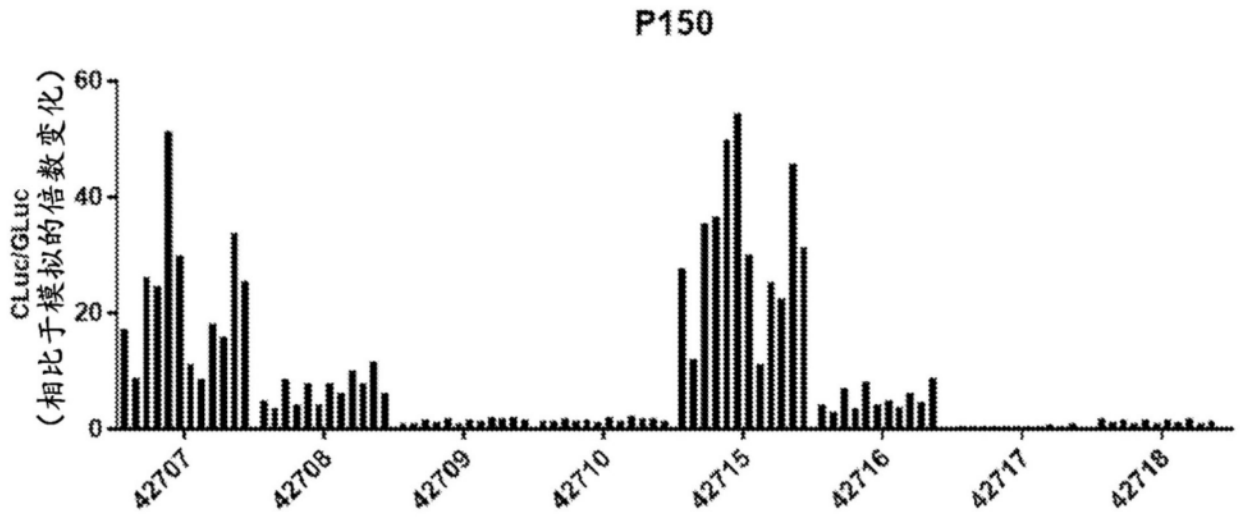


图33

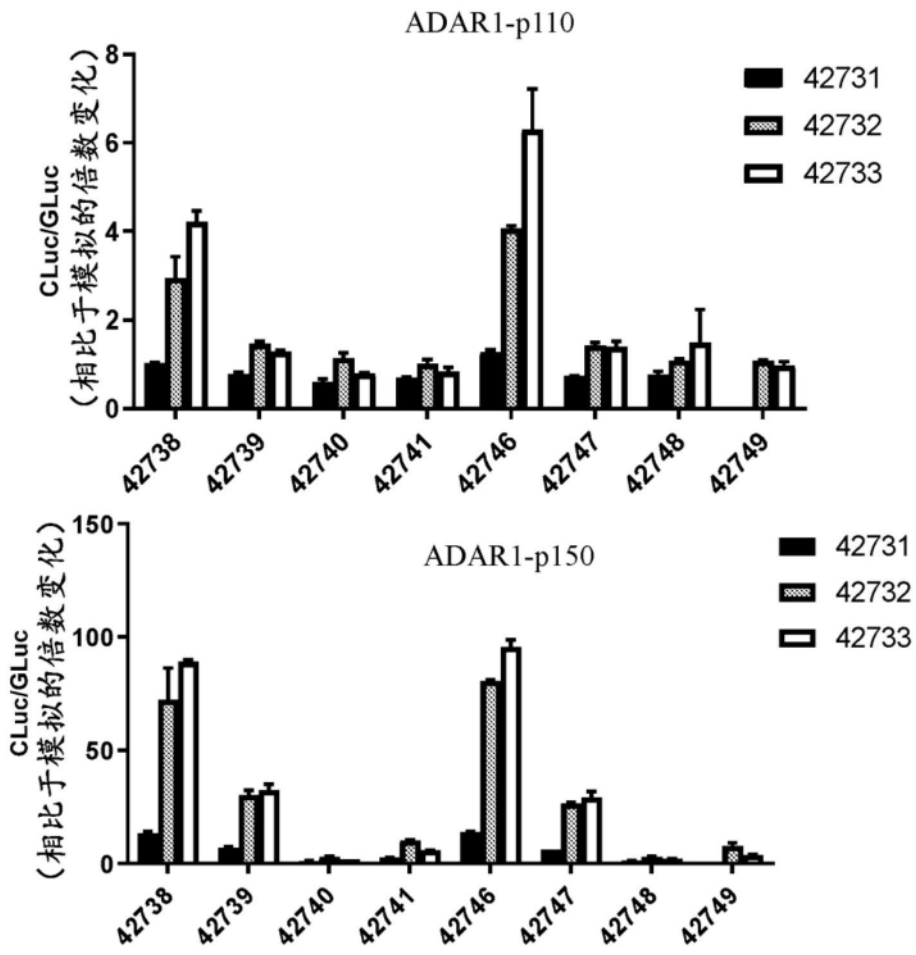


图34

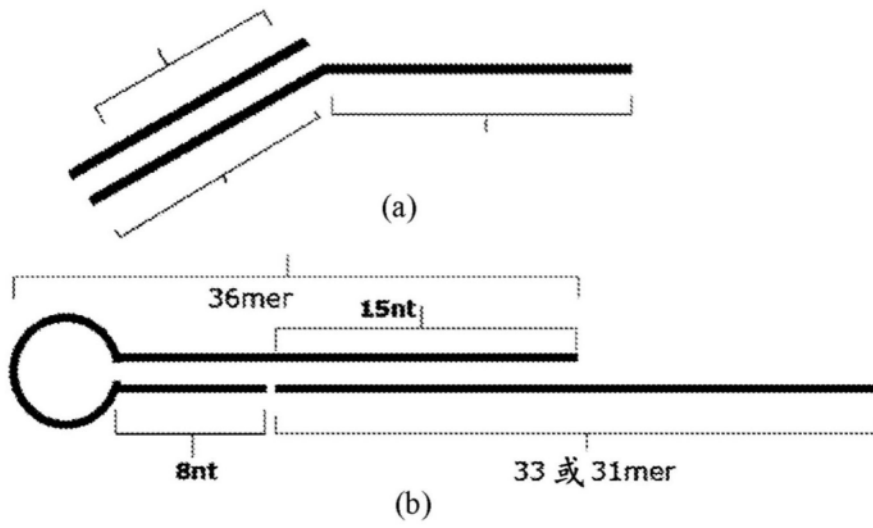


图35

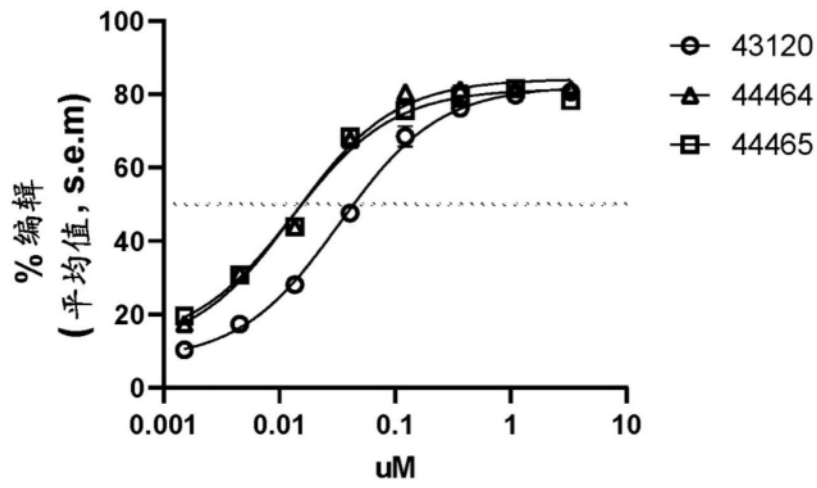


图36

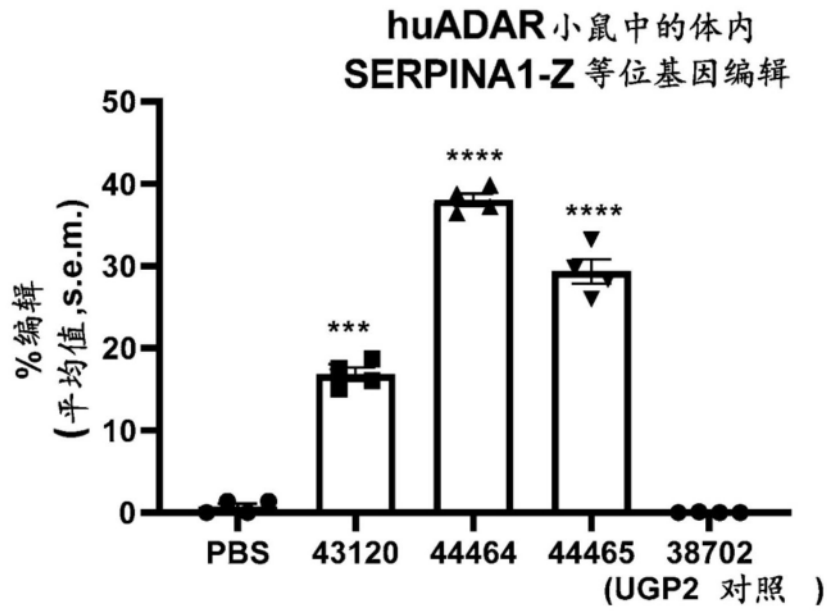


图37

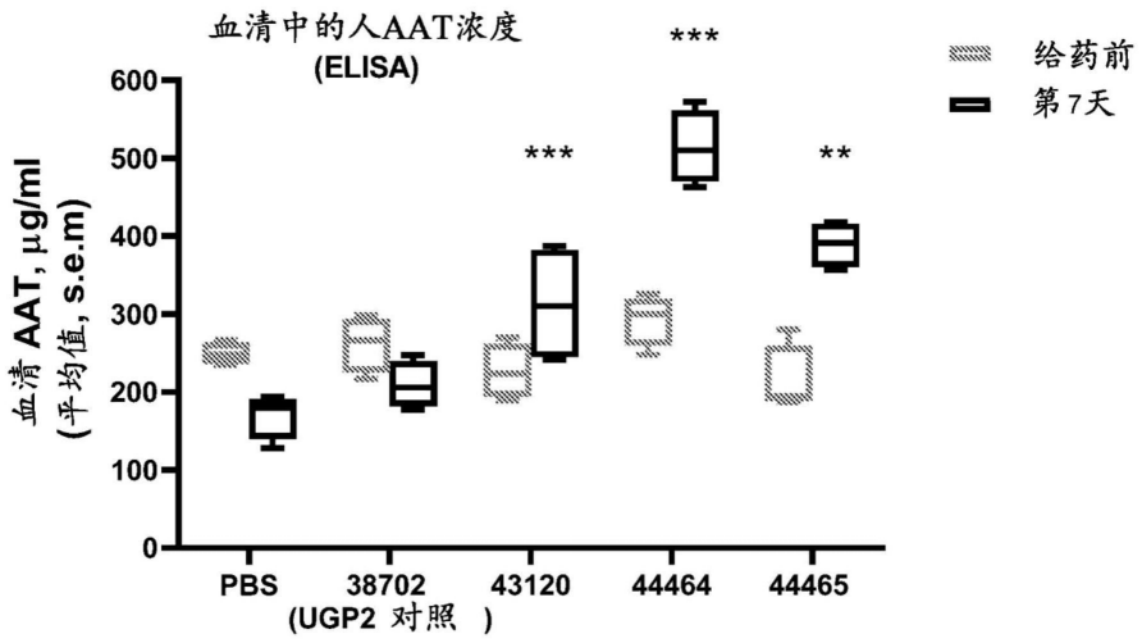


