

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202490641** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2024.10.17

(51) Int. Cl. *C12N 15/11* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.09.21

(54) **КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ДВУХНИТЕВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И СПОСОБЫ, СВЯЗАННЫЕ С НИМИ**

(31) 63/246,756

(32) 2021.09.21

(33) US

(86) PCT/US2022/044296

(87) WO 2023/049218 2023.03.30

(71) Заявитель:
УЭЙВ ЛАЙФ САЕНСИС ЛТД. (SG)

(72) Изобретатель:

Варгиз Чандра, Ивамото Наоки, Лю Вэй, Луу Нгок Данг Кхоа, Кандасами Пачамутху, Маратпан Субраманиан, Трипатхи Снехлата (US)

(74) Представитель:

Билык А.В., Поликарпов А.В., Соколова М.В., Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Дмитриев А.В., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) В настоящем изобретении представлены двухнитевые олигонуклеотиды, композиции и способы, связанные с ними. Настоящее изобретение охватывает признание того, что структурные элементы двухнитевых олигонуклеотидов, такие как последовательность оснований, химические модификации (например, модификации сахара, основания и/или межнуклеотидных связей) или их паттерны и/или стереохимия (например, стереохимия хиральных центров остова (хиральных межнуклеотидных связей)) и/или ее паттерны могут оказывать значительное влияние на свойства и виды активности олигонуклеотидов, например активность, представляющую собой РНК-интерференцию (RNAi), стабильность, доставку и т.д. В настоящем изобретении также предусмотрены способы лечения заболеваний с применением предусмотренных композиций на основе двухнитевых олигонуклеотидов, например, в РНК-интерференции.

A1

202490641

202490641

A1

**КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ДВУХНИТЕВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ
И СПОСОБЫ, СВЯЗАННЫЕ С НИМИ
ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США с серийным № 63/246756, поданной 21 сентября 2021 г., содержание которой включено посредством ссылки во всей своей полноте.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Нацеленные на гены олигонуклеотиды применимы в различных вариантах применения, например терапевтических, диагностических, исследовательских вариантах применения и вариантах применения в наноматериалах. Применение встречающихся в природе нуклеиновых кислот (например, немодифицированных ДНК или РНК) в таких вариантах применения может быть ограничено, например, вследствие их чувствительности к эндо- и экзонуклеазам. Таким образом, чтобы преодолеть эти недостатки, были разработаны различные синтетические аналоги. Они включают синтетические олигонуклеотиды, которые содержат химические модификации, например модификации оснований, модификации сахаров, модификации остова. Однако в данной области техники все еще остается потребность в двухнитевых (ds) олигонуклеотидах с улучшенными свойствами для применения в связи с описанными выше вариантами применения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

Настоящее изобретение частично направлено на признание того, что контроль структурных элементов олигонуклеотидов двухнитевого (ds) олигонуклеотида может оказывать значительное влияние на свойства и/или активность ds-олигонуклеотида. В определенных вариантах осуществления такие структурные элементы включают одно или несколько из: (1) химических модификаций (например, модификаций сахара, основания и/или межнуклеотидной связи) и их паттернов и (2) изменений стереохимии (например, стереохимии хиральной межнуклеотидной связи остова) и их паттернов. Один или несколько таких структурных элементов в определенных вариантах осуществления могут независимо присутствовать в одном или обоих олигонуклеотидах ds-олигонуклеотида. В определенных вариантах осуществления свойства и/или виды активности, которые подвергаются влиянию таких структурных элементов, включают без ограничения участие в уменьшении экспрессии, активности или уровня гена или его генного продукта, направление такого уменьшения, что опосредуется, например, РНК-интерференцией (RNAi-интерференцией), опосредованным РНКазой Н нокдауном, стерическим затруднением трансляции и т. д.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что композиции, содержащие ds-олигонуклеотиды (например, dsRNAi-олигонуклеотиды, также называемые dsRNAi-средствами) с контролируемыми структурными элементами, обеспечивают неожиданные свойства и/или виды активности.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров остова, неожиданно, может поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим одно или несколько из:

(1) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, т. е. в направлении 5';

(2) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

(3) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, где фосфотиоатные хиральные центры остова, находящиеся выше по последовательности, находятся в Rp- или Sp-конфигурации;

(4) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) +3-нуклеотид и +4-нуклеотид и (b) +5-нуклеотид и +6-нуклеотид;

(5) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации; и

(б) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих фосфотионатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1);

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны Rp-, Sp- или стереослучайными межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

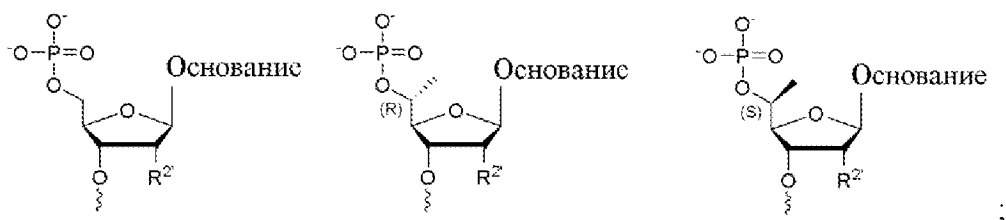
(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

где ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или

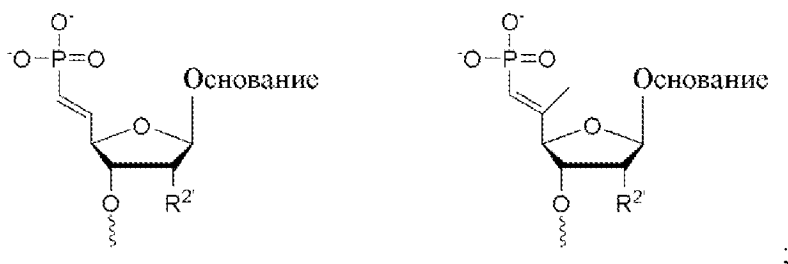
стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров, при 5'-концевой модификации направляющих нитей, неожиданно, может поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов, описанных в данном документе. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим направляющую нить, содержащую: (1) фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации; (2) межнуклеотидную Rp-, Sp- или стереослучайную связь, отличную от отрицательно заряженной, где 3'-нуклеотид в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, содержит 2'-модификацию, например 2'-F; и (3) 5'-концевую модификацию, выбранную из:

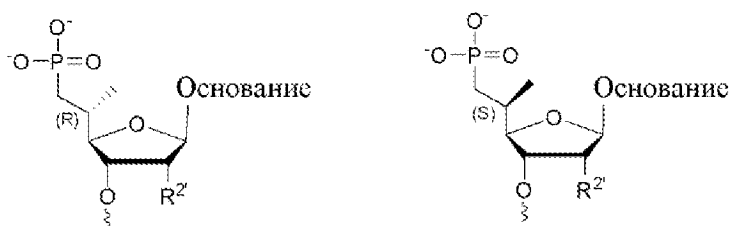
(a) модификаций 5'-PO, таких как без ограничения:



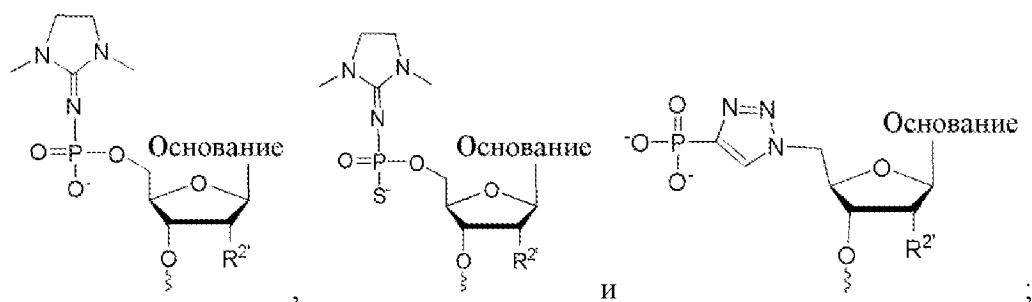
(b) модификаций 5'-VP, таких как без ограничения:



(с) модификаций 5'-MeP, таких как без ограничения:

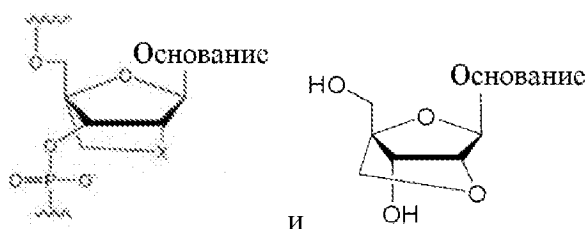


(d) модификаций 5'-PN и 5'-тризол-Р, таких как без ограничения:



где основание выбрано из А, С, G, Т, U, удаленного азотистого основания и модифицированных нуклеиновых оснований;

$R^{2'}$ выбран из H, OH, O-алкила, F, MOE, мостиков на основе запертой нуклеиновой кислоты (LNA) и мостиков на основе мостиковой нуклеиновой кислоты (BNA) к 4'С, таких как без ограничения:

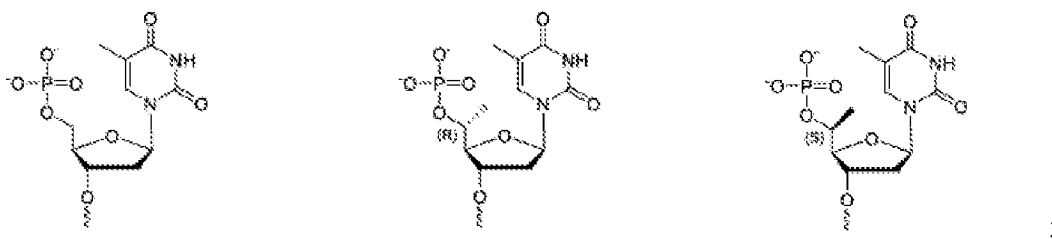


В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной.

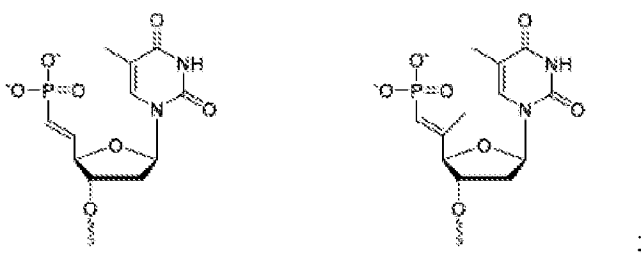
В определенных других вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров при 5'-конце нуклеотида направляющих нитей, неожиданно, может поддерживать или

улучшать свойства ds-олигонуклеотидов, где направляющая нить ds-олигонуклеотида также содержит фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим направляющую нить, содержащую: (1) фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации; (2) межнуклеотидную Rp-, Sp- или стереослучайную связь, отличную от отрицательно заряженной, где 3'-нуклеотид в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, содержит 2'-модификацию, например 2'-F; и (3) 5'-концевую модификацию, выбранную из:

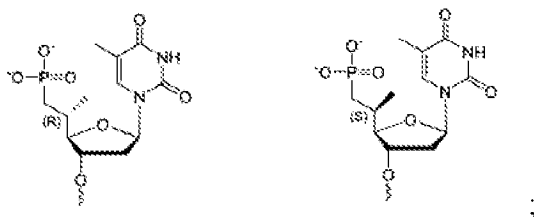
(a) нуклеотидов 5'-PO, таких как без ограничения:



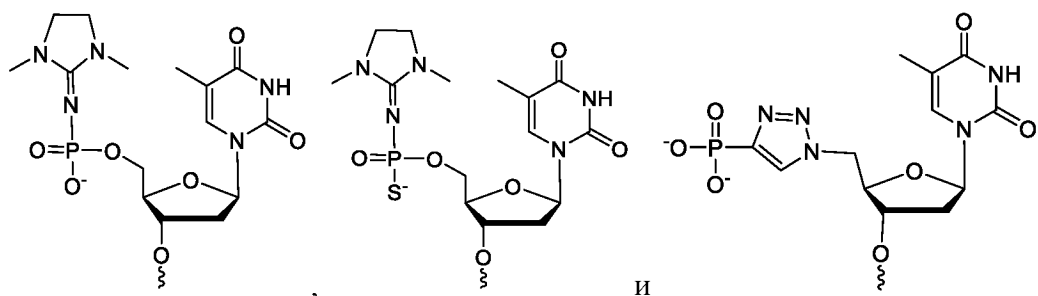
(b) нуклеотидов 5'-VP, таких как без ограничения:



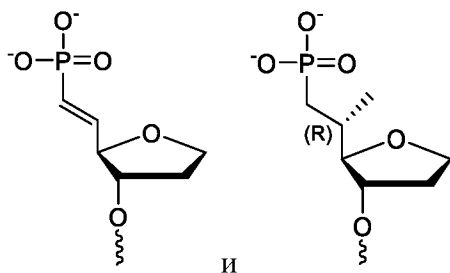
(c) нуклеотидов 5'-MeP, таких как без ограничения:



(d) нуклеотидов 5'-PN и 5'-тризол-Р, таких как без ограничения:



(e) нуклеотидов 5'-VP с удаленным азотистым основанием и 5'-MeP с удаленным азотистым основанием, таких как без ограничения:



В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что не встречающиеся в природе межнуклеотидные связи, например нейтральные межнуклеотидные связи, в определенных вариантах осуществления могут быть применимы для связывания одной или нескольких молекул с двухнитевыми олигонуклеотидами, описанными в данном документе. В определенных вариантах осуществления такие связанные молекулы могут способствовать нацеливанию и/или доставке двухнитевого олигонуклеотида. Например, без ограничения такие связанные молекулы могут включать липофильные молекулы. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой молекулу, содержащую один или несколько фрагментов GalNAc. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой рецептор. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой лиганд рецептора.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены технологии включения различных дополнительных химических фрагментов в состав ds-олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены, например, реагенты и способы для введения дополнительных химических фрагментов посредством нуклеиновых оснований (например, с помощью ковалентной связи, необязательно с помощью линкера, в сайт на нуклеиновом основании).

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены технологии, например композиции на основе ds-олигонуклеотидов и способы, связанные с

ними, с помощью которых достигается аллель-специфическое подавление, где обеспечивается селективный нокдаун транскриптов, полученных из одного аллеля конкретного гена-мишени, относительно по меньшей мере одного другого аллеля того же гена.

Среди прочего, в настоящем изобретении представлены структурные элементы, технологии и/или признаки, которые могут быть включены в ds-олигонуклеотиды и могут придавать им одно или несколько их свойств или настраивать их (например, по сравнению с другим идентичным ds-олигонуклеотидом, у которого отсутствует соответствующие технология или признак). В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении записано, что одно или несколько из представленных технологий и/или признаков могут с пользой быть включены в состав ds-олигонуклеотидов с разными последовательностями.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что определенные представленные структурные элементы, технологии и/или признаки особенно применимы для ds-олигонуклеотидов, которые участвуют в механизмах RNAi и/или направляют их (например, средства для RNAi). Однако, несмотря на это, идеи настоящего изобретения не ограничены ds-олигонуклеотидами, которые участвуют в любом конкретном механизме или действуют посредством него. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к любому ds-олигонуклеотиду, применимому для любой цели, который действует посредством любого механизма и который содержит любую последовательность, структуру или формат (или их часть), описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, применимый для любой цели, который действует посредством любого механизма и который содержит любую последовательность, структуру или формат (или их часть), описанные в данном документе, содержащий одно или несколько из:

(1) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, т. е. в направлении 5';

(2) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

(3) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, где фосфотиоатные хиральные центры остова, находящиеся выше по последовательности, находятся в Rp- или Sp-конфигурации;

(4) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (а) +3-нуклеотид и +4-нуклеотид и (b) +5-нуклеотид и +6-нуклеотид;

(5) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации; и

б) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1);

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную Rp-, Sp- или стереослучайную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

где ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в (например, прямых) механизмах RNAi. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в механизмах с использованием РНКазы H (рибонуклеазы H). В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут действовать в качестве ингибиторов трансляции (например, могут обеспечивать стерическое блокирование трансляции).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит

фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого

нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от

отрицательно заряженных, находящихся между вторым нуклеотидом (+2) и третьим нуклеотидом (+3) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити, и межнуклеотидную связь с предпоследним 3'-нуклеотидом (N-1), и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав

направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по

последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении

3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный

Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между нуклеотидом (+2) и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) нуклеотид (+3) и нуклеотид (+4) и (b) нуклеотид (+5) и нуклеотид (+6), и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми

двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой

межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-*n* межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где *n* составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по

последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-

, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в механизмах пропускания экзонов. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут представлять собой аптамеры. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут связываться и подавлять функцию белка, малой молекулы, нуклеиновой кислоты или клетки. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в образовании тройной спирали с двухнитевой нуклеиновой кислотой в клетке. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут связываться с геномной (например, хромосомной) нуклеиновой кислотой. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут связываться с геномной (например, хромосомной) нуклеиновой кислотой, таким образом предотвращая или уменьшая экспрессию нуклеиновой кислоты (например, путем предотвращения или уменьшения транскрипции, усиления, модификации транскрипции и т. д.). В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут связываться с квадруплексами ДНК. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть иммуномодуляторными. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть иммуностимулирующими. В определенных вариантах осуществления представленные

олигонуклеотиды могут быть иммуностимулирующими и могут содержать последовательность CpG. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть иммуностимулирующими, и могут содержать последовательность CpG, и могут быть применимы в качестве адъюванта. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть иммуностимулирующими, и могут содержать последовательность CpG, и могут быть применимы в качестве адъюванта в лечении заболевания (например, инфекционного заболевания или рака). В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть терапевтическими. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть нетерапевтическими. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть терапевтическими или нетерапевтическими. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды применимы в вариантах терапевтического, диагностического, исследовательского применения и/или вариантах применения в наноматериалах. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть применимыми для экспериментальных целей. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут быть применимыми для экспериментальных целей, например в качестве зонда, в микрочипе и т. д. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в более чем одном биологическом механизме; в определенных таких вариантах осуществления, например, представленные ds-олигонуклеотиды могут участвовать в механизмах как с использованием RNAi, так и РНКазы H.

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды направлены на мишень (например, последовательность-мишень, РНК-мишень, мРНК-мишень, пре-мРНК-мишень, ген-мишень и т. д.). Ген-мишень представляет собой ген, у которого предполагается изменить экспрессию и/или активность одного или нескольких генных продуктов (например, РНК и/или белковых продуктов). Во определенных вариантах осуществления предполагается ингибирование гена-мишени. Таким образом, если ds-олигонуклеотид, описанный в данном документе, действует на конкретный ген-мишень, присутствие и/или активность одного или нескольких генных продуктов такого гена изменяется, когда ds-олигонуклеотид присутствует, по сравнению с ситуацией, когда он отсутствует.

В определенных вариантах осуществления мишень представляет собой конкретный аллель, у которого предполагается изменить экспрессию и/или активность одного или нескольких продуктов гена (например, РНК и/или белковых продуктов). В определенных

вариантах осуществления аллель-мишень представляет собой аллель, присутствие и/или экспрессия которого ассоциированы (например, коррелируют) с присутствием, заболеваемостью и/или степенью тяжести одного или нескольких заболеваний и/или состояний. В качестве альтернативы или дополнения в определенных вариантах осуществления аллель-мишень представляет собой аллель, для которого изменение уровня и/или активности одного или нескольких генных продуктов коррелирует с улучшением (например, задержкой начала проявления, снижением степени тяжести, ответной реакцией на другую терапию и т. д.) в одном или нескольких аспектах заболевания и/или состояния.

В определенных вариантах осуществления, например, где присутствие и/или активность конкретного аллеля (аллеля, ассоциированного с заболеванием) ассоциированы (например, коррелируют) с присутствием, частотой возникновения и/или тяжестью одного или нескольких нарушений, заболеваний и/или состояний, разные аллели того же гена существуют и не так ассоциированы или ассоциированы в меньшей степени (например, демонстрируют менее значительную или статистически незначительную корреляцию), ds-олигонуклеотиды и способы, связанные с ними, описанные в данном документе, могут преимущественно или специфически нацеливаться на ассоциированный аллель относительно одного или нескольких менее ассоциированных/неассоциированных аллелей, таким образом опосредуя аллель-специфическое подавление.

В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень представляет собой последовательность, с которой связывается олигонуклеотид, описанный в данном документе. В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень является идентичной или в точности комплементарной последовательности представленного олигонуклеотида или последовательным остатками в нем (например, представленный олигонуклеотид включает последовательность, связывающую мишень, которая является идентичной или в точности комплементарной последовательности-мишени). В определенных вариантах осуществления последовательность, связывающая мишень, является в точности комплементарной последовательности-мишени транскрипта (например, пре-мРНК, мРНК и т. д.). Последовательность, связывающая мишень/последовательность-мишень может быть разной длины для обеспечения олигонуклеотидов с необходимыми видами активности и/или свойствами. В определенных вариантах осуществления последовательность, связывающая мишень/последовательность-мишень содержит 5-50 (например, 10-40, 15-30, 15-25, 16-25, 17-25, 18-25, 19-25, 20-25, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или больше) оснований. В определенных вариантах осуществления допускается небольшое количество различий/ошибок спаривания между олигонуклеотидом (его соответствующей частью) и его

последовательностью-мишенью, включая без ограничения 5'- и/или 3'-концевые области мишени и/или олигонуклеотидной последовательности. В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень присутствует в пределах гена-мишени. В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень присутствует в пределах транскрипта (например, мРНК и/или пре-мРНК), полученного из гена-мишени.

В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень включает один или несколько аллельных сайтов (т. е. положений в пределах гена-мишени, в которых находится аллельная изменчивость). В определенных вариантах осуществления аллельный сайт представляет собой мутацию. В определенных вариантах осуществления аллельный сайт представляет собой SNP. В некоторых таких вариантах осуществления представленный олигонуклеотид связывается с одним аллелем преимущественно или специфически относительно одного или нескольких других аллелей. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид преимущественно связывается с аллелем, ассоциированным с заболеванием. Например, в определенных вариантах осуществления олигонуклеотид (или часть его последовательности, связывающая мишень), представленный в данном документе, содержит последовательность, которая полностью или по меньшей мере частично является идентичной или в точности комплементарной конкретной аллельной версии последовательности-мишени.

В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид (или часть его последовательности, связывающая мишень), представленный в данном документе, содержит последовательность, которая является идентичной или в точности комплементарной последовательности-мишени, содержащей аллельный сайт, или аллельному сайту аллеля, ассоциированного с заболеванием. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в данном документе, содержит последовательность, связывающую мишень, которая является в точности комплементарной последовательности-мишени, содержащей аллельный сайт транскрипта аллеля (в определенных вариантах осуществления аллеля, ассоциированного с заболеванием), где аллельный сайт представляет собой мутацию. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид, представленный в данном документе, содержит последовательность, связывающую мишень, которая является в точности комплементарной последовательности-мишени, содержащей аллельный сайт транскрипта аллеля (в определенных вариантах осуществления аллеля, ассоциированного с заболеванием), где аллельный сайт представляет собой SNP. В определенных вариантах осуществления последовательность представляет собой любую последовательность, раскрытую в данном документе.

Если не указано иное, все последовательности (включая без ограничения последовательности оснований и паттерны химической структуры, модификации и/или стереохимии) представлены в порядке от 5' до 3', при этом 5'-концевой нуклеотид определен как положение "+1", а 3'-концевой нуклеотид определен либо количеством нуклеотидов в полной последовательности, либо с помощью "N", при этом предпоследний нуклеотид определен, например, как "N-1" и так далее.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы, связанные с олигонуклеотидом, который является специфическим в отношении мишени и который характеризуется любыми форматом, структурным элементом или последовательностью оснований любого олигонуклеотида, раскрытого в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы, связанные с олигонуклеотидом, который является специфическим в отношении мишени и который характеризуется последовательностью оснований любого олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, или области из по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов из последовательности оснований любого олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, или содержит ее, где первый нуклеотид в последовательности оснований или первый нуклеотид в по меньшей мере 15 смежных нуклеотидах может быть необязательно заменен на Т или ДНК-Т.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы для РНК-интерференции, направляемой средством для RNAi (также называемым RNAi-олигонуклеотидами). В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды таких композиций могут характеризоваться форматом, структурным элементом или последовательностью оснований олигонуклеотида, раскрытого в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы для опосредованного РНКазой Н нокдауна РНК гена-мишени, направляемого олигонуклеотидом (например, антисмысловым олигонуклеотидом).

Представленные олигонуклеотиды и композиции на основе олигонуклеотидов могут характеризоваться любым форматом, структурным элементом или последовательностью оснований любого олигонуклеотида, раскрытого в данном документе. В определенных вариантах осуществления структурный элемент представляет собой 5'-концевую структуру, 5'-концевую область, 5'-нуклеотид, затравочную область, постзатравочную область, 3'-концевую область, 3'-концевой динуклеотид, 3'-концевой кэп или любую часть любых таких структур, содержание GC, длинный отрезок GC и/или любую модификацию,

химическую структуру, стереохимию, паттерн модификации, химической структуры или стереохимии или химический фрагмент (например, включающий без ограничения нацеливающий фрагмент, липидный фрагмент, фрагмент GalNAc, углеводный фрагмент и т. д.), любой компонент или любую комбинацию любого из вышеперечисленного.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы применения олигонуклеотида.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции и способы применения олигонуклеотида, который может направлять как РНК-интерференцию, так и опосредованный РНКазой N нокдаун РНК гена-мишени. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды таких композиций могут характеризоваться форматом, структурным элементом или последовательностью оснований олигонуклеотида, раскрытого в данном документе.

В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид, направляющий конкретное событие или активность, участвует в конкретном событии или активности, например уменьшении экспрессии, уровня или активности гена-мишени или его генного продукта. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид рассматривается как "направляющий" конкретное событие или активность, если присутствие олигонуклеотида в системе, в которой могут происходить событие или активность, коррелирует с повышенным выявляемым числом случаев, частотой, интенсивностью и/или уровнем события или активности.

В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит любой один или несколько структурных элементов олигонуклеотида, описанного в данном документе, например последовательность оснований (или ее часть из по меньшей мере 15 смежных оснований); паттерн межнуклеотидных связей (или его часть из по меньшей мере 5 смежных межнуклеотидных связей); паттерн стереохимии межнуклеотидных связей (или его часть из по меньшей мере 5 смежных межнуклеотидных связей); 5'-концевую структуру; 5'-концевую область; первую область; вторую область и 3'-концевую область (которая может представлять собой 3'-концевой динуклеотид и/или 3'-концевой кэп); и необязательный дополнительный химический фрагмент; и при этом в определенных вариантах осуществления по меньшей мере один структурный элемент содержит хиральный центр с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления 3'-концевой динуклеотид может содержать два общих нуклеотида. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид дополнительно содержит химический фрагмент, выбранный из, в качестве неограничивающих примеров, нацеливающего фрагмента, углеводного фрагмента, фрагмента GalNAc, липидного

фрагмента и любого другого химического фрагмента, описанного в данном документе или известного из уровня техники. В определенных вариантах осуществления фрагмент, который связывает APGR, представляет собой фрагмент GalNAc или его вариант, производное или модифицированную версию, описанные в данном документе и/или известные из уровня техники. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид представляет собой средство для RNAi. В определенных вариантах осуществления первая область представляет собой затравочную область. В определенных вариантах осуществления вторая область представляет собой постзатравочную область.

В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит любой один или несколько структурных элементов средства для RNAi, описанного в данном документе, например 5'-концевую структуру; 5'-концевую область; затравочную область; постзатравочную область (область между затравочной областью и 3'-концевой областью) и 3'-концевую область (которая может представлять собой 3'-концевой динуклеотид и/или 3'-концевой кэп); и необязательный дополнительный химический фрагмент; и при этом в определенных вариантах осуществления по меньшей мере один структурный элемент содержит хиральный центр с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления 3'-концевой динуклеотид может содержать два общих нуклеотида. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид дополнительно содержит химический фрагмент, выбранный из, в качестве неограничивающих примеров, нацеливающего фрагмента, углеводного фрагмента, фрагмента GalNAc и липидного фрагмента. В определенных вариантах осуществления фрагмент, который связывает APGR, представляет собой любой GalNAc или его вариант, производное или модификацию, описанные в данном документе или известные из уровня техники.

В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит любой один или несколько структурных элементов олигонуклеотида, описанного в данном документе, например 5'-концевую структуру, 5'-концевую область, первую область, вторую область, 3'-концевую область, и необязательный дополнительный химический фрагмент, где по меньшей мере один структурный элемент содержит хиральный центр с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид содержит участок из по меньшей мере 5 суммарных нуклеотидов без 2'-модификаций. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид дополнительно содержит дополнительный химический фрагмент, выбранный из, в качестве неограничивающих примеров, нацеливающего фрагмента, углеводного фрагмента, фрагмента GalNAc и липидного фрагмента. В определенных вариантах осуществления

представленный олигонуклеотид способен направлять РНК-интерференцию. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид способен направлять опосредованный РНКазой Н нокдаун. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид способен направлять как РНК-интерференцию, так и опосредованный РНКазой Н нокдаун. В определенных вариантах осуществления первая область представляет собой затравочную область. В определенных вариантах осуществления вторая область представляет собой постзатравочную область.

В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит любой один или несколько структурных элементов средства для RNAi, например 5'-концевую структуру, 5'-концевую область, затравочную область, постзатравочную область и 3'-концевую область, и необязательный дополнительный химический фрагмент, где по меньшей мере один структурный элемент содержит хиральный центр с контролируемой хиральностью; и при этом в определенных вариантах осуществления олигонуклеотид также способен направлять опосредованный РНКазой Н нокдаун РНК гена-мишени. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид содержит участок из по меньшей мере 5 суммарных 2'-дезоксинуклеотидов. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид дополнительно содержит химический фрагмент, выбранный из, в качестве неограничивающих примеров, нацеливающего фрагмента, углеводного фрагмента, фрагмента GalNAc, и липидного фрагмента, и любого другого дополнительного химического фрагмента, описанного в данном документе.

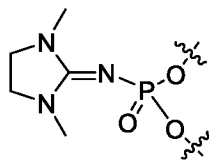
В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что свойства олигонуклеотида могут быть подвергнуты модулированию посредством химических модификаций. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе олигонуклеотидов, содержащая первую совокупность олигонуклеотидов, которые характеризуются общей последовательностью оснований и содержат одну или несколько модификаций межнуклеотидных связей, сахаров, и/или оснований. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе олигонуклеотидов, способная направлять РНК-интерференцию и содержащая первую совокупность олигонуклеотидов, которые характеризуются общей последовательностью оснований и содержат модификации одной или нескольких межнуклеотидных связей, и/или одного или нескольких сахаров, и/или одного или нескольких оснований. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид или композиция на основе олигонуклеотидов также способна направлять опосредованный РНКазой Н нокдаун РНК гена-мишени. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что свойства олигонуклеотида,

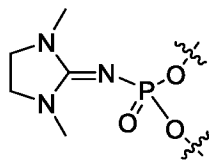
например виды активности, токсичности и т. д., могут быть подвергнуты модулированию посредством химических модификаций сахаров, нуклеиновых оснований и/или межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе олигонуклеотидов, содержащая совокупность олигонуклеотидов, которые характеризуются общей последовательностью оснований и содержат одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей (или "не встречающихся в природе межнуклеотидных связей", связей, которые могут быть использованы вместо природной фосфатной межнуклеотидной связи ($-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы ($-\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-)\text{O}-$) при физиологическом рН), встречающейся в природных ДНК и РНК), один или несколько модифицированных сахарных фрагментов и/или один или несколько природных фосфатных связей. В определенных вариантах осуществления представленные олигонуклеотиды могут содержать два или больше типов модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь содержит циклический гуанидиновый фрагмент. Такие фрагменты необязательно замещены. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит нейтральную межнуклеотидную связь и другую межнуклеотидную связь, которая не является нейтрально заряженным остовом. В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид содержит нейтральную межнуклеотидную связь и фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления представленные композиции на основе олигонуклеотидов, содержащие совокупность олигонуклеотидов, характеризуются контролируемой хиральностью, и при этом уровень совокупности олигонуклеотидов в композиции является контролируемым или предварительно определенным, и олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей стереохимической конфигурацией при одной или нескольких хиральными межнуклеотидных связях. Например, в определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей стереохимической конфигурацией при 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, 50 или больше хиральных межнуклеотидных связях, каждая из которых независимо представляет собой R_p или S_p ; в определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей

стереохимической конфигурацией при каждой из хиральных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, где контролируемый уровень олигонуклеотидов в композиции характеризуется общей стереохимической конфигурацией (независимо от того, находятся ли они в *Rp*- или *Sp*-конфигурации), называется межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной (нейтральную или катионную), которая при определенном рН (например, физиологическом рН человека (~7,4), рН в месте доставки (например, в органелле, клетке, ткани, органе, организме и т. д.) и т. д.) главным образом (например, на по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% и т. д.; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 30%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 40%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 50%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 60%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 70%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 80%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 90%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 99% и т. д.) существует в виде нейтральной или катионной формы (по сравнению с анионной формой (например, $-O-P(O)(O^-)-O-$ (анионная форма природной фосфатной связи), $-O-P(O)(S^-)-O-$ (анионная форма фосфотиоатной связи) и т. д.)) соответственно. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь, которая при определенном рН главным образом существует в нейтральной форме. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой катионную межнуклеотидную связь, которая при определенном рН главным образом существует в катионной форме. В определенных вариантах осуществления рН представляет собой физиологический рН человека (~ 7,4). В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь, при этом по меньшей мере 90% межнуклеотидной связи при рН 7,4 в водном растворе существует в ее нейтральной форме. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь, при этом в водном растворе олигонуклеотида по меньшей мере 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 99% межнуклеотидной связи существует в ее нейтральной форме. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления

процентная доля составляет по меньшей мере 99%. В определенных вариантах осуществления в межнуклеотидной связи, отличной от отрицательно заряженной, например в нейтральной межнуклеотидной связи, если она присутствует в своей нейтральной форме, отсутствует фрагмент с рКа менее 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14. В определенных вариантах осуществления рКа межнуклеотидной связи в настоящем изобретении может быть представлена с помощью рКа для CH_3 -межнуклеотидная связь- CH_3 (т. е. с заменой двух нуклеозидных звеньев, связанных межнуклеотидной связью, двумя группами $-\text{CH}_3$). Не вдаваясь в какую-либо конкретную теорию, полагают, что по меньшей мере в некоторых случаях нейтральная межнуклеотидная связь в олигонуклеотиде может обеспечивать улучшенные свойства и/или виды активности, например улучшенную доставку, улучшенную устойчивость к экзонуклеазам и эндонуклеазам, улучшенное поглощение клетками, улучшенное ускользание от эндосом и/или улучшенное поглощение ядром и т. д., по сравнению с сопоставимой нуклеиновой кислотой, которая не содержит нейтральную межнуклеотидную связь.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой, например, формулы **I-n-1**, **I-n-2**, **I-n-3**, **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**, как описано в 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 и/или WO 2019/032612 и т. д. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит циклический гуанидиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь, содержащая циклический гуанидиновый фрагмент,



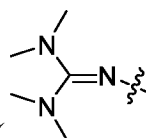
характеризуется структурой: . В определенных вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь, содержащая циклический гуанидиновый фрагмент, характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну нейтральную межнуклеотидную связь и по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну

нейтральную межнуклеотидную связь и по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь, где фосфотиоатная межнуклеотидная связь является межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью в Sp-конфигурации.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну нейтральную межнуклеотидную связь и по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь, где фосфотиоат является межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью в Rp-конфигурации.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну нейтральную межнуклеотидную связь, представляющую собой нейтральную



межнуклеотидную связь, содержащую группу Tmg (), и по меньшей мере один фосфотиоат.