图38

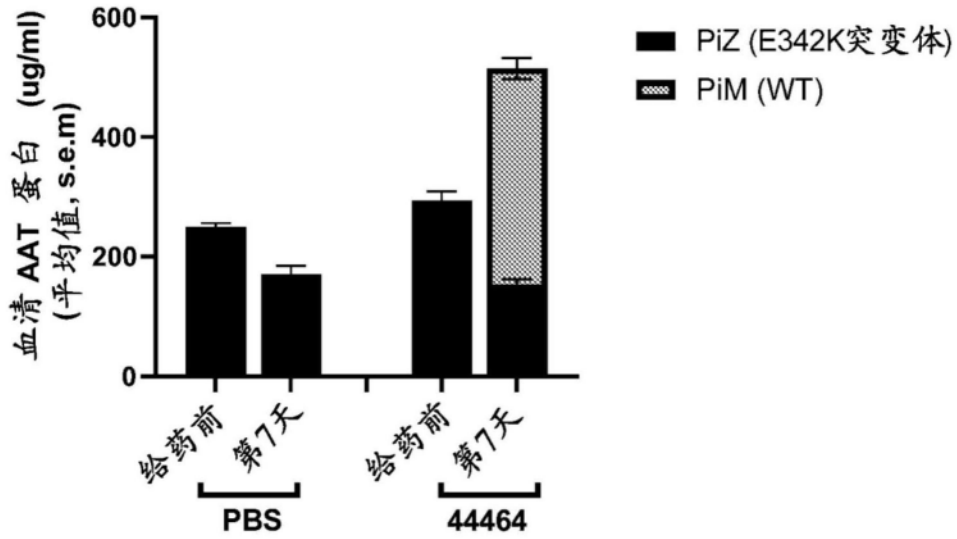


图39

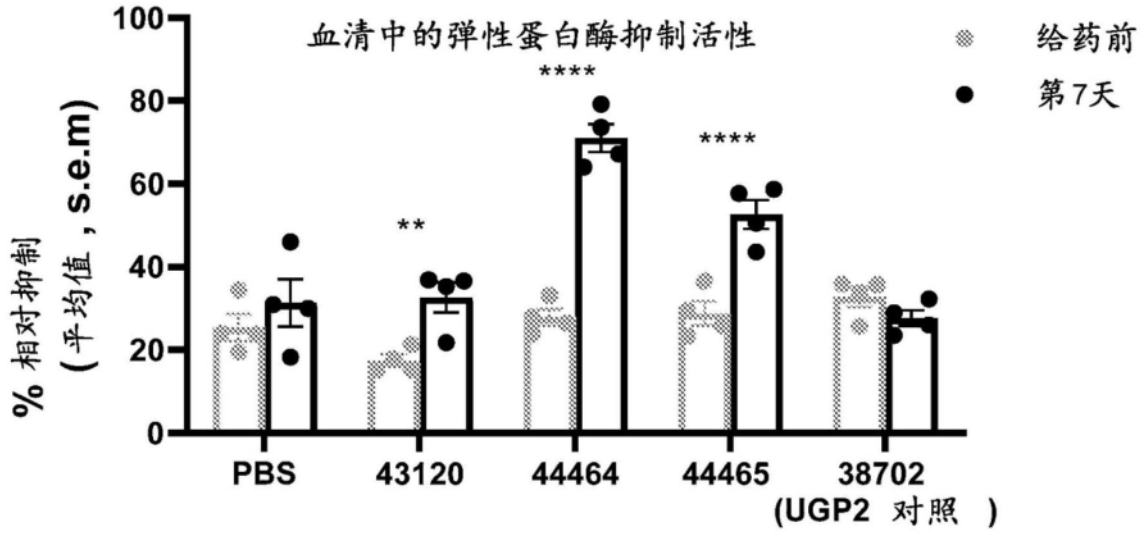


图40

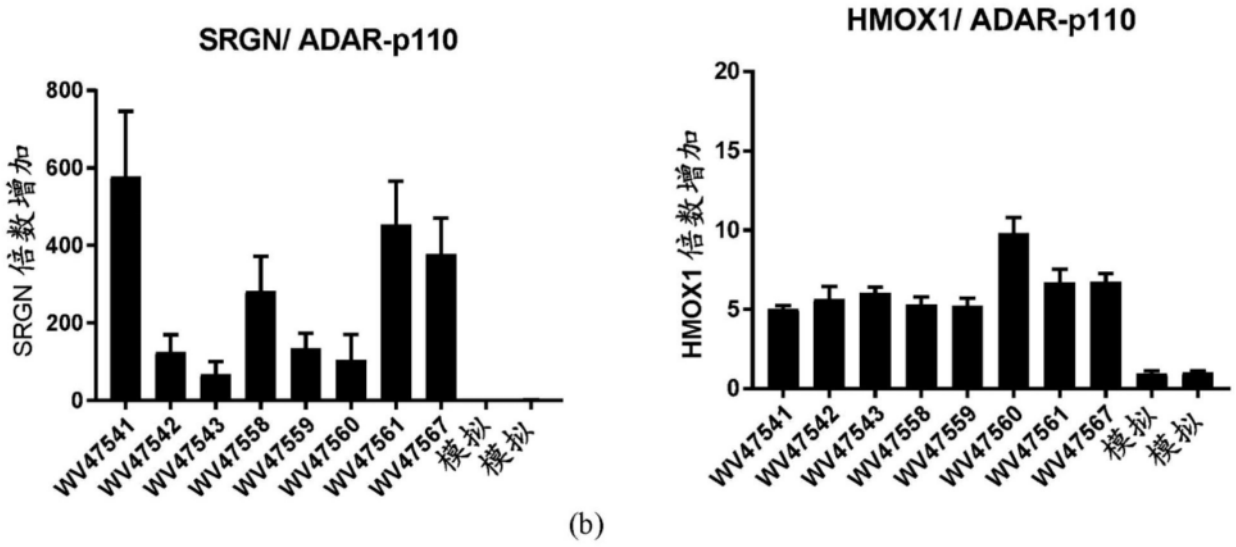
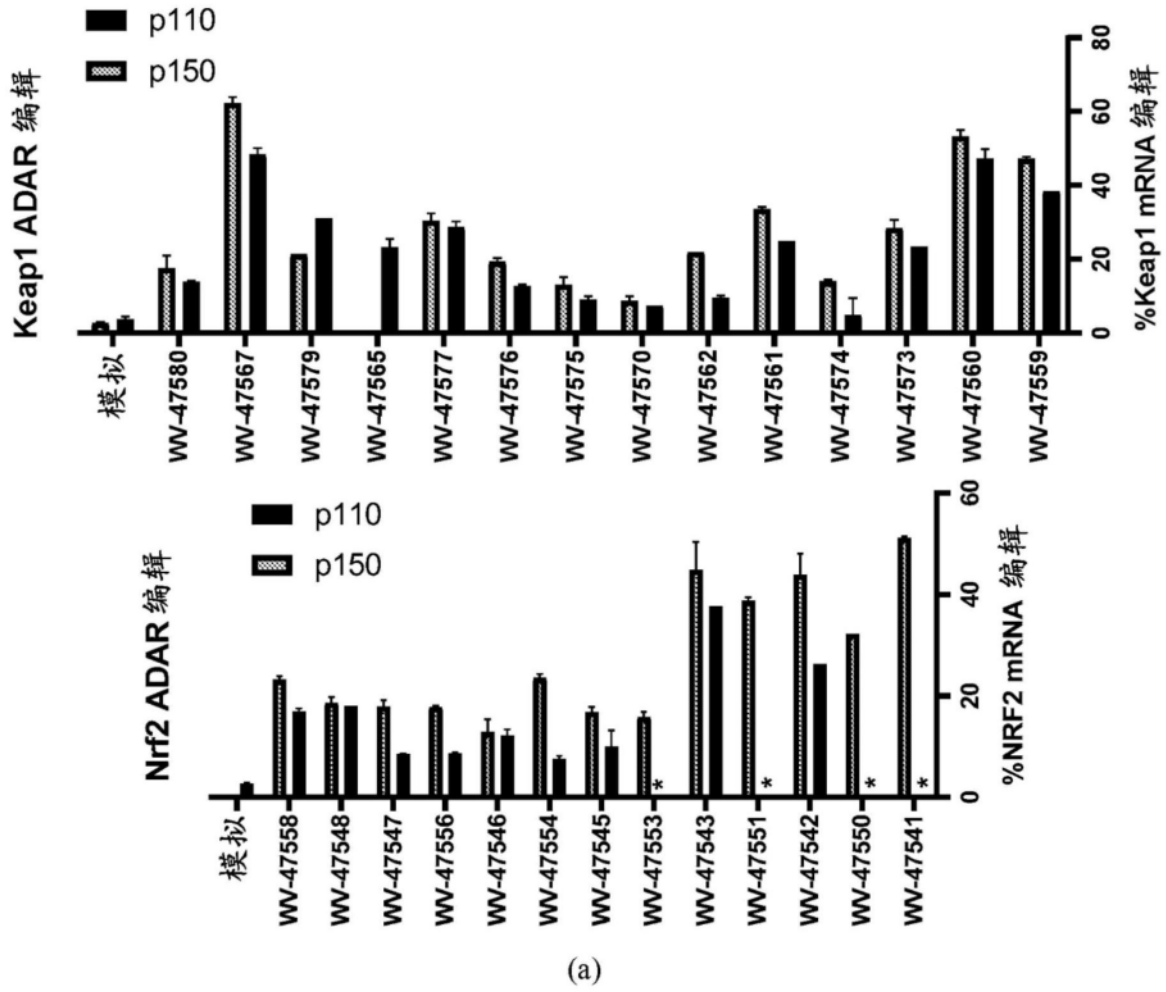


图41

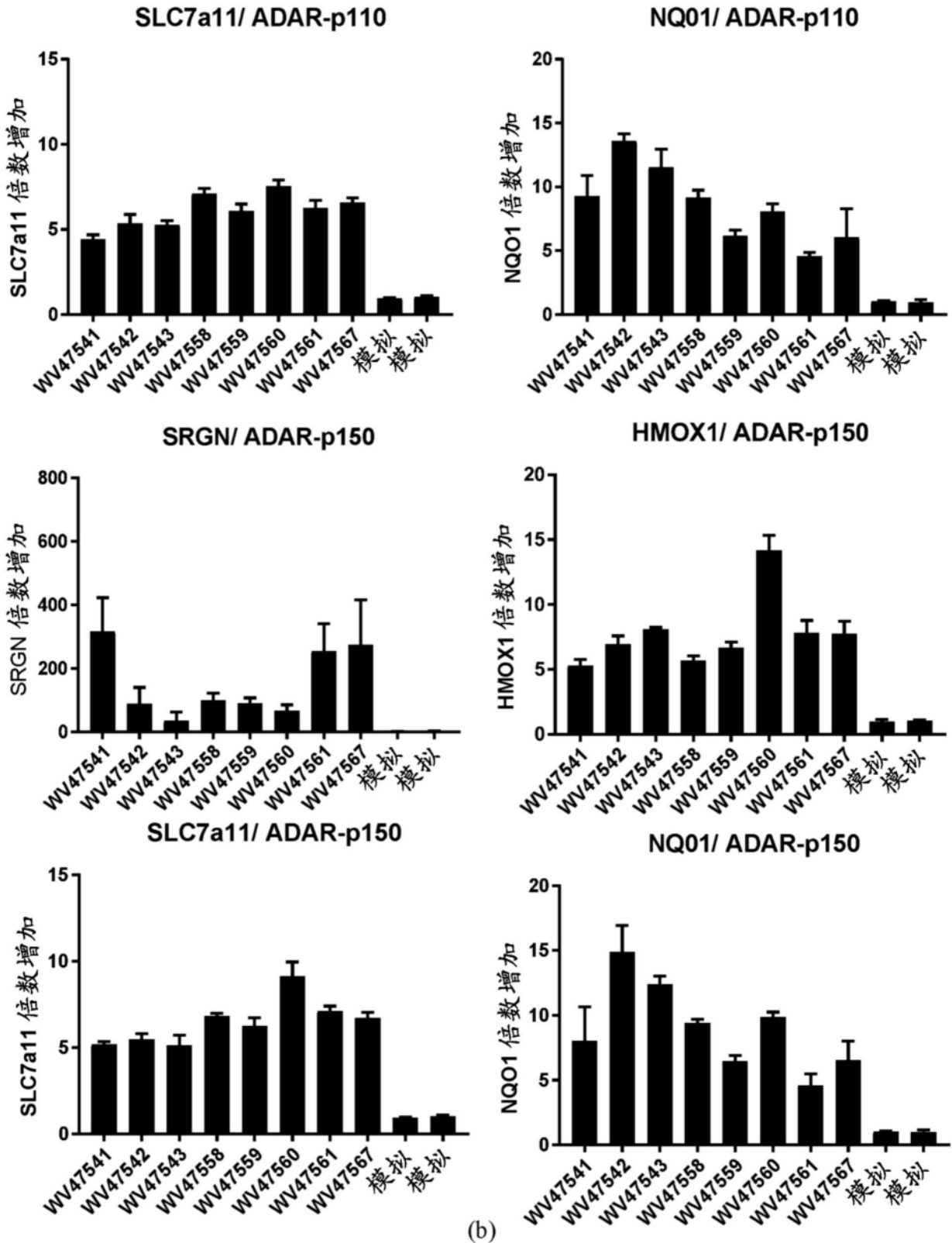


图41(续)