В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в олигонуклеотиде независимо выбрана из природной фосфатной связи, фосфотиоатной связи и межнуклеотидной связи, отличной от отрицательно заряженной (например, n001, n003, n004, n006, n008, n009, n013, n020, n021, n025, n026, n029, n031, n033, n037, n043, n046, n047, n048, n054, n058 или n055). В некоторых вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в олигонуклеотиде независимо выбрана из природной фосфатной связи, фосфотиоатной связи и нейтральной межнуклеотидной связи (например, n001, n003, n004, n006, n008, n009, n013, n020, n021, n025, n026, n029, n031, n033, n037, n043, n046, n047, n048, n054, n058 или n055).

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну нейтральную межнуклеотидную связь, представляющую собой нейтральную межнуклеотидную связь, содержащую группу Tmg, и по меньшей мере один фосфотиоат, где фосфотиоат является межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью в Sp-конфигурации.

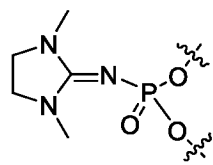
В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей олигонуклеотид, содержащий по меньшей мере одну нейтральную межнуклеотидную связь, выбранную из нейтральной межнуклеотидной связи, представляющей собой нейтральную межнуклеотидную связь, содержащую группу

Tmg, и по меньшей мере одного фосфотиоата, где фосфотиоат является межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью в Rp-конфигурации.

Различные типы межнуклеотидных связей отличаются по свойствам. Не вдаваясь в какую-либо теорию, в настоящем изобретении отмечают, что природная фосфатная связь (фосфодиэфирная межнуклеотидная связь) является анионной, и она может быть нестабильной при использовании ее как таковой без других химических модификаций *in vivo*; фосфотиоатная межнуклеотидная связь является анионной, обычно более стабильной *in vivo*, чем природная фосфатная связь, и обычно более гидрофобной; нейтральная межнуклеотидная связь, такая как приведенная в качестве примера в настоящем изобретении, содержащая циклический гуанидиновый фрагмент, является нейтральной при физиологическом pH, и она может быть более стабильной *in vivo*, чем природная фосфатная связь, и более гидрофобной.

В определенных вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью является нейтральной при физиологическом pH, характеризуется контролируемой хиральностью, является устойчивой *in vivo*, гидрофобной и может характеризоваться повышенным ускользанием от эндосом.

В определенных вариантах осуществления представленные олигонуклеотиды содержат одну или несколько областей, например блок, крыло, кор, 5'-конец, 3'-конец, середину, затравку, постзатравочную область и т. д. В определенных вариантах осуществления область (например, блок, крыло, кор, 5'-конец, 3'-конец, срединная область и т. д.) содержит межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, например, формулы **I-n-1**, **I-n-2**, **I-n-3**, **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** и т. д., как описано в 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 и/или WO 2019/032612. В определенных вариантах осуществления область содержит нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления область содержит межнуклеотидную связь, которая содержит циклический гуанидин гуанидин. В определенных вариантах осуществления область содержит межнуклеотидную связь, которая содержит циклический гуанидиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления область содержит межнуклеотидную связь, характеризующуюся



структурой. В определенных вариантах осуществления такие межнуклеотидные связи характеризуются контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления нуклеотид представляет собой природный нуклеотид. В определенных вариантах осуществления нуклеотид представляет собой модифицированный нуклеотид. В определенных вариантах осуществления нуклеотид представляет собой аналог нуклеотида. В определенных вариантах осуществления основание представляет собой модифицированное основание. В определенных вариантах осуществления основание представляет собой защищенное нуклеиновое основание, такое как защищенное нуклеиновое основание, применяемое в синтезе олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления основание представляет собой аналог основания. В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой модифицированный сахар. В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой аналог сахара. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления нуклеотид содержит основание, сахар и межнуклеотидную связь, где каждое из основания, сахара и межнуклеотидной связи независимо и необязательно является встречающимся в природе или не встречающимся в природе. В определенных вариантах осуществления нуклеозид содержит основание и сахар, где каждое из основания и сахара независимо и необязательно является встречающимся в природе или не встречающимся в природе. Неограничивающие примеры нуклеотидов включают нуклеотиды ДНК (2'-деокси) и РНК (2'-ОН), а также такие, которые содержат одну или несколько модификаций при основании, сахаре и/или межнуклеотидной связи. Неограничивающие примеры сахаров включают рибозу и дезоксирибозу, а также рибозу и дезоксирибозу с 2'-модификациями, включающими без ограничения модификации 2'-F, LNA, 2'-OMe и 2'-MOE. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фрагмент, который не содержит фосфора, но служит для связывания двух природных или неприродных сахаров.

В определенных вариантах осуществления композиция содержит мультимер из двух или больше из следующего: олигонуклеотиды из первой совокупности и/или олигонуклеотиды из второй совокупности, где олигонуклеотиды из первой и второй совокупности могут независимо направлять нокдаун одинаковых или разных мишеней независимо посредством РНК-интерференции и/или опосредованного РНКазой Н нокдауна.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе олигонуклеотидов, содержащая первую совокупность олигонуклеотидов, которые характеризуются:

- 1) общей последовательностью оснований;
- 2) общим паттерном связей в остове;

3) общей стереохимией независимо при по меньшей мере 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 или 50 хиральных межнуклеотидных связях ("межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью"); при этом композиция характеризуется контролируемой хиральностью в том смысле, что уровень первой совокупности олигонуклеотидов в композиции предварительно определен.

В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов, содержащая совокупность олигонуклеотидов (например, первую совокупность олигонуклеотидов), характеризуется контролируемой хиральностью в том смысле, что олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей стереохимией независимо при одной или нескольких хиральных межнуклеотидных связях. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей стереохимической конфигурацией при 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, 50 или больше хиральных межнуклеотидных связях, каждая из которых независимо представляет собой *Rp* или *Sp*. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей стереохимической конфигурацией при каждой хиральной межнуклеотидной связи. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, где предварительно определенный уровень олигонуклеотидов в композиции характеризуется общей стереохимической конфигурацией (независимо *Rp* или *Sp*), называется межнуклеотидной связью с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов в представленной композиции, например первой совокупности олигонуклеотидов в определенных иллюстративных композициях, содержит 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, 50 или больше межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 5 межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 10 межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 15 межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью; в

определенных вариантах осуществления каждая хиральная межнуклеотидная связь характеризуется контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления 1% - 100% хиральных межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% хиральных межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе олигонуклеотидов, содержащая первую совокупность олигонуклеотидов, которые характеризуются:

- 1) общей последовательностью оснований;
- 2) общим паттерном связей в остове и

3) общим паттерном хиральных центров в остове, при этом композиция представляет собой по сути чистый препарат на основе олигонуклеотида, в том смысле, что предварительно определенный уровень олигонуклеотидов в композиции характеризуется общей последовательностью оснований и длиной, общим паттерном связей в остове и общим паттерном хиральных центров в остове. В определенных вариантах осуществления общий паттерн хиральных центров остова предусматривает по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, содержащую хиральный центр с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в представленной композиции. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований или содержат ее. В определенных вариантах осуществления все олигонуклеотиды в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований или содержат ее, составляют по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в композиции. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%,

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований, модификации оснований, модификации сахаров и/или модифицированной межнуклеотидной связи или содержат их. В определенных вариантах осуществления все олигонуклеотиды в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований, модификации оснований, модификации сахаров и/или модифицированной межнуклеотидной связи или содержат их, составляют по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в композиции. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований, паттерна модификации оснований, паттерна модификации сахаров и/или паттерна модифицированной межнуклеотидной связи или содержат их. В определенных вариантах осуществления все олигонуклеотиды в представленной композиции, которые состоят из общей последовательности оснований, паттерна модификации оснований, паттерна модификации сахаров и/или паттерна модифицированной межнуклеотидной связи или содержат их, составляют по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в композиции. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень олигонуклеотидов составляет по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в представленной композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном модификации оснований, общим паттерном модификации сахаров и/или общим паттерном модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления все олигонуклеотиды в представленной композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном модификации оснований, общим паттерном модификации сахаров и/или общим паттерном модифицированных межнуклеотидных связей, составляют по меньшей мере 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% от всех олигонуклеотидов в композиции. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет 1-100%. В

количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет по меньшей мере $(0,95)g$, где g представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет по меньшей мере $(0,96)g$, где g представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет по меньшей мере $(0,97)g$, где g представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет по меньшей мере $(0,98)g$, где g представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень составляет по меньшей мере $(0,99)g$, где g представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления для определения уровня олигонуклеотидов, содержащих g межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в композиции, в качестве уровня используют произведение показателей диастереомерной чистоты каждой из g межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью: (диастереомерная чистота межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью 1) * (диастереомерная чистота межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью 2) * ... * (диастереомерная чистота межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью g), где диастереомерная чистота каждой из межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью независимо представлена диастереомерной чистотой димера, содержащего одинаковые межнуклеотидные связи и нуклеозиды, фланкирующие межнуклеотидные связи, и полученного сопоставимыми способами в виде олигонуклеотидов (например, с помощью сопоставимых или предпочтительно идентичных циклов получения олигонуклеотидов, включающих сопоставимые или предпочтительно идентичные реагенты и условия реакций). В определенных вариантах осуществления уровни олигонуклеотидов и/или диастереомерную чистоту можно определять с помощью аналитических методик, например хроматографических, спектрометрических, спектроскопических способов или любых их комбинаций. В частности, в настоящем изобретении представлено подтверждение того, что препараты на основе стереослучайных олигонуклеотидов содержат множество различающихся химических объектов, которые отличаются друг от друга, например, по стереохимической структуре (или стереохимии) отдельных хиральных центров остова в пределах олигонуклеотидной цепи. Без контроля стереохимии хиральных центров остова в

препаратах на основе стереослучайных олигонуклеотидов представлены "неконтролируемые" композиции, содержащие неопределенные уровни стереоизомеров олигонуклеотидов. Даже несмотря на то, что данные стереоизомеры могут иметь одинаковые последовательность оснований и/или химические модификации, они представляют собой разные химические объекты, что по меньшей мере обусловлено разной стереохимией их остова, и они могут характеризоваться, как показано в данном документе, разными свойствами, например чувствительностью к нуклеазам, видами активности, распределением и т. д. В определенных вариантах осуществления конкретный стереоизомер может быть определен, например, по его последовательности оснований, его длине, его паттерну связей в остове и его паттерну хиральных центров остова. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что улучшения свойств и видов активности, достигаемые посредством контроля стереохимии в пределах олигонуклеотида, могут быть сопоставимыми с таковыми, достигаемыми посредством применения химических модификаций, или даже лучшими, чем таковые.