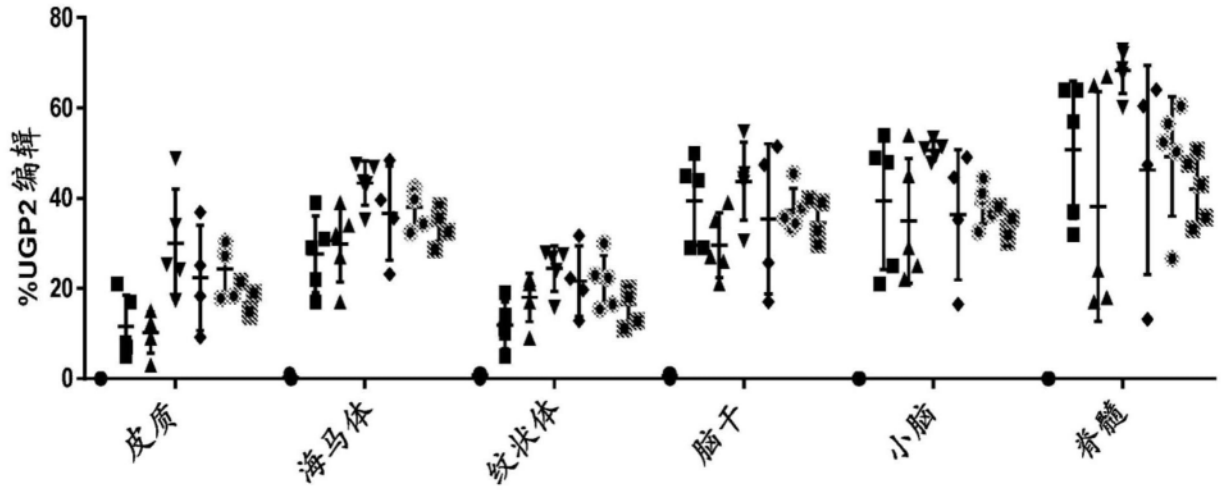


图42

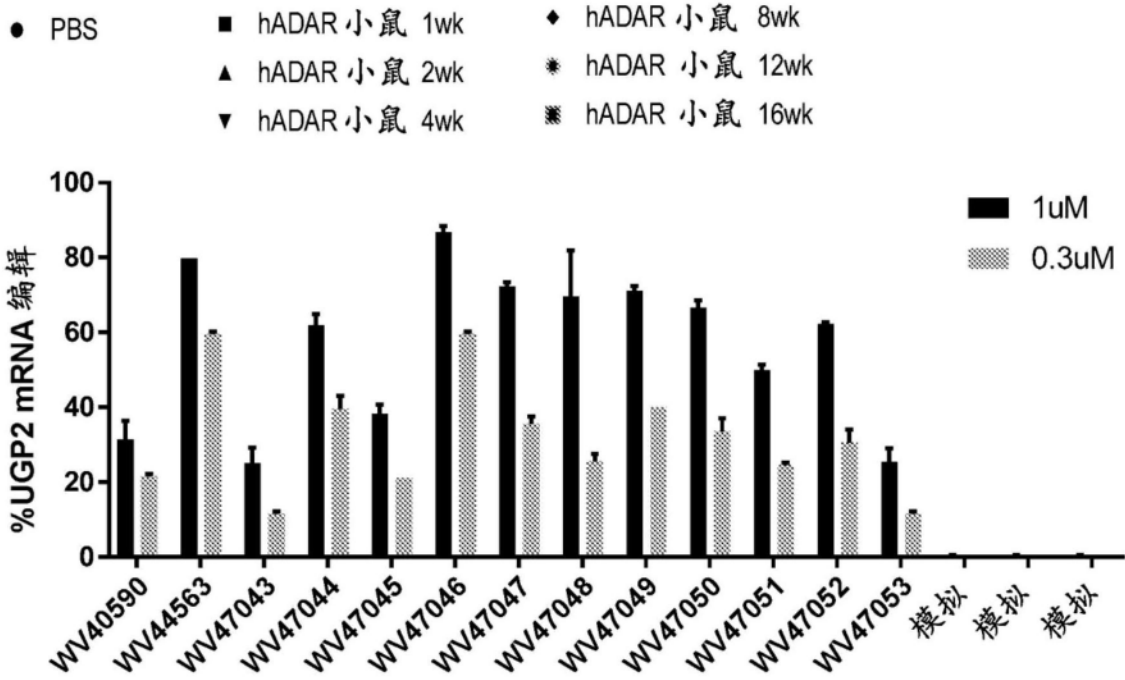


图43

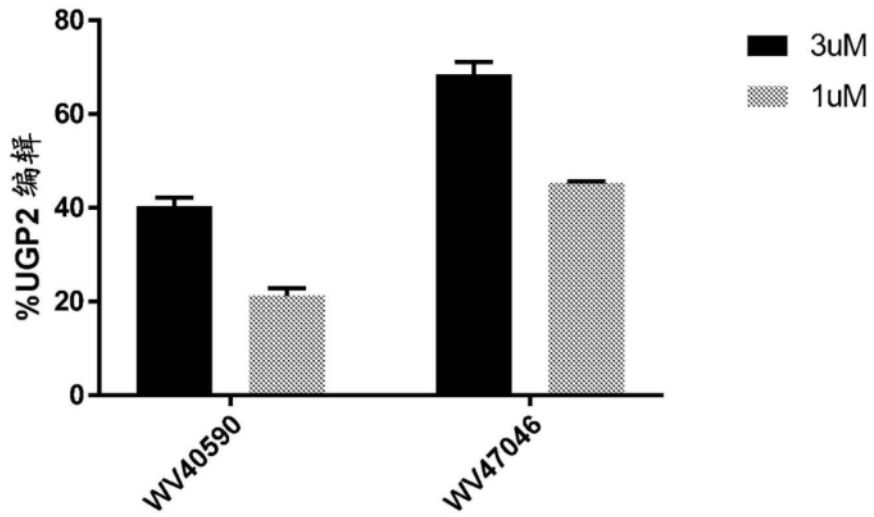


图44

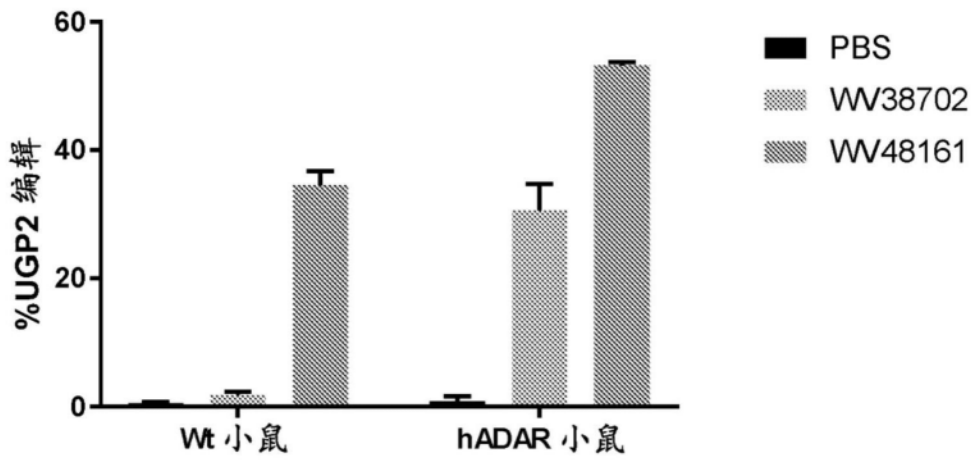


图45

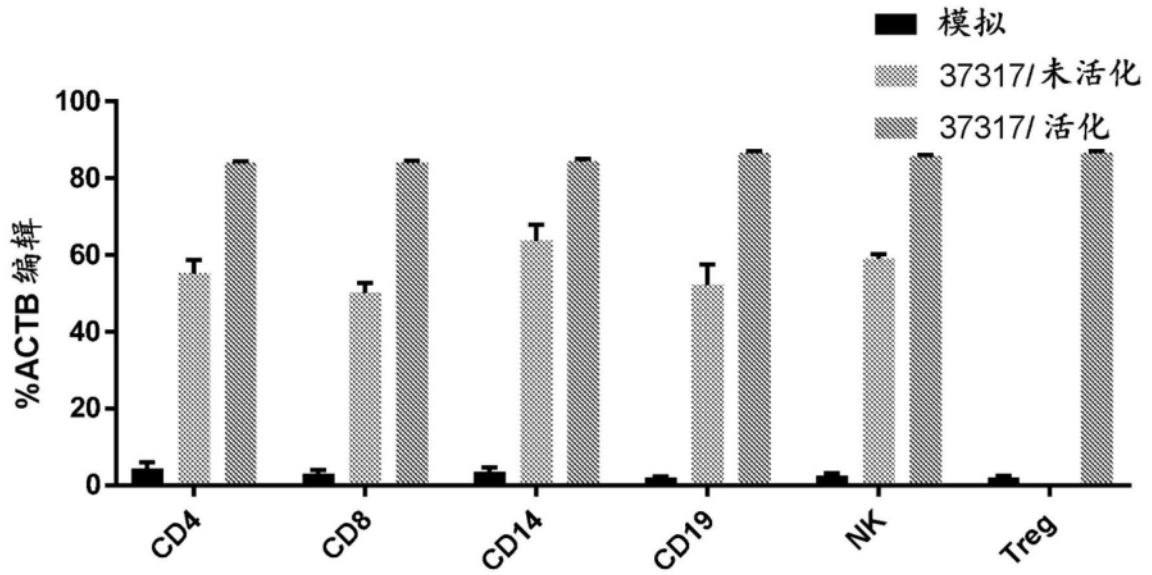


图46

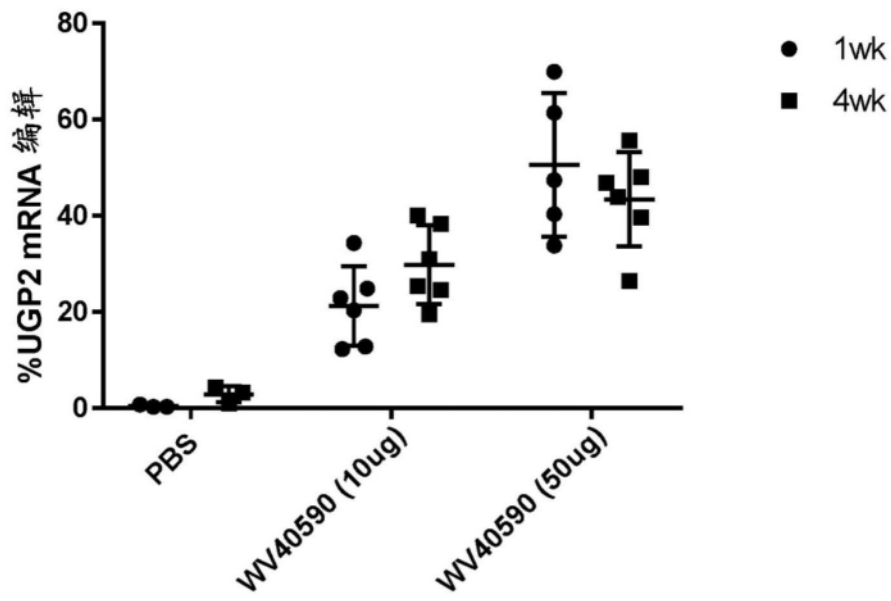


图47

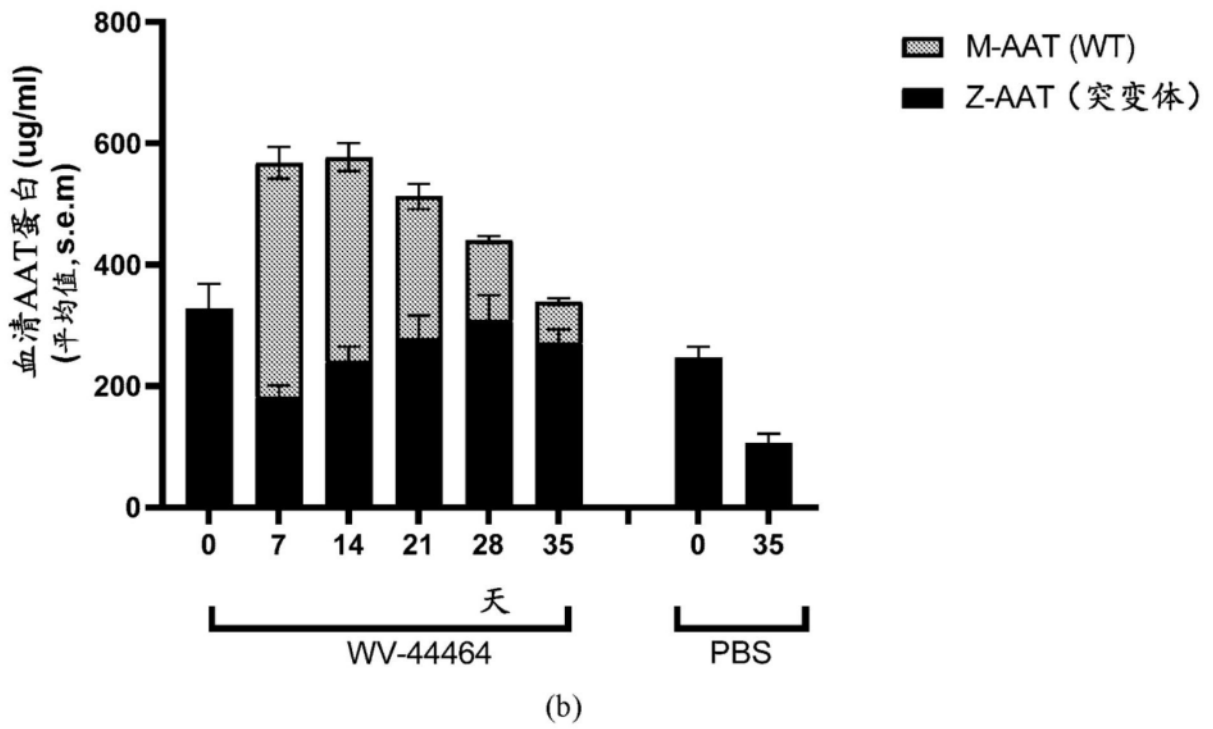
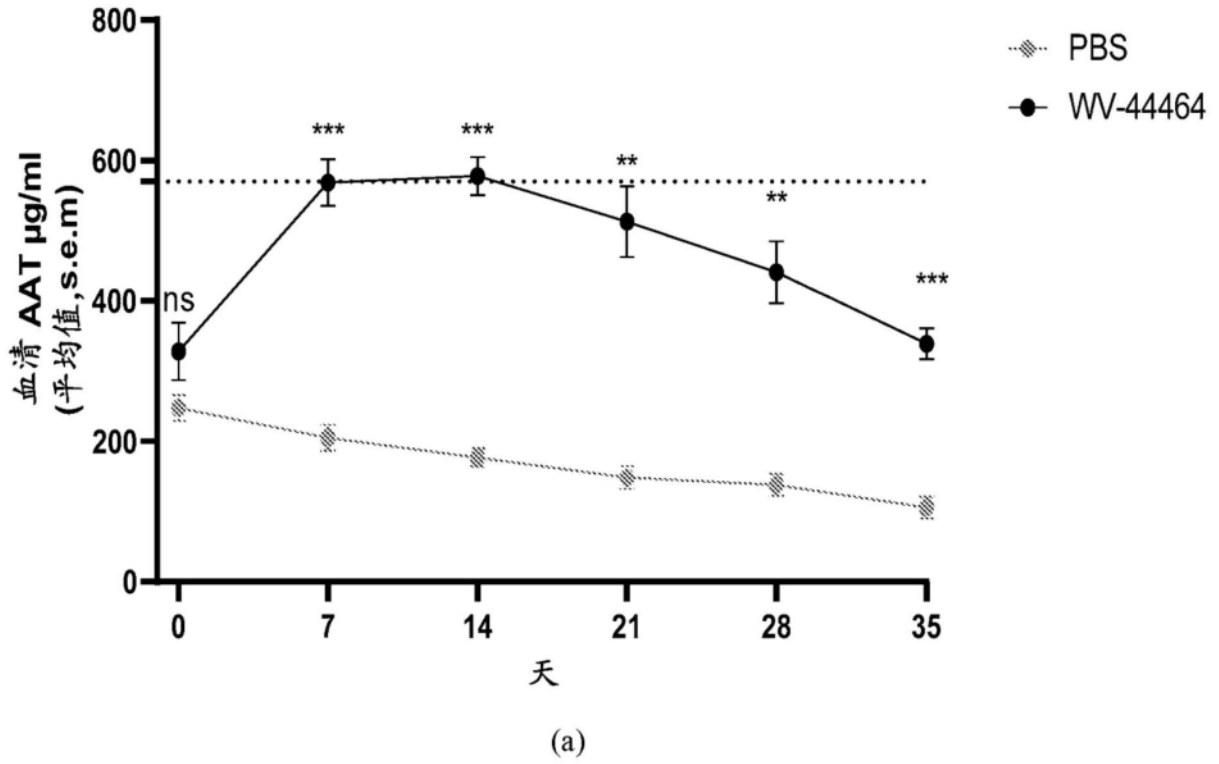


图48

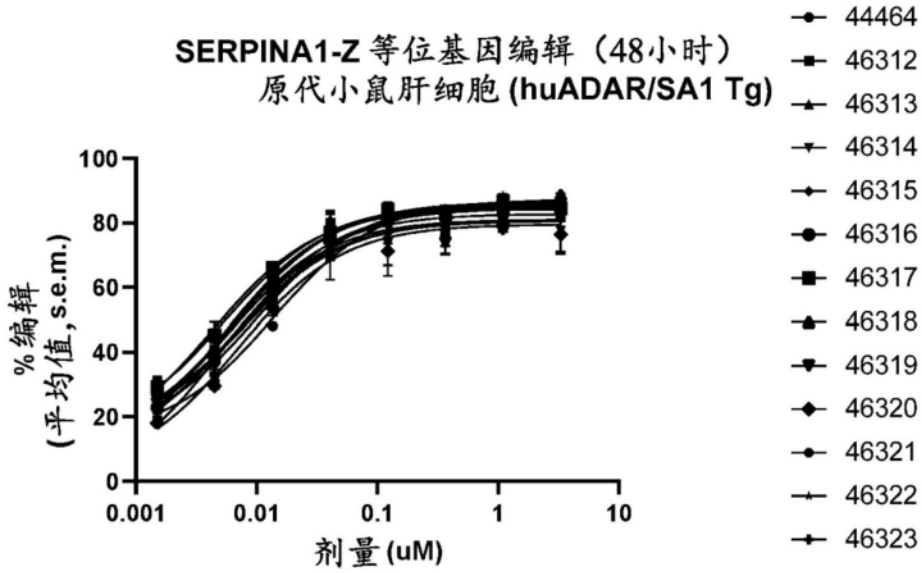


图49

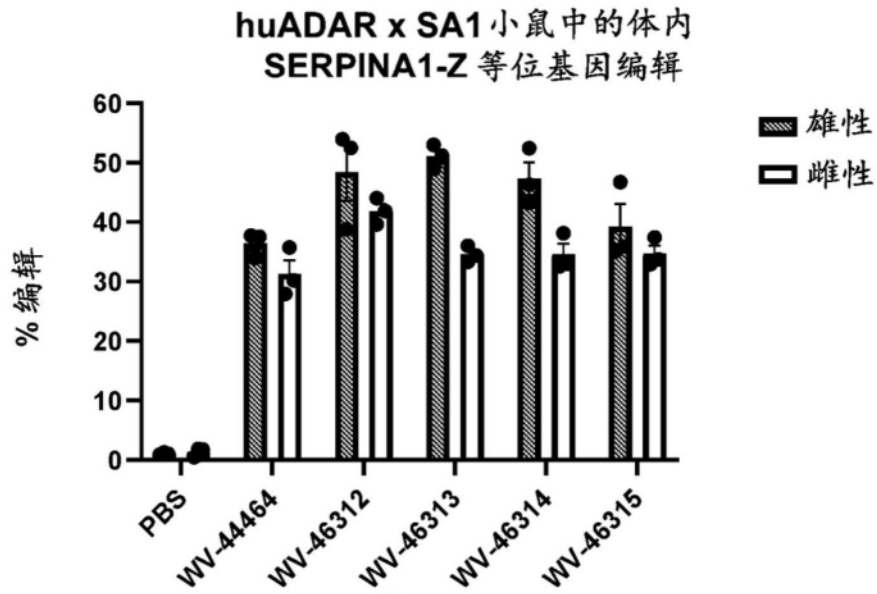


图50

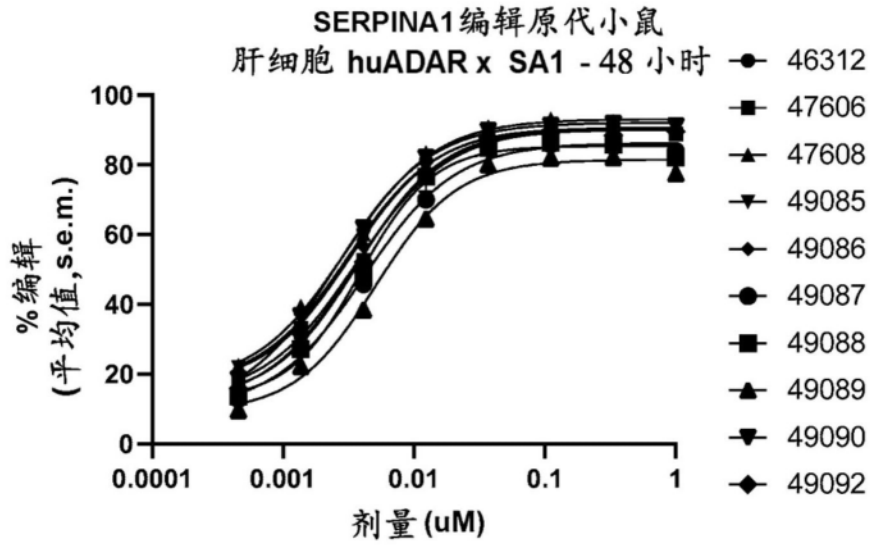


图51

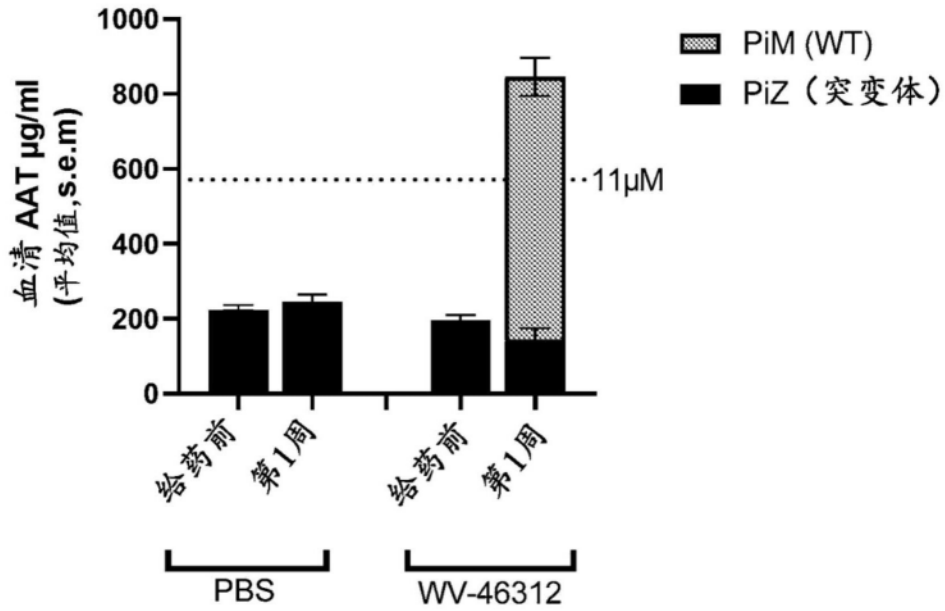


图52

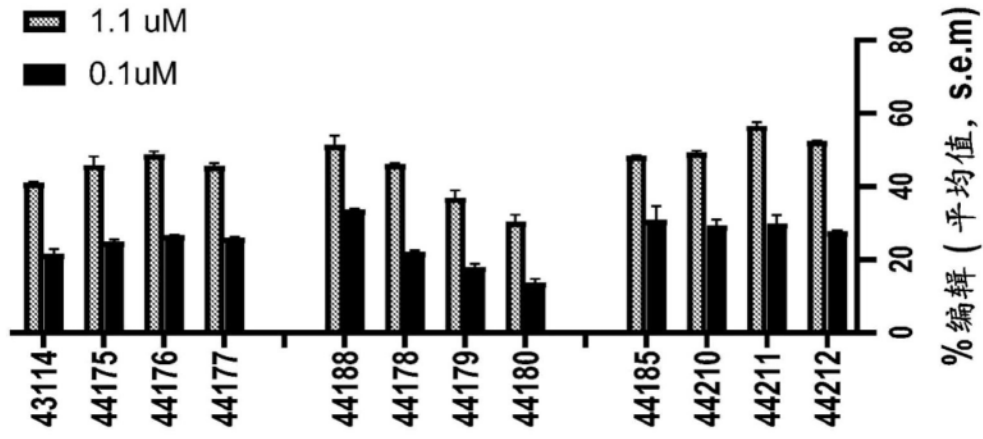


图53

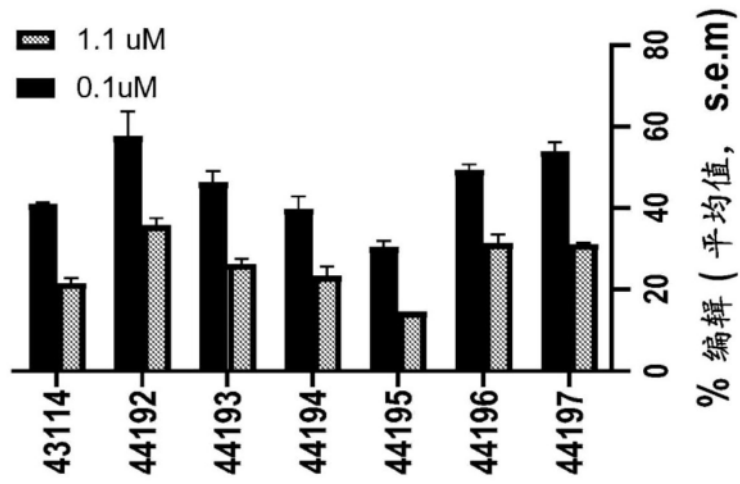


图54

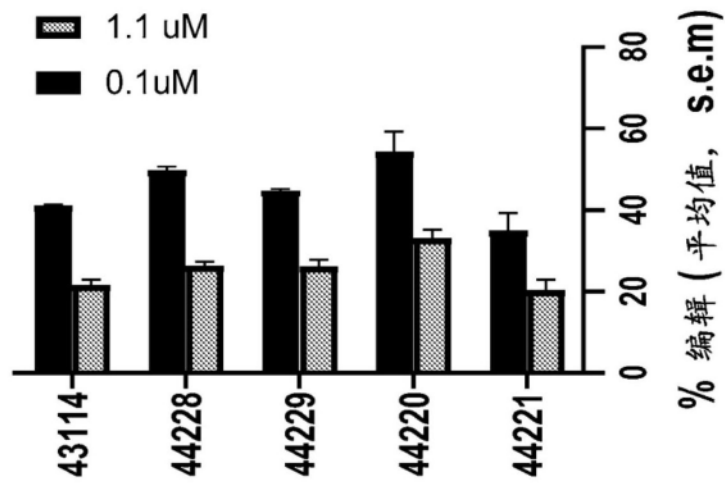


图55

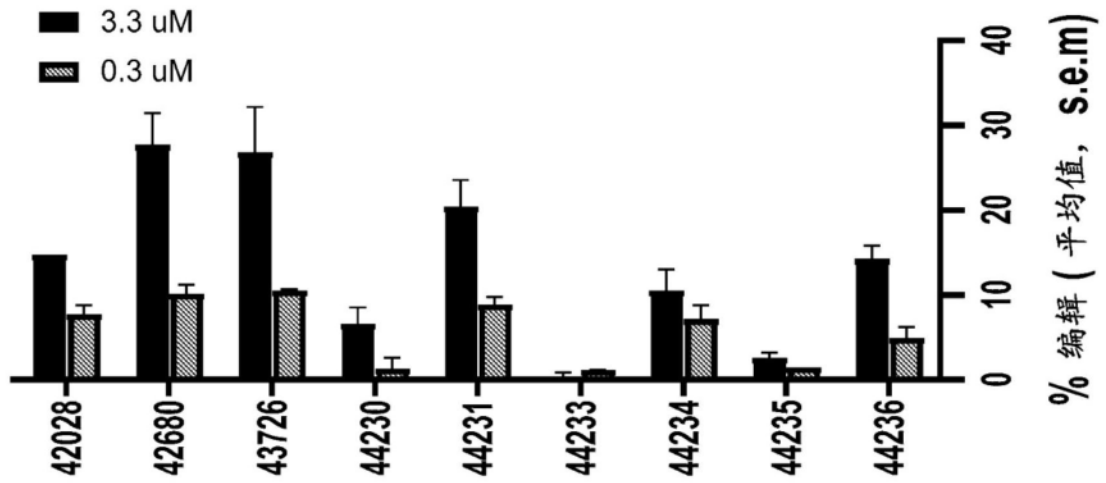