В частности, в настоящем изобретении представлено подтверждение того, что препараты на основе стереослучайных олигонуклеотидов содержат множество различающихся химических объектов, которые отличаются друг от друга, например, по стереохимической структуре (или стереохимии) отдельных хиральных центров остова в пределах олигонуклеотидной цепи. Без контроля стереохимии хиральных центров остова в препаратах на основе стереослучайных олигонуклеотидов представлены "неконтролируемые" композиции, содержащие неопределенные уровни стереоизомеров олигонуклеотидов. Даже несмотря на то, что данные стереоизомеры могут иметь одинаковые последовательность оснований и/или химические модификации, они представляют собой разные химические объекты, что по меньшей мере обусловлено разной стереохимией их остова, и они могут характеризоваться, как показано в данном документе, разными свойствами, например чувствительностью к нуклеазам, видами активности, распределением и т. д. В определенных вариантах осуществления конкретный стереоизомер может быть определен, например, по его последовательности оснований, его длине, его паттерну связей в остове и его паттерну хиральных центров остова. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что улучшения свойств и видов активности, достигаемые посредством контроля стереохимии в пределах олигонуклеотида, могут быть сопоставимыми с таковыми, достигаемыми посредством применения химических модификаций, или даже лучшими, чем таковые.

I. ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Для более легкого понимания технологий по настоящему изобретению можно обратиться к нижеследующему подробному описанию определенных вариантов осуществления.

Определения

Если не указано иное, при использовании в данном документе должны применяться следующие определения. Для целей настоящего изобретения элементы идентифицированы в соответствии с Периодической системой химических элементов версии CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Кроме того, основные принципы органической химии описаны в "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 и "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith, M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001.

При использовании в данном документе касательно настоящего изобретения, если иное не очевидно из контекста, (i) формы единственного числа можно понимать как означающие "по меньшей мере один"; (ii) термин "или" можно понимать как означающий "и/или"; (iii) термины "содержащий", "содержит", "включающий" (с использованием или без использования фразы "без ограничения") и "включает" (с использованием или без использования фразы "без ограничения") можно понимать как охватывающие перечисленные компоненты или стадии, представленные сами по себе или вместе с одним или несколькими дополнительными компонентами или стадиями; (iv) термин "другой" можно понимать как означающий по меньшей мере дополнительный/второй или больше; (v) термины "приблизительно" и "примерно" можно понимать как допускающие стандартное отклонение, как будет понятно средним специалистам в данной области техники; и (vi) если представлены диапазоны, то конечные точки включены.

Если не указано иное, описание олигонуклеотидов и их элементов (например, последовательности оснований, модификаций сахаров, межнуклеотидных связей, стереохимии атома фосфора в составе связи, их паттернов и т. д.) представлены от 5' до 3', при этом 5'-концевой нуклеотид определен как положение "+1", а 3'-концевой нуклеотид определен либо количеством нуклеотидов в полной последовательности, либо с помощью "N", при этом предпоследний нуклеотид определен, например, как "N-1" и так далее. Как будет понятно специалистам в данной области техники, в определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды могут быть представлены и/или использованы в виде солевых форм, в частности, форм фармацевтически приемлемых солей, например натриевых солей. Как также будет понятно специалистам в данной области техники, в определенных вариантах осуществления может считаться, что отдельные олигонуклеотиды в пределах композиции имеют одинаковый состав и/или структуру даже в том случае, если

в пределах такой композиции (например, жидкой композиции) такие конкретные олигонуклеотиды могут находиться в различных солевых формах (и могут быть растворенными, и олигонуклеотидная цепь может существовать в виде анионной формы в случае, когда она находится, например, в жидкой композиции) в конкретный момент времени. Например, специалистам в данной области техники будет понятно, что при указанном рН отдельные межнуклеотидные связи вдоль олигонуклеотидной цепи могут находиться в кислотной (Н) форме или в одной из множества возможных солевых форм (например, натриевой соли или соли другого катиона, в зависимости от того, какие ионы могут присутствовать в препарате или композиции), и будет понятно, что при условии, если их кислотные формы (например, при замене всех катионов, если таковые имеются, на H^+) имеют одинаковый состав и/или структуру, то может справедливо считаться, что такие отдельные олигонуклеотиды имеют одинаковый состав и/или структуру.

Алифатический. Как используется в данном документе, "алифатический" означает прямую (т. е. неразветвленную) или разветвленную, замещенную или незамещенную углеводородную цепь, которая является полностью насыщенной или которая содержит одно или несколько звеньев с ненасыщенной связью (но не ароматических), или замещенное или незамещенное моноциклическое, бициклическое или полициклическое углеводородное кольцо, которое является полностью насыщенным или которое содержит одно или несколько звеньев с ненасыщенной связью (но не ароматических), или их комбинации. В определенных вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-50 алифатических атомов углерода. В определенных вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-20 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-10 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-9 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-8 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-7 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-6 алифатических атомов углерода. В еще других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1-5 алифатических атомов углерода, а в еще одних вариантах осуществления алифатические группы содержат 1, 2, 3 или 4 алифатических атома углерода. Подходящие алифатические группы включают без ограничения линейные или разветвленные, замещенные или незамещенные алкильные, алкенильные, алкинильные группы и их гибридные формы, такие как (циклоалкил)алкил, (циклоалкенил)алкил или (циклоалкил)алкенил.

Алкенил. Используемый в данном документе термин "алкенил" относится к

алифатической группе, определенной в данном документе, имеющей одну или несколько двойных связей.

Алкил. Используемый в данном документе термин "алкил" имеет свое обычное значение в данной области техники и может включать насыщенные алифатические группы, в том числе алкильные группы с прямой цепью, алкильные группы с разветвленной цепью, циклоалкильные (алициклические) группы, алкилзамещенные циклоалкильные группы и циклоалкилзамещенные алкильные группы. В определенных вариантах осуществления алкил содержит 1-100 атомов углерода. В определенных вариантах осуществления алкил с прямой цепью или разветвленной цепью содержит приблизительно 1-20 атомов углерода в своем остове (например, C₁-C₂₀ в случае прямой цепи, C₂-C₂₀ в случае разветвленной цепи) и альтернативно приблизительно 1-10. В определенных вариантах осуществления циклоалкильные кольца содержат приблизительно 3-10 атомов углерода в своей кольцевой структуре, при этом такие кольца являются моноциклическими, бициклическими или полициклическими, и в качестве альтернативы приблизительно 5, 6 или 7 атомов углерода в кольцевой структуре. В определенных вариантах осуществления алкильная группа может представлять собой низшую алкильную группу, где низшая алкильная группа содержит 1-4 атома углерода (например, C₁-C₄ в случае низших алкилов с прямой цепью).

Алкинил. Используемый в данном документе термин "алкинил" относится к алифатической группе, определенной в данном документе, имеющей одну или несколько тройных связей.

Аналог. Термин "аналог" включает любой химический фрагмент, который отличается по структуре от эталонного химического фрагмента или класса фрагментов, но который способен к осуществлению по меньшей мере одной функции такого эталонного химического фрагмента или класса фрагментов. В качестве неограничивающих примеров аналог нуклеотида отличается по структуре от нуклеотида, но осуществляет по меньшей мере одну функцию нуклеотида; аналог нуклеинового основания отличается по структуре от нуклеинового основания, но осуществляет по меньшей мере одну функцию нуклеинового основания и т. д.

Животное. Используемый в данном документе термин "животное" относится к любому представителю царства Животные. В определенных вариантах осуществления "животное" относится к человеку на любой стадии развития. В определенных вариантах осуществления "животное" относится к отличным от человека животным на любой стадии развития. В определенных вариантах осуществления отличное от человека животное представляет собой млекопитающее (например, грызуна, мышь, крысу, кролика, обезьяну, собаку, кошку, овцу, крупный рогатый скот, примата и/или свинью). В определенных вариантах

осуществления животные включают без ограничения млекопитающих, птиц, рептилий, земноводных, рыб и/или червей. В определенных вариантах осуществления животное может представлять собой трансгенное животное, генетически сконструированное животное и/или клон.

Арил. Используемый в данном документе термин "арил", который используется сам по себе или как часть более крупного фрагмента, такого как "аралкил," "аралкокси" или "арилоксиалкил," относится к моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, имеющим в общей сложности от пяти до тридцати членов кольца, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим. В определенных вариантах осуществления арильная группа представляет собой моноциклическую, бициклическую или полициклическую кольцевую систему, имеющую в общей сложности от пяти до четырнадцати членов кольца, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим, и где каждое кольцо в системе содержит от 3 до 7 членов кольца. В определенных вариантах осуществления каждое моноциклическое кольцевое звено является ароматическим. В определенных вариантах осуществления арильная группа представляет собой биарильную группу. Термин "арил" может использоваться взаимозаменяемо с термином "арильное кольцо". В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения "арил" относится к ароматической кольцевой системе, которая включает без ограничения фенил, бифенил, нафтил, бинафтил, антрацил и т. п., которые могут нести один или несколько заместителей. Также в пределы объема используемого в данном документе термина "арил" входит группа, в которой ароматическое кольцо конденсировано с одним или несколькими неароматическими кольцами, такая как инданил, фталимидил, нафтимирил, фенантридинил или тетрагидронафтил и т. п.

Контроль хиральности. Используемый в данном документе "контроль хиральности" относится к контролю стереохимического определения хирального атома фосфора в составе связи в хиральной межнуклеотидной связи в пределах олигонуклеотида. Используемая в данном документе хиральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, в которой атом фосфора является хиральным. В определенных вариантах осуществления контроль обеспечивается благодаря хиральному элементу, который отсутствует в сахарном фрагменте и фрагменте, являющемся основанием, олигонуклеотида, например, в определенных вариантах осуществления контроль обеспечивается благодаря применению одного или нескольких хиральных вспомогательных средств в ходе получения олигонуклеотидов, при этом данные хиральные вспомогательные средства зачастую являются частью хиральных фосфорамидитов,

используемых в ходе получения олигонуклеотидов. Среднему специалисту в данной области будет понятно, что, в отличие от контроля хиральности, при традиционном синтезе олигонуклеотидов, который не предусматривает применения хиральных вспомогательных средств, невозможно осуществлять контроль стереохимических особенностей в хиральной межнуклеотидной связи, если такой традиционный синтез олигонуклеотидов используют для образования хиральной межнуклеотидной связи. В определенных вариантах осуществления стереохимическое определение каждого хирального атома фосфора в составе связи в каждой хиральной межнуклеотидной связи в олигонуклеотиде является контролируемым.

Композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью. Используемые в данном документе термины "композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью", "композиция на основе нуклеиновых кислот с контролируемой хиральностью" и т. п. относятся к композиции, которая содержит совокупность олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот), которые имеют общую последовательность оснований, где совокупность олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот) имеет одинаковую стереохимию атома фосфора в составе связи в одной или нескольких хиральных межнуклеотидных связях (межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью или стерически заданных межнуклеотидных связях, в которых хиральный атом фосфора в составе связи представлен в виде Rp или Sp в композиции ("стерически заданный"), а не неупорядоченной смеси Rp и Sp, как в межнуклеотидных связях без контролируемой хиральности). В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит совокупность олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот), которые характеризуются: 1) общей последовательностью оснований, 2) общим паттерном связей в остове и 3) общим паттерном модификаций фосфора в остове, где совокупность олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот) характеризуется одинаковой стереохимией атома фосфора в составе связи в одной или нескольких хиральных межнуклеотидных связях (межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью или стерически заданных межнуклеотидных связях, в которых хиральный атом фосфора в составе связи представлен в виде Rp или Sp в композиции ("стерически заданный"), а не неупорядоченной смеси Rp и Sp, как в межнуклеотидных связях без контролируемой хиральности). Уровень совокупности олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот) в композиции на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью является предварительно определенным/контролируемым или обогащенным (например, благодаря получению олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью со стереоселективным образованием

одной или нескольких хиральных межнуклеотидных связей) по сравнению со случайным уровнем в композиции на основе олигонуклеотидов без контролируемой хиральности. В определенных вариантах осуществления приблизительно 1% - 100%, (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех олигонуклеотидов в композиции на основе нуклеотидов с контролируемой хиральностью представляют собой олигонуклеотиды из совокупности. В определенных вариантах осуществления приблизительно 1% - 100%, (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех олигонуклеотидов в композиции на основе нуклеотидов с контролируемой хиральностью, которые характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном связей в остове и общим паттерном модификаций фосфора в остове, представляют собой олигонуклеотиды из совокупности. В определенных вариантах осуществления уровень составляет приблизительно 1% - 100%, (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех олигонуклеотидов в композиции или от всех олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований (например, из совокупности олигонуклеотидов или типа олигонуклеотидов), или от всех олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном связей в остове и общим паттерном модификаций фосфора в остове, или от всех олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном модификаций оснований, общим паттерном модификаций сахаров, общим паттерном типов межнуклеотидных связей и/или общим паттерном модификаций межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления совокупность олигонуклеотидов характеризуется одинаковой стереохимией при

приблизительно 1-50 (например, приблизительно 1-10, 1-20, 5-10, 5-20, 10-15, 10-20, 10-25, 10-30, или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, или по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20) хиральных межнуклеотидных связях. В определенных вариантах осуществления совокупность олигонуклеотидов характеризуется одинаковой стереохимией при приблизительно 1% - 100% (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% или по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%) хиральных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) из совокупности характеризуется одинаковым паттерном модификаций сахаров и/или нуклеиновых оснований любом случае. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) из совокупности являются различными формами одного и того же олигонуклеотида (например, формами кислот и/или различных солей одного и того же олигонуклеотида). В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) из совокупности имеют одинаковый состав. В определенных вариантах осуществления уровень олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот) из совокупности составляет приблизительно 1% - 100%, (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех олигонуклеотидов (или нуклеиновых кислот) в композиции, которые характеризуются таким же составом, как и олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) из совокупности. В определенных вариантах осуществления каждая хиральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, а композиция представляет собой композицию на основе олигонуклеотидов с полностью контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) из совокупности являются идентичными по структуре. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5%, как правило, по

меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5%. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 96%. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 97%. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 98%. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 99%. В определенных вариантах осуществления уровень в процентах составляет или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS представляет собой диастереомерную чистоту, описанную в настоящем изобретении (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5% или больше), а nc представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, описанное в настоящем изобретении (например, 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 или больше). В определенных вариантах осуществления уровень в процентах составляет или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS составляет 95% - 100%. Например, если DS составляет 99%, а nc составляет 10, процентный показатель составляет или составляет по меньшей мере 90% $((99\%)^{10} \approx 0,90 = 90\%)$. В определенных вариантах осуществления уровень совокупности олигонуклеотидов в композиции представлен как произведение показателей диастереомерной чистоты каждой межнуклеотидной связи с контролируемой хиральностью в олигонуклеотидах. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота межнуклеотидной связи, соединяющей два нуклеозида в олигонуклеотиде (или нуклеиновой кислоте), представлена диастереомерной чистотой межнуклеотидной связи димера, соединяющего те же два нуклеозида, где димер получен в сопоставимых условиях, в некоторых случаях в условиях идентичного синтетического цикла (например, в случае связи между Nx и Ny в олигонуклеотиде ...NxNy.... димером является NxNy). В определенных вариантах осуществления не все хиральные межнуклеотидные связи представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, и композиция представляет собой композицию на основе олигонуклеотидов с частично контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей менее

приблизительно 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55% или приблизительно 50%, что, как правило, наблюдают в композициях на основе стереослучайных олигонуклеотидов (например, как понятно специалистам в данной области техники, при традиционном олигонуклеотидном синтезе, например, фосфорамидитном способе). В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды (или нуклеиновые кислоты) совокупности относятся к одному типу. В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит отдельные типы олигонуклеотидов или нуклеиновых кислот на неслучайных или контролируемых уровнях. Например, в определенных некоторых вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит один и не более одного типа олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит более одного типа олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит несколько типов олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью представляет собой композицию на основе олигонуклеотидов, относящихся к одному типу олигонуклеотидов, при этом данная композиция содержит совокупность олигонуклеотидов, относящихся к данному типу олигонуклеотидов, на неслучайном или контролируемом уровне.

Сопоставимый. Термин "сопоставимый" используется в данном документе для описания двух (или больше) групп условий или обстоятельств, которые достаточно схожи друг с другом, чтобы позволить сравнение полученных результатов или наблюдаемых явлений. В определенных вариантах осуществления сопоставимые группы условий или обстоятельств характеризуются совокупностью по сути идентичных признаков и одним или небольшим количеством варьирующихся признаков. Средние специалисты в данной области техники поймут, что наборы условий сопоставимы друг с другом, если они характеризуются достаточным числом и типом по сути идентичных признаков, чтобы сделать обоснованное заключение о том, что отличия в полученных результатах или явлениях, наблюдаемых при разных наборах условий или обстоятельств, вызваны изменением или свидетельствуют об изменении тех признаков, которые изменяются.

Циклоалифатический. Термин "циклоалифатический", "карбоцикл", "карбоциклил", "карбоциклический радикал" и "карбоциклическое кольцо" используются взаимозаменяемо и при использовании в данном документе относятся к насыщенным или частично ненасыщенным, но не ароматическим, циклическим алифатическим моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, описанным в данном

документе, имеющим, если не указано иное, от 3 до 30 членов кольца. Циклоалифатические группы включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклогептенил, циклооктил, циклооктенил, норборнил, адамантил и циклооктадиенил. В определенных вариантах осуществления циклоалифатическая группа содержит 3–6 атомов углерода. В определенных вариантах осуществления циклоалифатическая группа является насыщенной и представляет собой циклоалкил. Термин "циклоалифатический" может также включать алифатические кольца, которые конденсированы с одним или несколькими ароматическими или неароматическими кольцами, такие как декагидронафтил или тетрагидронафтил. В определенных вариантах осуществления циклоалифатическая группа является бициклической. В определенных вариантах осуществления циклоалифатическая группа является трициклической. В определенных вариантах осуществления циклоалифатическая группа является полициклической. В определенных вариантах осуществления "циклоалифатический" относится к моноциклическому C₃-C₆углеводороду или бициклическому или полициклическому C₈-C₁₀углеводороду, который является полностью насыщенным или который содержит одно или несколько звеньев с ненасыщенной связью, но не является ароматическим, который имеет единственную точку присоединения к остальной части молекулы, или полициклическому C₉-C₁₆углеводороду, который является полностью насыщенным или который содержит одно или несколько звеньев с ненасыщенной связью, но не является ароматическим, который имеет единственную точку присоединения к остальной части молекулы.

Гетероалифатический. Используемый в данном документе термин "гетероалифатический" имеет свое обычное значение в данной области техники и относится к алифатическим группам, описанным в данном документе, в которых один или несколько атомов углерода независимо заменены одним или несколькими гетероатомами (например, атомами кислорода, азота, серы, кремния, фосфора и т. п.). В определенных вариантах осуществления одно или несколько звеньев, выбранных из C, CH, CH₂ и CH₃, независимо заменены одним или несколькими гетероатомами (включая их окисленные и/или замещенные формы). В определенных вариантах осуществления гетероалифатическая группа представляет собой гетероалкил. В определенных вариантах осуществления гетероалифатическая группа представляет собой гетероалкенил.

Гетероалкил. Используемый в данном документе термин "гетероалкил" имеет свое обычное значение в данной области техники и относится к алкильным группам, описанным в данном документе, в которых один или несколько атомов углерода независимо заменены одним или несколькими гетероатомами (например, атомами кислорода, азота, серы,

кремния, фосфора и т. п.). Примеры гетероалкильных групп включают без ограничений алкокси, поли(этиленгликоль)-, алкилзамещенную аминогруппу, тетрагидрофуранил, пиперидинил, морфолинил и т. д.

Гетероарил. Термины "гетероарил" и "гетероар-", которые используются сами по себе или как часть более крупного фрагмента, например "гетероаралкил" или "гетероаралкокси", относятся к моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, имеющим суммарно от пяти до тридцати членов кольца, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим, и по меньшей мере один атом ароматического кольца представляет собой гетероатом. В определенных вариантах осуществления гетероарильная группа представляет собой группу, имеющую от 5 до 10 атомов кольца (т. е. моноциклическую, бициклическую или полициклическую), в определенных вариантах осуществления 5, 6, 9 или 10 атомов кольца. В определенных вариантах осуществления каждое моноциклическое кольцевое звено является ароматическим. В определенных вариантах осуществления гетероарильная группа имеет 6, 10 или 14 π -электронов, совместно используемых в циклической конфигурации; и в дополнение к атомам углерода имеет от одного до пяти гетероатомов. Гетероарильные группы включают без ограничения тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. В определенных вариантах осуществления гетероарил представляет собой гетеробиарильную группу, такую как бипиридил и т. п. Термины "гетероарил" и "гетероар-", используемые в данном документе, также включают группы, в которых гетероароматическое кольцо конденсировано с одним или несколькими арильными, циклоалифатическими или гетероциклическими кольцами, где радикал или точка присоединения расположены на гетероароматическом кольце. Неограничивающие примеры включают индолил, изоиндолил, бензотиенил, бензофуранил, дибензофуранил, индазолил, бензимидазолил, бензтиазолил, хинолил, изохинолил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, хиноксалинил, 4Н-хинолизинил, карбазолил, акридинил, феназинил, фенотиазинил, феноксазинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил и пиридо[2,3-*b*]-1,4-оксазин-3-(4Н)-он. Гетероарильная группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин "гетероарил" может использоваться взаимозаменяемо с терминами "гетероарильное кольцо", "гетероарильная группа" или "гетероароматический", при этом любой из этих терминов включает кольца, которые необязательно являются замещенными. Термин "гетероаралкил" относится к алкильной группе, замещенной гетероарильной группой, где алкильная и гетероарильная части независимо необязательно

являются замещенными.