图56

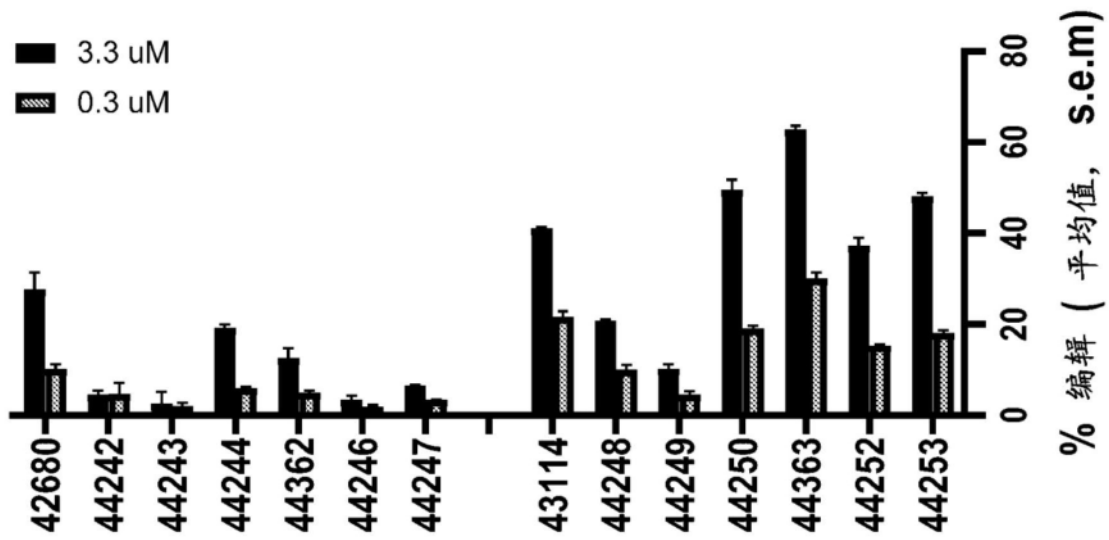


图57

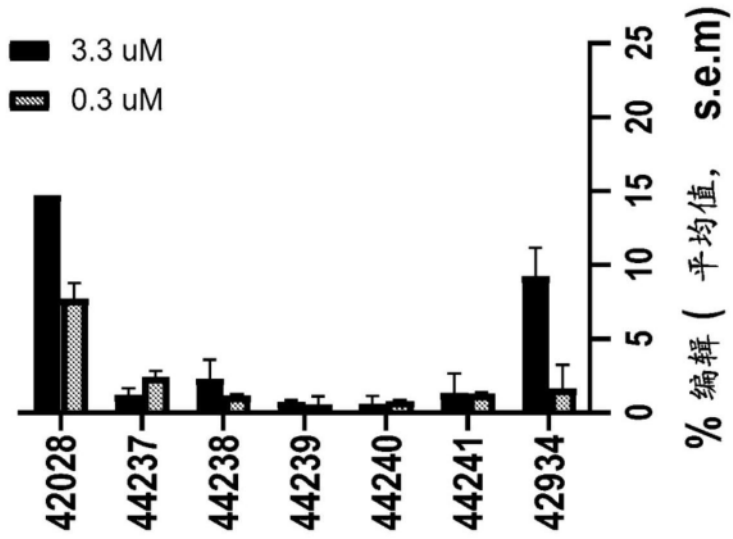


图58

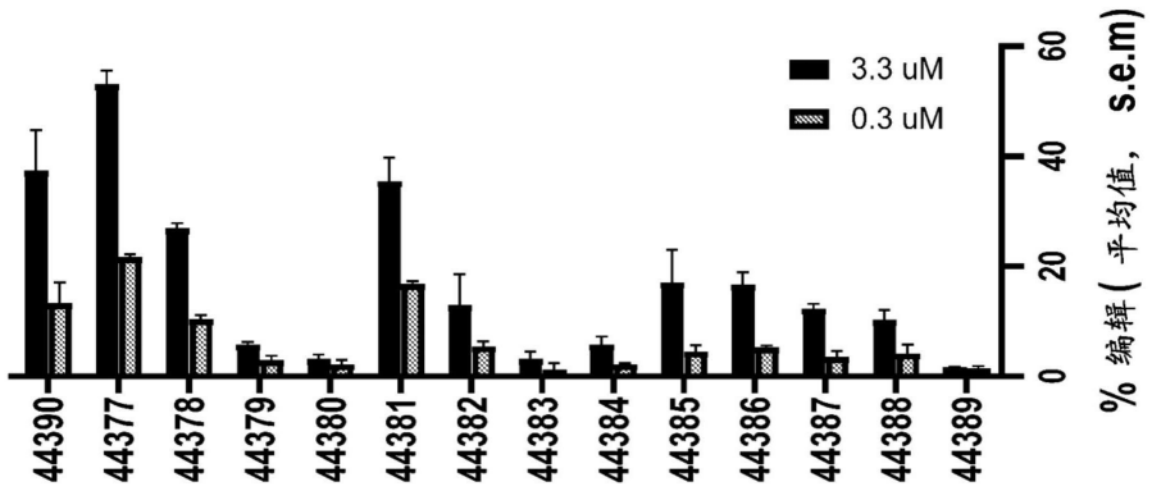


图59

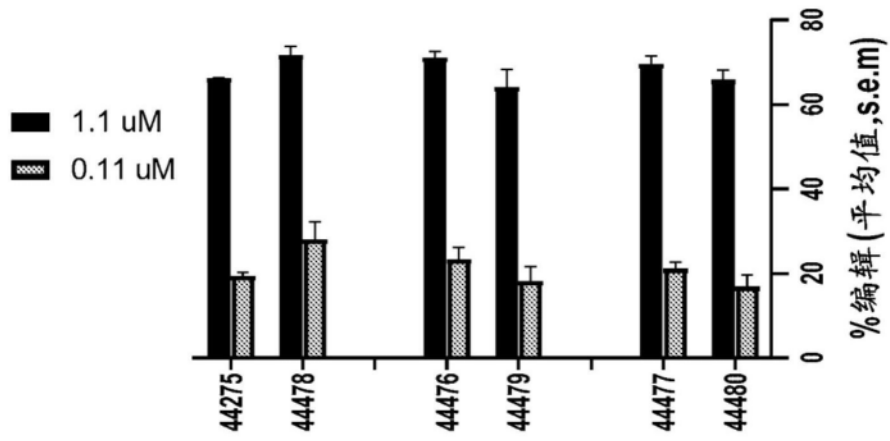


图60

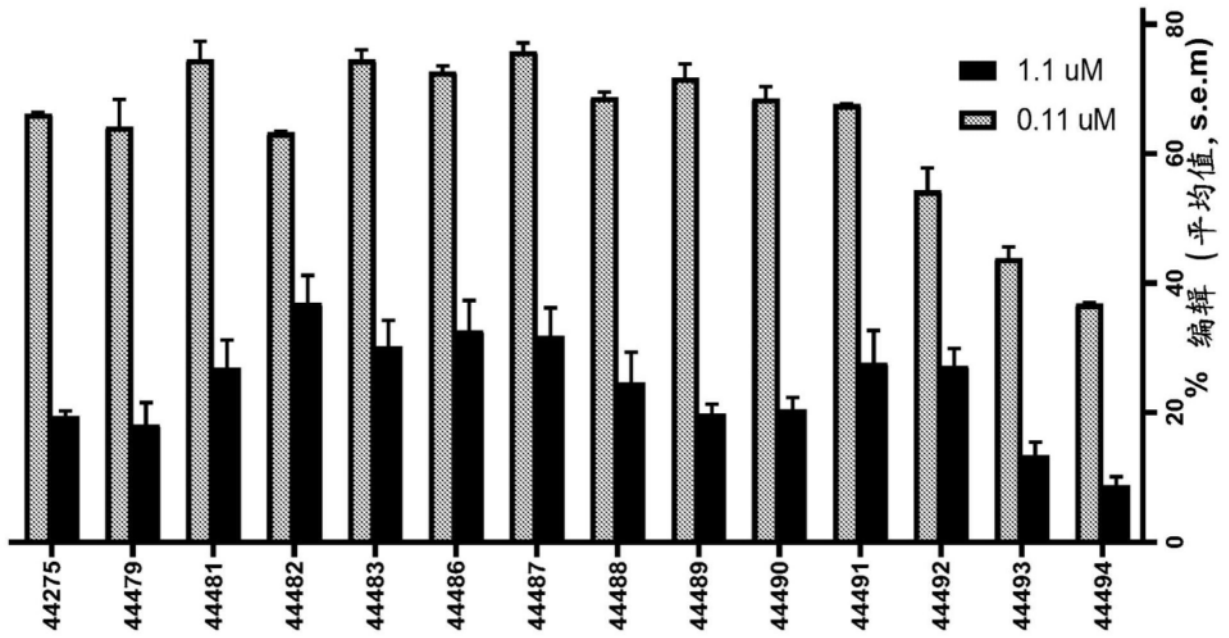


图61

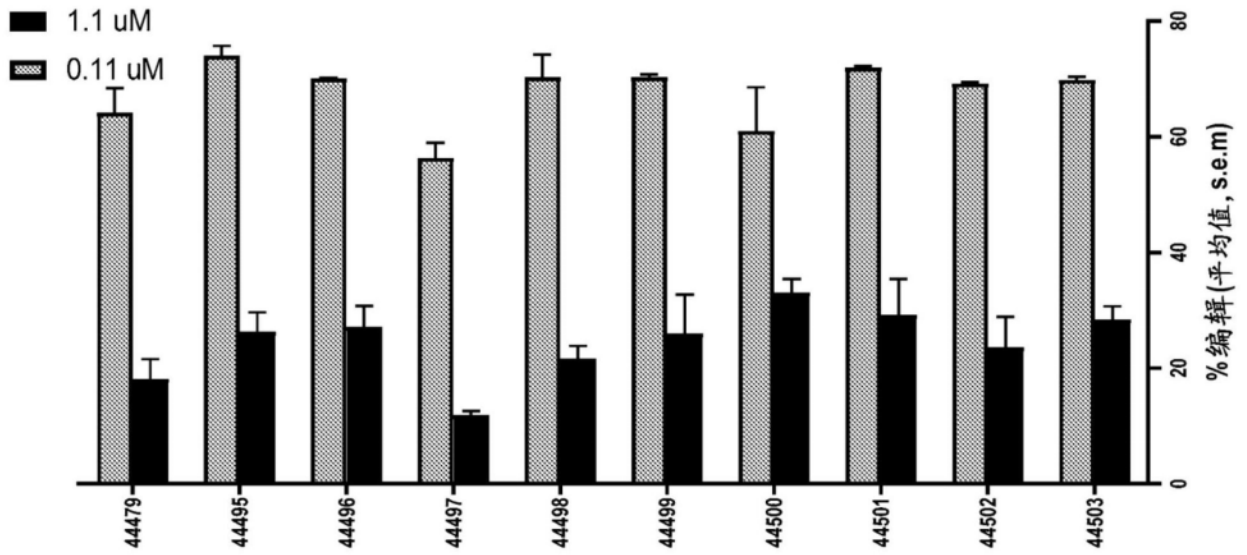


图62

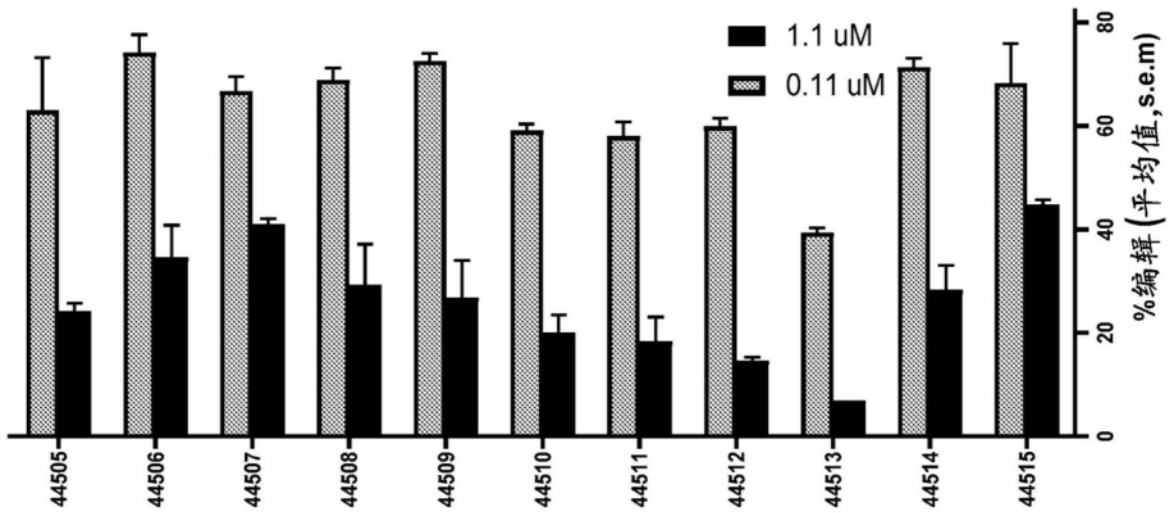


图63