Гетероатом. Используемый в данном документе термин "гетероатом" означает атом, который не является атомом углерода или водорода. В определенных вариантах осуществления гетероатом представляет собой бор, кислород, серу, азот, фосфор или кремний (включая окисленные формы азота, серы, фосфора или кремния; заряженные формы азота (например, кватернизированные формы, формы, представленные в иминиевых группах, и т. д.), фосфора, серы, кислорода и т. д.). В определенных вариантах осуществления гетероатом представляет собой кремний, фосфор, кислород, серу или азот. В определенных вариантах осуществления гетероатом представляет собой кремний, кислород, серу или азот. В определенных вариантах осуществления гетероатом представляет собой кислород, серу или азот.

Гетероцикл. Используемые в данном документе термины "гетероцикл", "гетероциклил", "гетероциклический радикал" и "гетероциклическое кольцо" используются взаимозаменяемо и относятся к моноциклическому, бициклическому или полициклическому кольцевому фрагменту (например, 3-30-членному), который является насыщенным или частично ненасыщенным и содержит один или несколько гетероатомов, являющихся атомами кольца. В определенных вариантах осуществления гетероциклильная группа представляет собой стабильный 5-7-членный моноциклический или 7-10-членный бициклический гетероциклический фрагмент, который является насыщенным либо частично ненасыщенным и в дополнение к атомам углерода содержит один или несколько, предпочтительно от одного до четырех, гетероатомов, определенных выше. При использовании в отношении атома кольца гетероцикла термин "атом азота" включает замещенный атом азота. Например, в насыщенном или частично ненасыщенном кольце, содержащем 0–3 гетероатома, выбранные из атомов кислорода, серы и азота, атом азота может представлять собой N (как в 3,4-дигидро-2H-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или ^+NR (как в N-замещенном пирролидиниле). Гетероциклическое кольцо может быть присоединено к своей боковой группе по любому гетероатому или атому углерода, что приводит к стабильной структуре, и при этом любой из атомов кольца может быть необязательно замещенным. Примеры таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают без ограничения тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, пирролидинил, пиперидинил, пирролинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, diazepинил, оксазепинил, тиазепинил, морфолинил и хинуклидинил. Термины "гетероцикл", "гетероциклил", "гетероциклильное кольцо", "гетероциклическая группа", "гетероциклический фрагмент" и "гетероциклический радикал" используются в

данном документе взаимозаменяемо и также включают группы, в которых гетероциклическое кольцо конденсировано с одним или несколькими арильными, гетероарильными или циклоалифатическими кольцами, такие как индолин, 3Н-индол, хроманил, фенантридин или тетрагидрохинолин. Гетероциклическая группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин "гетероциклический алкил" относится к алкильной группе, замещенной гетероциклическим, где алкильная и гетероциклическая части независимо необязательно являются замещенными.

Идентичность. Используемый в данном документе термин "идентичность" относится к общему родству между полимерными молекулами, например между молекулами нуклеиновых кислот (например, олигонуклеотидами, ДНК, РНК и т. д.) и/или между полипептидными молекулами. В определенных вариантах осуществления полимерные молекулы считаются "по сути идентичными" друг с другом, если их последовательности являются на по меньшей мере 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичными. Расчет процента идентичности двух последовательностей нуклеиновой кислоты или полипептидных последовательностей, например, можно выполнять путем выравнивания двух последовательностей для целей оптимального сравнения (например, для оптимального выравнивания в одну или обе из первой и второй последовательностей можно вводить гэпы, а неидентичные последовательности можно не принимать во внимание для целей сравнения). В определенных вариантах осуществления длина последовательности, подвергаемой выравниванию для целей сравнения, составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95% или по существу 100% от длины эталонной последовательности. Затем сравнивают нуклеотиды в соответствующих положениях. Если положение в первой последовательности занято тем же остатком (например, нуклеотидом или аминокислотой), что и соответствующее положение во второй последовательности, то молекулы являются идентичными по данному положению. Процент идентичности между двумя последовательностями является функцией числа идентичных положений, общих для последовательностей, с учетом числа гэпов и длины каждого гэпа, которые необходимо вводить для оптимального выравнивания двух последовательностей. Сравнение последовательностей и определение процента идентичности между двумя последовательностями можно выполнять с использованием математического алгоритма. Например, процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Мейерса и Миллера (CABIOS, 1989, 4: 11-17), который включен в программу ALIGN (версия 2.0). В

некоторых иллюстративных вариантах осуществления при сравнениях последовательностей нуклеиновых кислот, выполняемых с помощью программы ALIGN, используют таблицу весов замен остатков PAM120, штраф за длину гэпа, составляющий 12, и штраф за введение гэп, составляющий 4. Альтернативно процент идентичности между двумя нуклеотидными последовательностями можно определить с помощью программы GAP в пакете программного обеспечения GCG с использованием матрицы NWSgapdna.CMP.

Межнуклеотидная связь. Используемая в данном документе фраза "межнуклеотидная связь" в целом относится к связи, связывающей нуклеозидные звенья олигонуклеотида или нуклеиновой кислоты. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фосфодиэфирную связь, которая широко распространена во встречающихся в природе молекулах ДНК и РНК (природную фосфатную связь $(-OP(=O)(OH)O-)$, которая, как понятно специалистам в данной области, может существовать в виде солевой формы). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь (неприродную фосфатную связь). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой "модифицированную межнуклеотидную связь", где по меньшей мере один атом кислорода или группа $-OH$ фосфодиэфирной связи заменены другим органическим или неорганическим фрагментом. В определенных вариантах осуществления такой органический или неорганический фрагмент выбран из $=S$, $=Se$, $=NR'$, $-SR'$, $-SeR'$, $-N(R')_2$, $B(R')_3$, $-S-$, $-Se-$, где каждый R' независимо определен и описан в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фосфотриэфирную связь, фосфотиоатную связь (или фосфотиоатдиэфирную связь $-OP(=O)(SH)O-$, которая, как понятно специалистам в данной области, может существовать в виде солевой формы) или фосфотиоаттриэфирную связь. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой одну из связей, образующих, например, PNA (пептидную нуклеиновую кислоту) или РМО (фосфодиамидатный морфолиновый олигомер). В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь (например, p001 в определенных представленных олигонуклеотидах). Специалисту в данной области техники понятно, что при заданном рН

межнуклеотидная связь может существовать в виде аниона или катиона из-за присутствия кислых или основных фрагментов в связи. В определенных вариантах осуществления модифицированные межнуклеотидные связи представляют собой модифицированные межнуклеотидные связи, обозначенные как s, s1, s2, s3, s4, s5, s6, s7, s8, s9, s10, s11, s12, s13, s14, s15, s16, s17 и s18, описанные в WO 2017/210647.

In vitro. Используемый в данном документе термин "*in vitro*" относится к событиям, которые происходят в искусственной среде, например, в пробирке или реакционном сосуде, в культуре клеток и т. д., а не внутри организма (например, животного, растения и/или микроорганизма).

In vivo. Используемый в данном документе термин "*in vivo*" относится к событиям, которые происходят внутри организма (например, животного, растения и/или микроорганизма).

Атом фосфора в составе связи. Определенная в данном документе фраза "атом фосфора в составе связи" используется для обозначения того, что конкретный атом фосфора, о котором идет речь, представляет собой атом фосфора, присутствующий в межнуклеотидной связи, при этом данный атом фосфора соответствует атому фосфора в составе фосфодиэфирной межнуклеотидной связи, которая присутствует во встречающейся в природе ДНК и РНК. В определенных вариантах осуществления атом фосфора в составе связи находится в составе модифицированной межнуклеотидной связи, где каждый атом кислорода в фосфодиэфирной связи необязательно и независимо заменен органическим или неорганическим фрагментом. В определенных вариантах осуществления атом фосфора в составе связи является хиральным (например, как в фосфотиоатных межнуклеотидных связях). В определенных вариантах осуществления атом фосфора в составе связи является ахиральным (например, как в природных фосфатных связях).

Модифицированное нуклеиновое основание. Термины "модифицированное нуклеиновое основание", "модифицированное основание" и т. п. относятся к химическому фрагменту, который отличается химической природой от нуклеинового основания, но который способен к осуществлению по меньшей мере одной функции нуклеинового основания. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой нуклеиновое основание, которое содержит модификацию. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание способно к осуществлению по меньшей мере одной функции нуклеинового основания, например образованию фрагмента в полимере, способного к образованию пар оснований с нуклеиновой кислотой, содержащей по меньшей мере комплементарную последовательность оснований. В определенных вариантах осуществления

модифицированное нуклеиновое основание представляет собой замещенный А, Т, С, G или U или замещенный таутомер А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание в контексте олигонуклеотидов относится к нуклеиновому основанию, отличному от А, Т, С, G или U.

Модифицированный нуклеозид. Термин "модифицированный нуклеозид" относится к фрагменту, полученному из природного нуклеозида или химически подобного ему, но который содержит химическую модификацию, которая позволяет распознавать его от природного нуклеозида. Неограничивающие примеры модифицированных нуклеозидов включают нуклеозиды, которые содержат модификацию основания и/или сахара. Неограничивающие примеры модифицированных нуклеозидов включают те нуклеозиды, которые содержат 2'-модификацию сахара. Неограничивающие примеры модифицированных нуклеозидов также включают нуклеозиды с удаленным азотистым основанием (в которых отсутствует нуклеиновое основание). В определенных вариантах осуществления модифицированный нуклеозид способен к осуществлению по меньшей мере одной функции нуклеозида, например образованию фрагмента в полимере, способного к образованию пар оснований с нуклеиновой кислотой, содержащей по меньшей мере комплементарную последовательность оснований.

Модифицированный нуклеотид. Термин "модифицированный нуклеотид" включает любой химический фрагмент, который отличается по структуре от природного нуклеотида, но который способен к осуществлению по меньшей мере одной функции природного нуклеотида. В определенных вариантах осуществления модифицированный нуклеотид содержит модификацию сахара, основания и/или межнуклеотидной связи. В определенных вариантах осуществления модифицированный нуклеотид содержит модифицированный сахар, модифицированное нуклеиновое основание и/или модифицированную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления модифицированный нуклеотид способен к осуществлению по меньшей мере одной функции нуклеотида, например образованию субъединицы в полимере, способной к образованию пар оснований с нуклеиновой кислотой, содержащей по меньшей мере комплементарную последовательность оснований.

Модифицированный сахар. Термин "модифицированный сахар" относится к фрагменту, который может заменять сахар. Модифицированный сахар имитирует пространственное расположение, электронные свойства или какое-то другое физико-химическое свойство сахара. В определенных вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, модифицированный сахар представляет собой замещенную рибозу или дезоксирибозу. В определенных вариантах осуществления модифицированный сахар содержит 2'-

модификацию. Примеры применимой 2'-модификации широко используются в данной области техники и описаны в данном документе. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-F. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-OR, где R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₁₀алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-OMe. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-MOE. В определенных вариантах осуществления модифицированный сахар представляет собой бициклический сахар (например, сахар, используемый в LNA, BNA и т. д.). В определенных вариантах осуществления в контексте олигонуклеотидов модифицированный сахар представляет собой сахар, отличный от рибозы или дезоксирибозы, который обычно находится в природной РНК или ДНК.