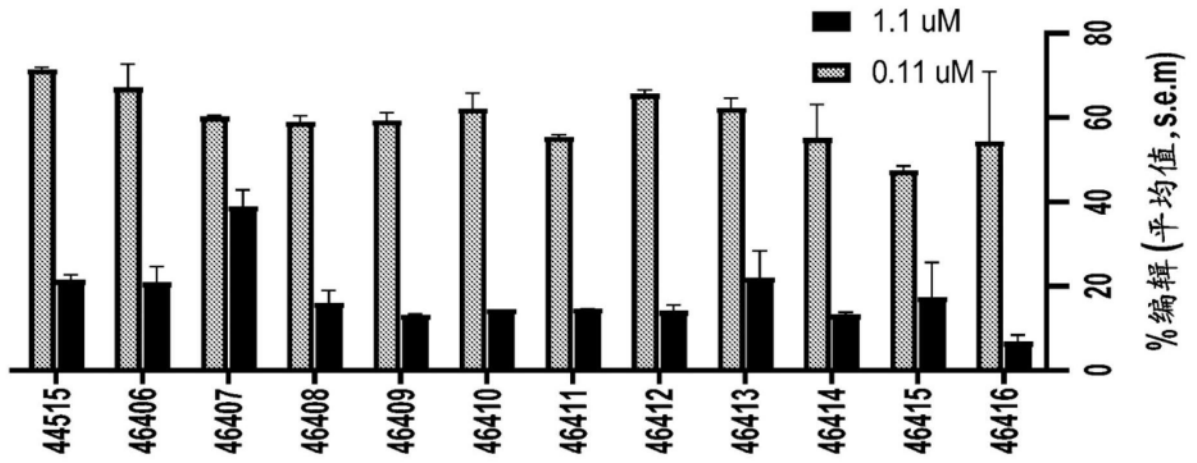


图64

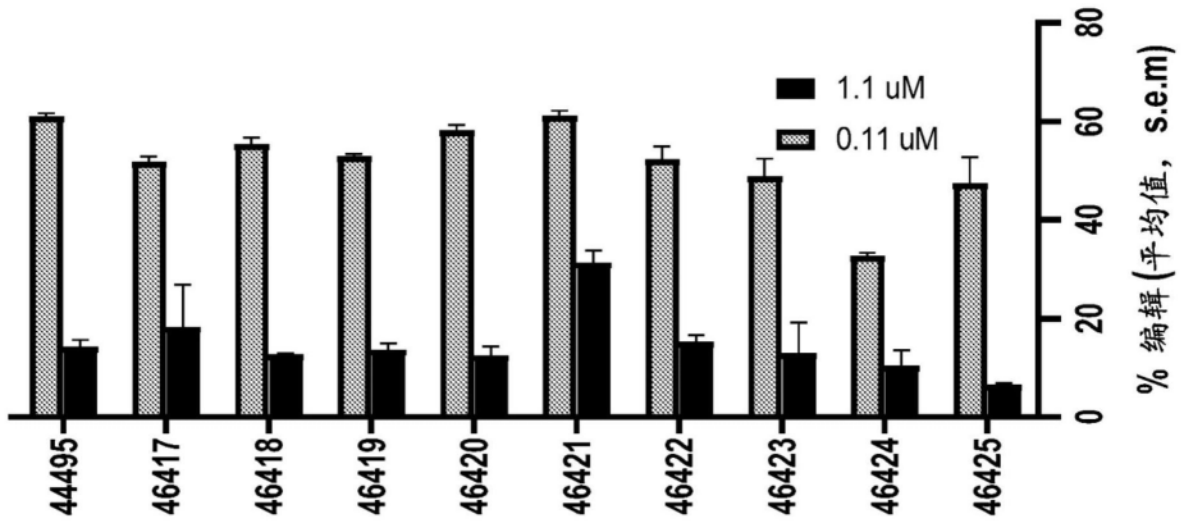


图65

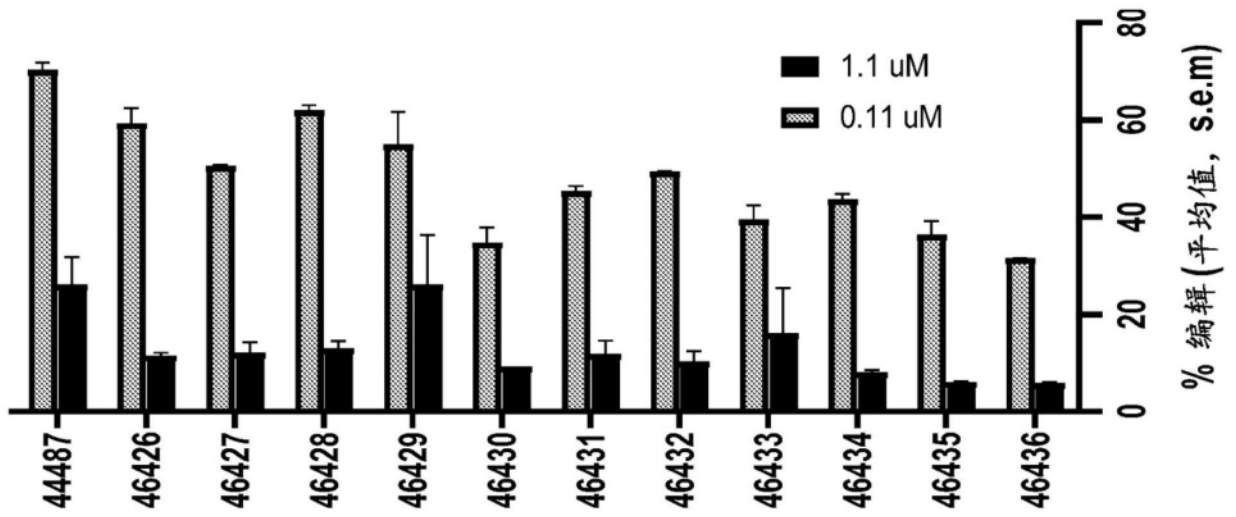


图66

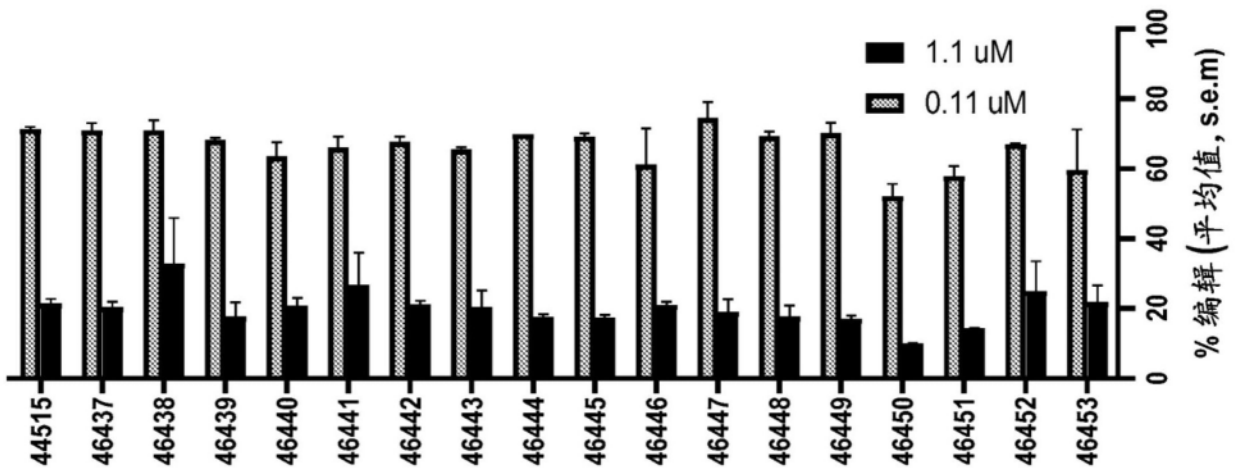


图67

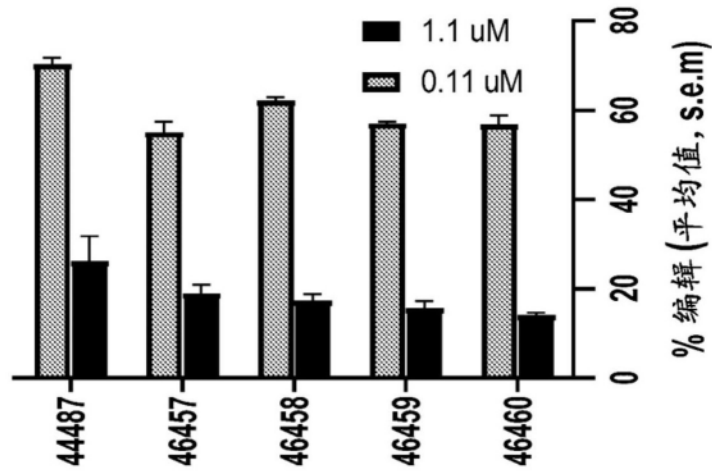


图68

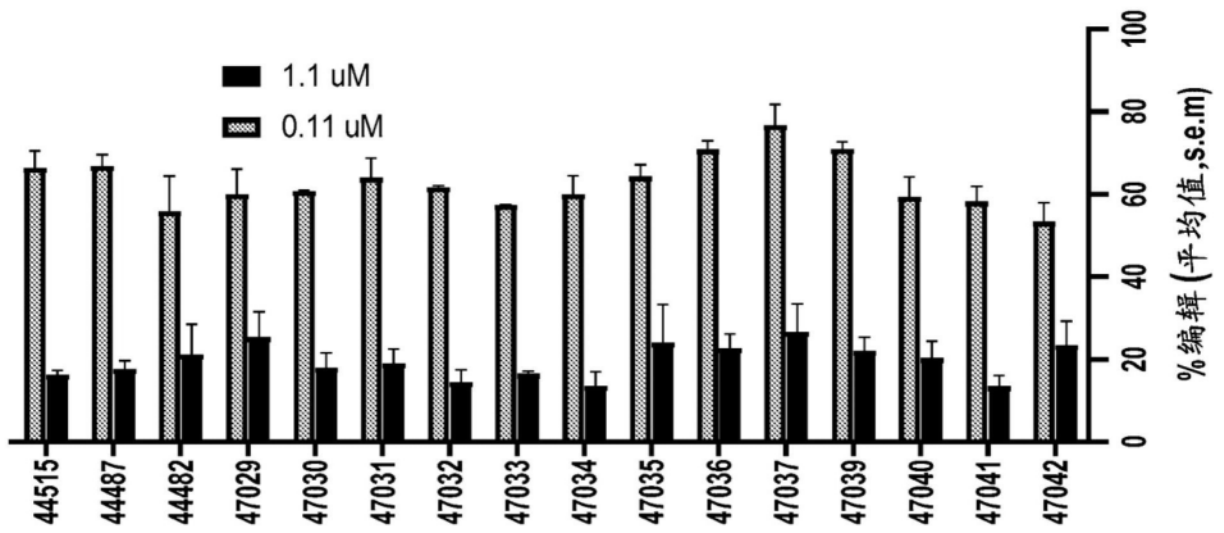


图69

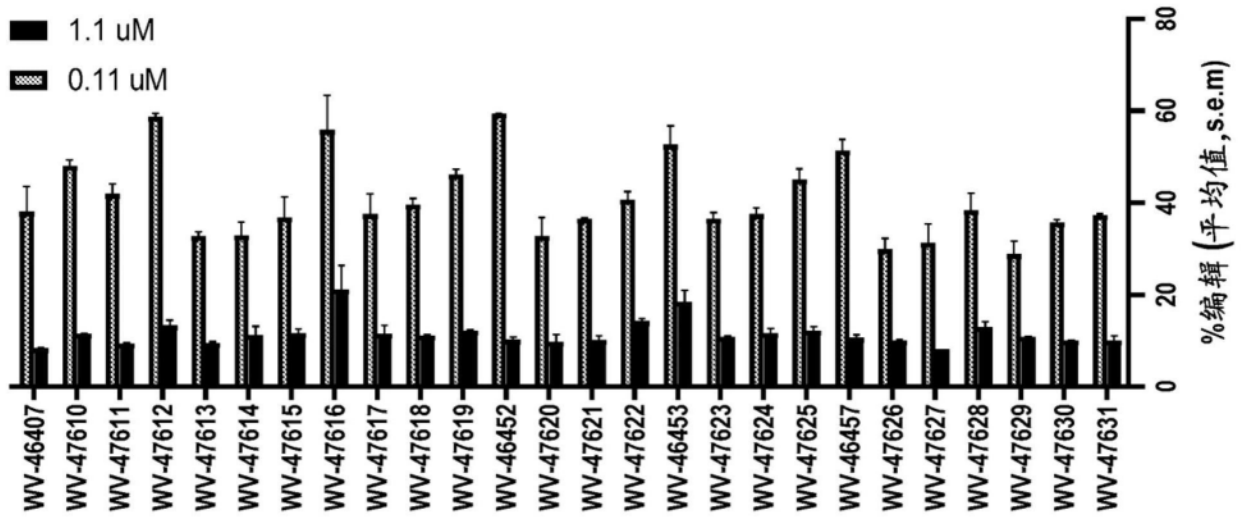


图70

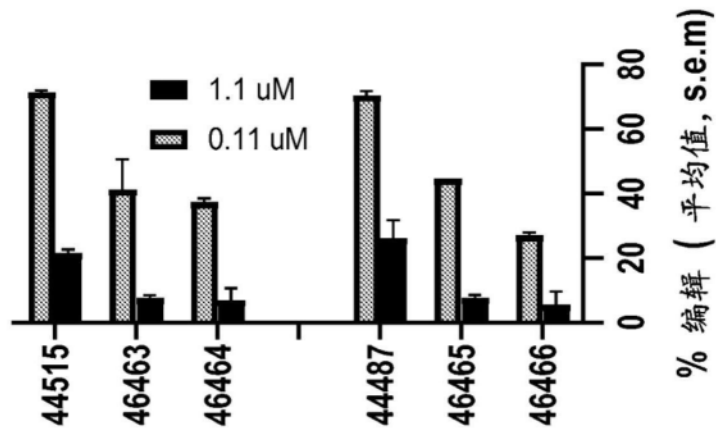


图71

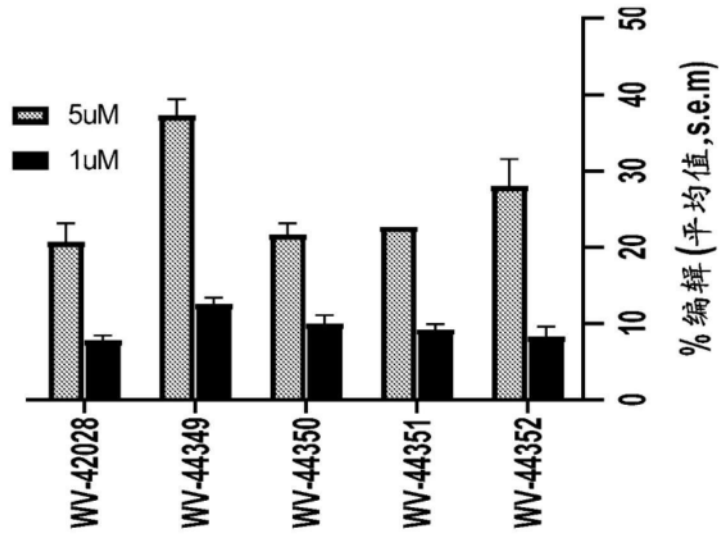


图72

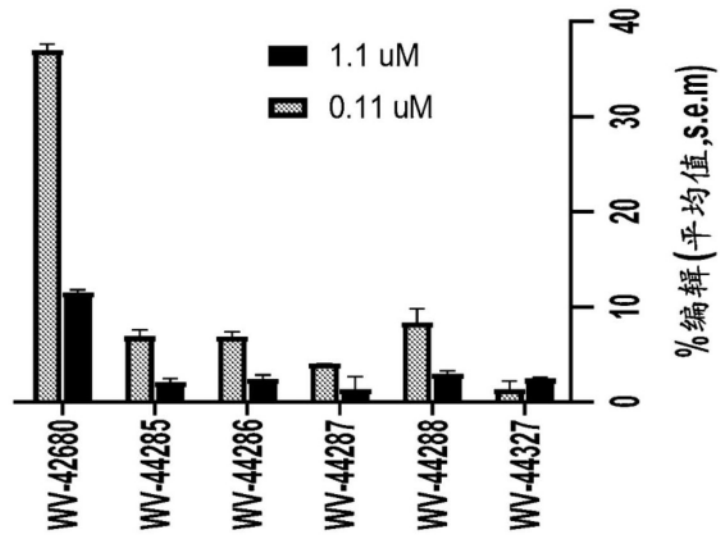


图73

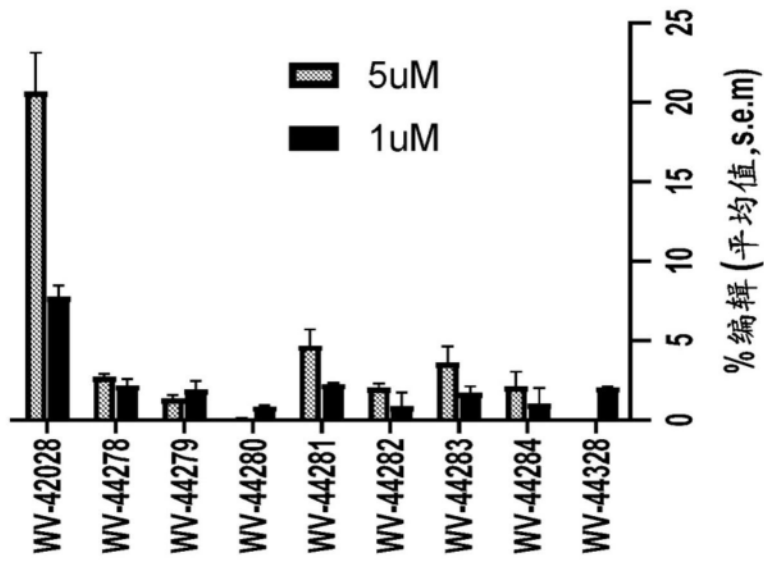


图74

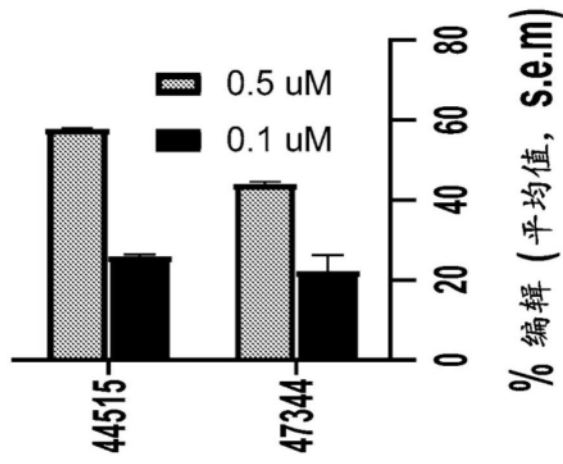


图75

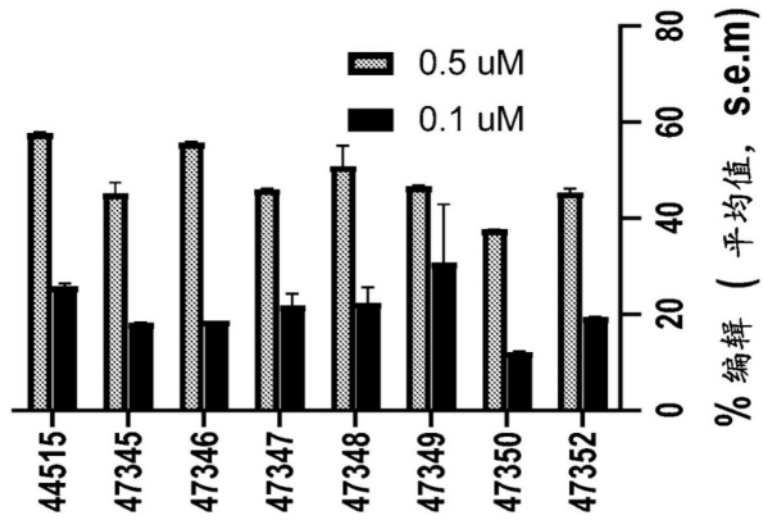


图76

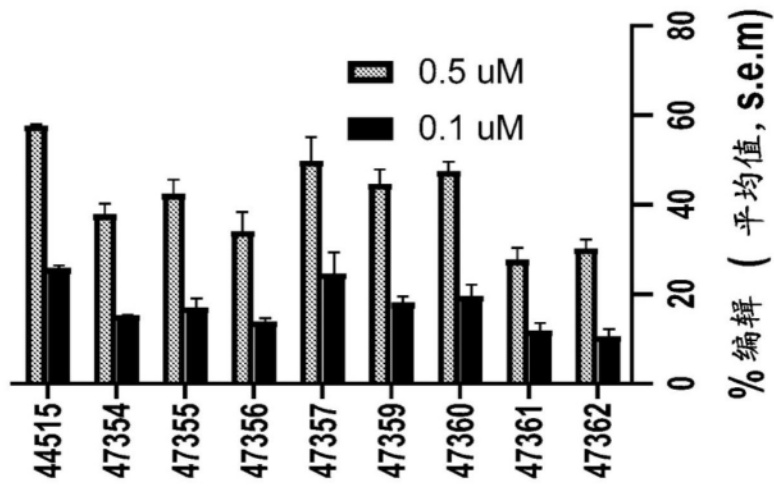


图77

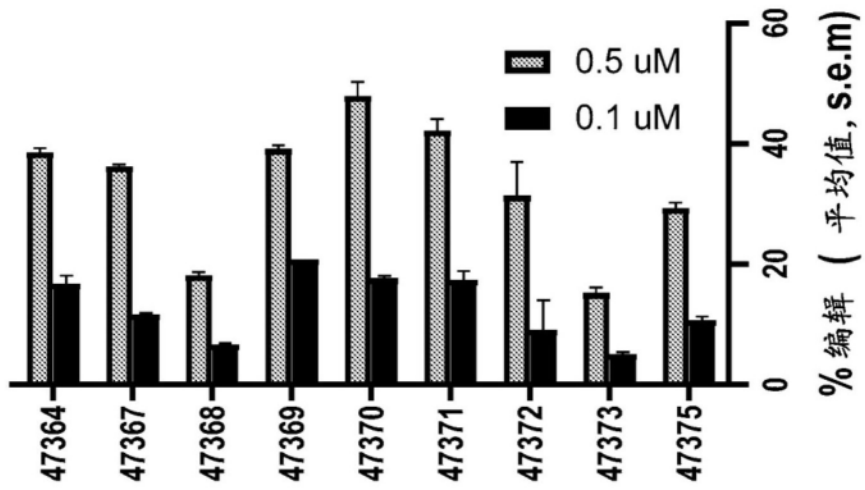


图78

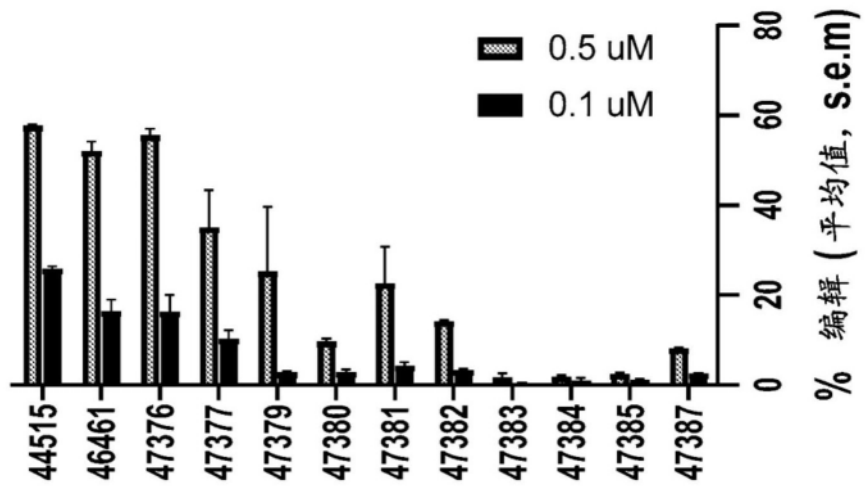


图79

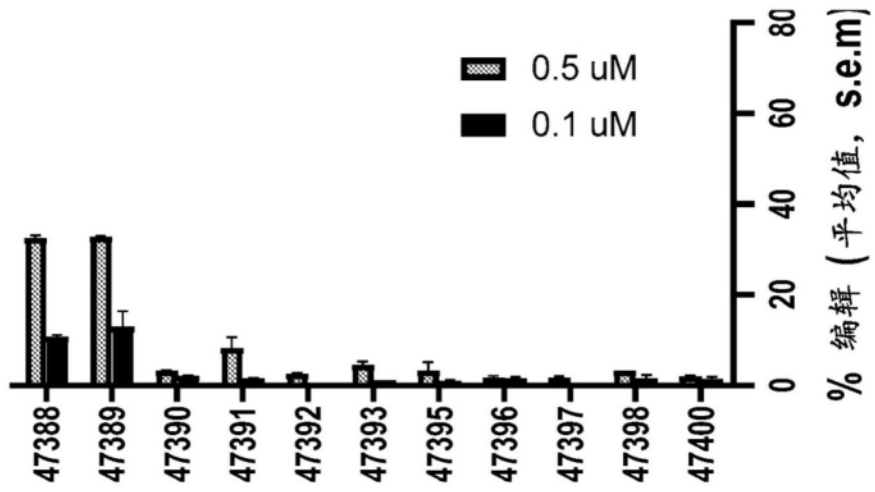


图80

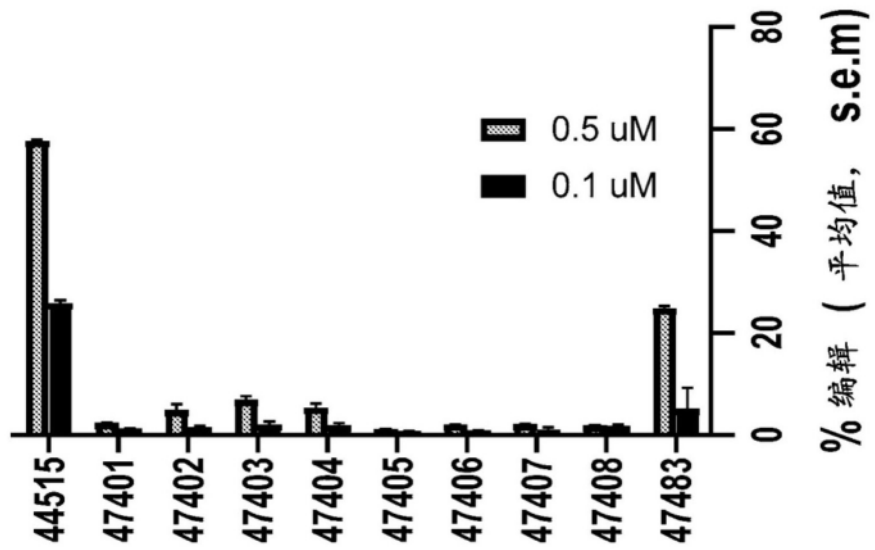


图81

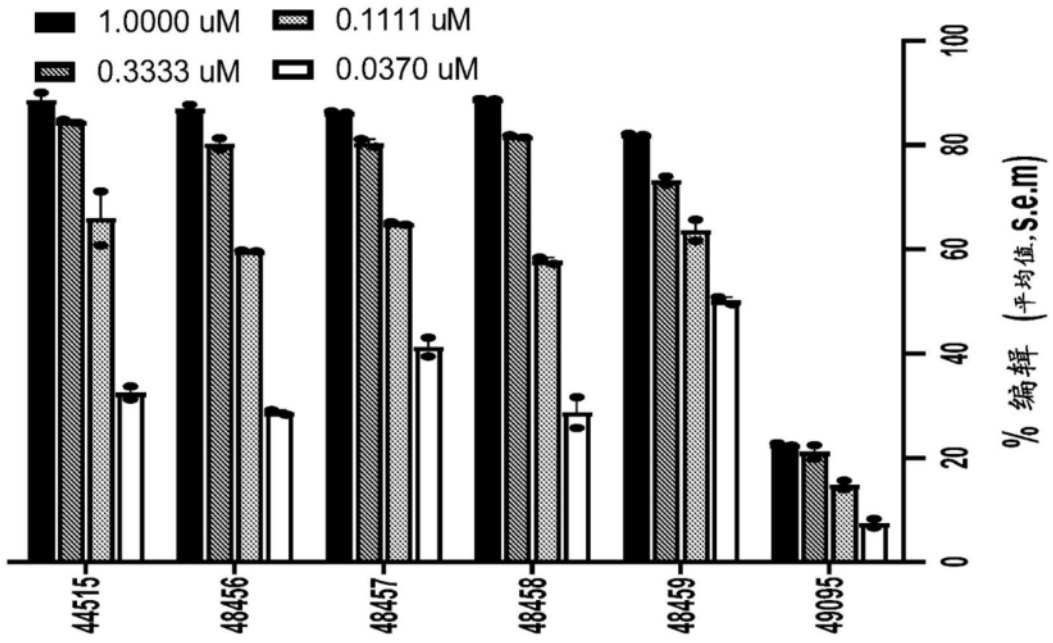


图82

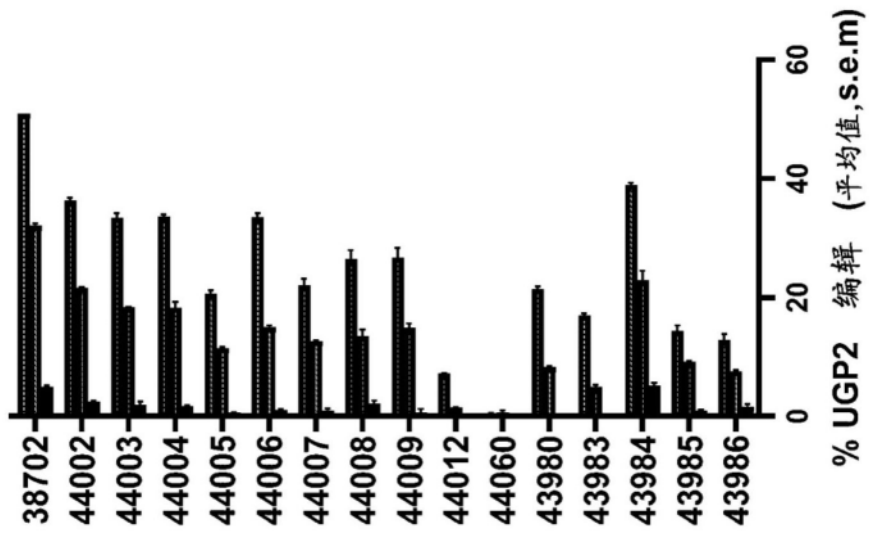


图83

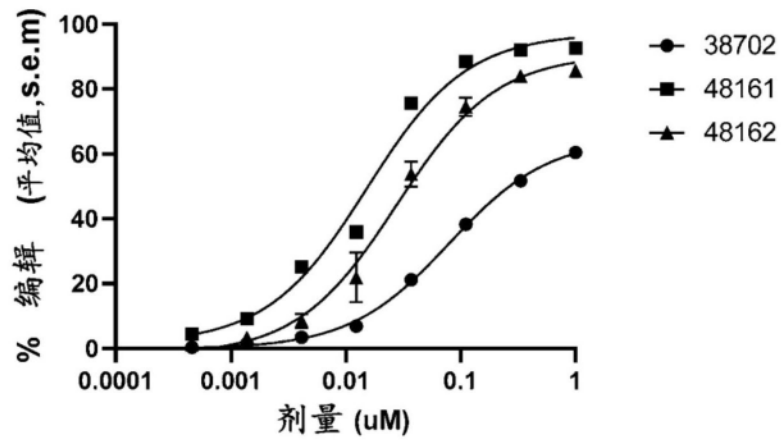


图84

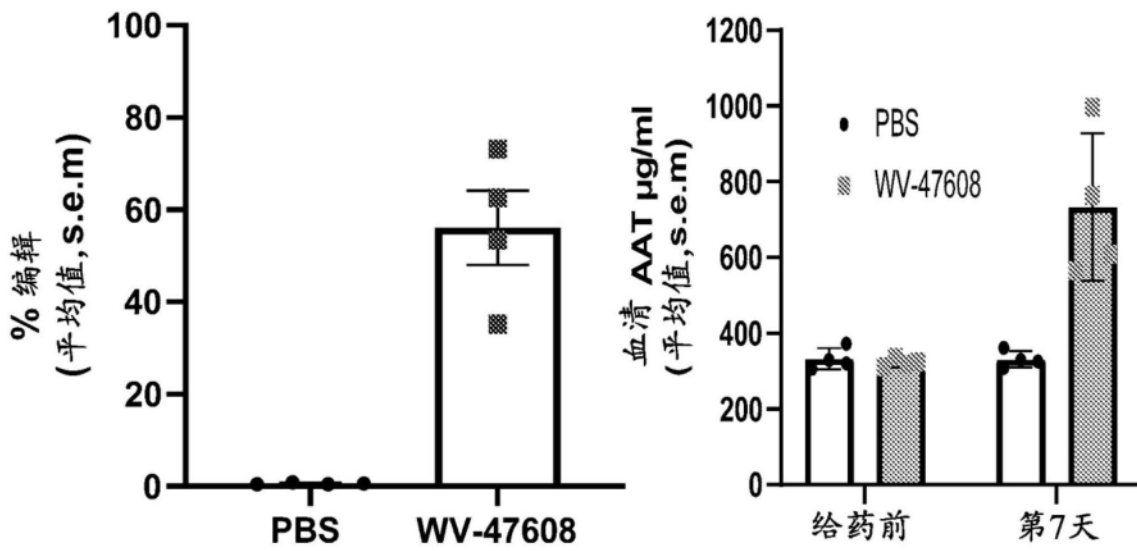


图85

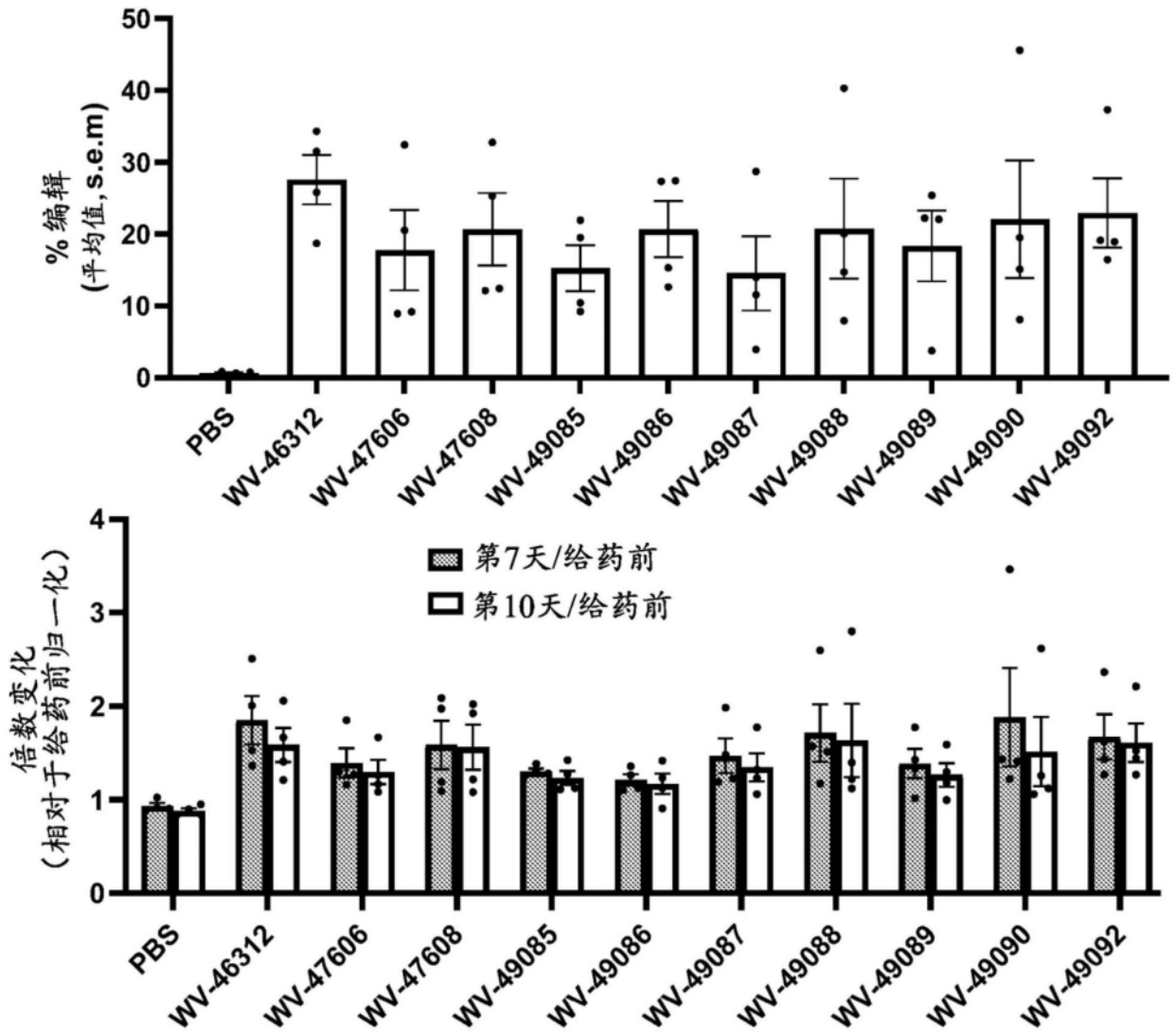


图86