Нуклеиновая кислота. Используемый в данном документе термин "нуклеиновая кислота" включает любые нуклеотиды и их полимеры. Используемый в данном документе термин "полинуклеотид" относится к полимерной форме любой длины, состоящей из нуклеотидов — рибонуклеотидов (РНК) или дезоксирибонуклеотидов (ДНК) либо их комбинации. Данные термины относятся к первичной структуре молекул и, таким образом, включают двух- и однонитевую ДНК, а также двух- и однонитевую РНК. В качестве эквивалентов данные термины включают аналоги РНК или ДНК, содержащие модифицированные нуклеотиды и/или модифицированные полинуклеотиды, такие как без ограничения метилированные, защищенные и/или кэпированные нуклеотиды или полинуклеотиды. Термины охватывают поли- или олигорибонуклеотиды (РНК) и поли- или олигодезоксирибонуклеотиды (ДНК); РНК или ДНК, полученную из N-гликозидов или C-гликозидов нуклеиновых оснований и/или модифицированных нуклеиновых оснований; нуклеиновые кислоты, полученные из сахаров и/или модифицированных сахаров; и нуклеиновые кислоты, полученные из фосфатных мостиков и/или модифицированных межнуклеотидных связей. Термин охватывает нуклеиновые кислоты, содержащие любые комбинации нуклеиновых оснований, модифицированных нуклеиновых оснований, сахаров, модифицированных сахаров, фосфатных мостиков или модифицированных межнуклеотидных связей. Примеры включают без ограничения нуклеиновые кислоты, содержащие рибозные фрагменты, нуклеиновые кислоты, содержащие дезоксирибозные фрагменты, нуклеиновые кислоты, содержащие как рибозные, так и дезоксирибозные фрагменты, нуклеиновые кислоты, содержащие рибозные фрагменты и модифицированные рибозные фрагменты. Если не указано иное, то префикс поли- относится к нуклеиновой кислоте, содержащей от 2 до приблизительно 10000 нуклеотидных мономерных звеньев, и где префикс олиго- относится к нуклеиновой кислоте, содержащей от 2 до приблизительно

200 нуклеотидных мономерных звеньев.

Нуклеиновое основание. Термин "нуклеиновое основание" относится к частям нуклеиновых кислот, которые участвуют в образовании водородных связей, которые связывают одну нить нуклеиновой кислоты с другой комплементарной нитью специфичным для последовательности образом. Наиболее распространенными встречающимися в природе нуклеиновыми основаниями являются аденин (A), гуанин (G), урацил (U), цитозин (C) и тимин (T). В определенных вариантах осуществления встречающиеся в природе нуклеиновые основания представляют собой модифицированные аденин, гуанин, урацил, цитозин или тимин. В определенных вариантах осуществления встречающиеся в природе нуклеиновые основания представляют собой метилированные аденин, гуанин, урацил, цитозин или тимин. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание содержит гетероарильное кольцо, где атом кольца представляет собой атом азота, и где в составе нуклеозида атом азота соединен с сахарным фрагментом. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание содержит гетероциклическое кольцо, где атом кольца представляет собой атом азота, и где в составе нуклеозида атом азота соединен с сахарным фрагментом. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой "модифицированное нуклеиновое основание" — нуклеиновое основание, отличное от аденина (A), гуанина (G), урацила (U), цитозина (C) и тимина (T). В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой замещенный A, T, C, G или U. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой замещенный таутомер A, T, C, G или U. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой метилированный аденин, гуанин, урацил, цитозин или тимин. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание имитирует пространственное расположение, электронные свойства или какое-либо другое физико-химическое свойство нуклеинового основания и сохраняет свойство образования водородных связей, которые связывают одну нить нуклеиновой кислоты с другой специфичным для последовательности образом. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание может образовывать пару со всеми пятью встречающимися в природе основаниями (урацилом, тимином, аденином, цитозином или гуанином) без существенного влияния на поведение при плавлении, распознавание внутриклеточными ферментами или активность олигонуклеотидного дуплекса. Используемый в данном документе термин "нуклеиновое основание" также охватывает структурные аналоги, используемые вместо природных или встречающихся в природе нуклеотидов, такие как модифицированные

нуклеиновые основания и аналоги нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный А, Т, С, G или U или необязательно замещенный таутомер А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления "нуклеиновое основание" относится к звену, содержащему нуклеиновое основание, в олигонуклеотиде или нуклеиновой кислоте (например, А, Т, С, G или U в олигонуклеотиде или нуклеиновой кислоте).

Нуклеозид. Термин "нуклеозид" относится к фрагменту, в котором нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание ковалентно связано с сахаром или модифицированным сахаром. В определенных вариантах осуществления нуклеозид представляет собой природный нуклеозид, например аденозин, дезоксиаденозин, гуанозин, дезоксигуанозин, тимидин, уридин, цитидин или дезоксицитидин. В определенных вариантах осуществления нуклеозид представляет собой модифицированный нуклеозид, например замещенный природный нуклеозид, выбранный из аденозина, дезоксиаденозина, гуанозина, дезоксигуанозина, тимидина, уридина, цитидина и дезоксицитидина. В определенных вариантах осуществления нуклеозид представляет собой модифицированный нуклеозид, например замещенный таутомер природного нуклеозида, выбранный из аденозина, дезоксиаденозина, гуанозина, дезоксигуанозина, тимидина, уридина, цитидина и дезоксицитидина. В определенных вариантах осуществления "нуклеозид" относится к нуклеозидному звену в олигонуклеотиде или нуклеиновой кислоте.

Нуклеотид. Используемый в данном документе термин "нуклеотид" относится к мономерному звену полинуклеотида, которое состоит из нуклеинового основания, сахара и одной или нескольких межнуклеотидных связей (например, фосфатных связей в природных ДНК и РНК). Встречающиеся в природе основания [гуанин, (G), аденин, (A), цитозин, (C), тимин, (T) и урацил (U)] являются производными пурина или пиримидина, хотя следует понимать, что также включены встречающиеся в природе и не встречающиеся в природе аналоги оснований. Встречающийся в природе сахар представляет собой пентозу (пятиуглеродный сахар) дезоксирибозу (которая образует ДНК) или рибозу (которая образует РНК), хотя следует понимать, что также включены встречающиеся в природе и не встречающиеся в природе аналоги сахара. Нуклеотиды связаны посредством межнуклеотидных связей с образованием нуклеиновых кислот или полинуклеотидов. Многие межнуклеотидные связи известны в данной области техники (такие как без ограничений фосфатные, фосфотиоатные, боранофосфатные и т. п.). Искусственные нуклеиновые кислоты включают PNA (пептидные нуклеиновые кислоты), фосфотриэфиры, фосфотионаты, Н-фосфонаты, фосфорамидаты, боранофосфаты, метилфосфонаты,

фосфоацетаты, тиофосфоацетаты и другие варианты фосфатного остова нативных нуклеиновых кислот, такие как описаны в данном документе. В определенных вариантах осуществления природный нуклеотид содержит встречающиеся в природе основание, сахар и межнуклеотидную связь. Используемый в данном документе термин "нуклеотид" также охватывает структурные аналоги, используемые вместо природных или встречающихся в природе нуклеотидов, такие как модифицированные нуклеотиды и аналоги нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления "нуклеотид" относится к нуклеотидному звену в олигонуклеотиде или нуклеиновой кислоте.

Олигонуклеотид. Термин "олигонуклеотид" относится к полимеру или олигомеру из нуклеотидов, и они могут содержать любую комбинацию природных и неприродных нуклеиновых оснований, сахаров и межнуклеотидных связей.

Олигонуклеотиды могут быть однонитевыми или двухнитевыми. Однонитевой олигонуклеотид может содержать двухнитевые области (образованные двумя частями однонитевого олигонуклеотида), а двухнитевой олигонуклеотид, который содержит две олигонуклеотидные цепи, может содержать однонитевые области, например, в областях, где две олигонуклеотидные цепи не являются комплементарными друг другу. Примеры олигонуклеотидов включают без ограничений структурные гены, гены, содержащие области контроля и терминации, самореплицирующиеся системы, такие как вирусная или плазмидная ДНК, однонитевые и двухнитевые средства для RNAi и другие реагенты для РНК-интерференции (средства для RNAi или средства iRNA), shRNA, антисмысловые олигонуклеотиды, рибозимы, микроРНК, миметики микроРНК, супер-miR, аптамеры, анти-miR, антагонисты miR, адапторы U1, триплекс-образующие олигонуклеотиды, олигонуклеотиды, образующие G-квадруплекс, активаторы РНК, иммуностимулирующие олигонуклеотиды и олигонуклеотиды-ловушки.

Длина олигонуклеотидов по настоящему изобретению может быть различной. В конкретных вариантах осуществления длина олигонуклеотидов может находиться в диапазоне от приблизительно 2 до приблизительно 200 нуклеозидов. В различных связанных вариантах осуществления длина однонитевых, двухнитевых и трехнитевых олигонуклеотидов может находиться в диапазоне от приблизительно 4 до приблизительно 10 нуклеозидов, от приблизительно 10 до приблизительно 50 нуклеозидов, от приблизительно 20 до приблизительно 50 нуклеозидов, от приблизительно 15 до приблизительно 30 нуклеозидов, от приблизительно 20 до приблизительно 30 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет от приблизительно 9 до приблизительно 39 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 4 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 5 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 6 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 7 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 8 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 9 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 10 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 11 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 12 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 15 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 15 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 16 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 17 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 18 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 19 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 20 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 25 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления длина олигонуклеотида составляет по меньшей мере 30 нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления каждый нуклеозид, учитываемый в длине олигонуклеотида, независимо содержит нуклеиновое основание, содержащее кольцо, имеющее по меньшей мере один атом азота кольца. В определенных вариантах осуществления каждый нуклеозид, учитываемый в длине олигонуклеотида, независимо содержит А, Т, С, G или U, или необязательно замещенный А, Т, С, G или U, или необязательно замещенный таутомер А, Т, С, G или U.

Тип олигонуклеотидов. Используемую в данном документе фразу "тип олигонуклеотидов" используют для определения олигонуклеотида, который имеет конкретную последовательность оснований, паттерн связей в остове (т. е. паттерн типов межнуклеотидных связей, например фосфатных, фосфотиоатных, фосфотиоаттриэфирных и т. д.), паттерн хиральных центров остова (т. е. паттерн стереохимии атома фосфора в

составе связи (Rp/Sp)) и паттерн модификаций по атому фосфора в остове. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды общего указанного "типа" являются идентичными друг другу по структуре.

Специалист в данной области техники поймет, что способы синтеза по настоящему изобретению обеспечивают степень контроля в ходе синтеза олигонуклеотидной нити, так что каждое нуклеотидное звено олигонуклеотидной нити может быть разработано и/или выбрано заранее для обеспечения конкретной стереохимии по атому фосфора в составе связи и/или конкретной модификации по атому фосфора в составе связи, и/или конкретного основания, и/или конкретного сахара. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотидная нить разработана и/или выбрана заранее для получения конкретной комбинации стерических центров в атоме фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотидная нить разработана и/или определена для получения конкретной комбинации модификаций по атому фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотидная нить разработана и/или выбрана для получения конкретной комбинации оснований. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотидная нить разработана и/или выбрана для получения конкретной комбинации одной или нескольких приведенных выше структурных характеристик. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции, содержащие совокупность молекул олигонуклеотидов (например, композиции на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью) или состоящие из нее. В определенных вариантах осуществления все такие молекулы относятся к одному типу (т. е. являются идентичными друг другу по структуре). Однако в определенных вариантах осуществления представленные композиции содержат совокупность олигонуклеотидов разных типов, обычно в предварительно определенных относительных количествах.

Необязательно замещенный. Описываемые в данном документе соединения, например олигонуклеотиды по настоящему изобретению, могут содержать необязательно замещенные и/или замещенные фрагменты. Обычно термин "замещенный", независимо от того, предшествует ли ему термин "необязательно" или нет, означает, что один или несколько атомов водорода в указанном фрагменте заменены подходящим заместителем. Если не указано иное, то "необязательно замещенный" группа может содержать подходящий заместитель в каждом поддающемся замещению положении группы, и когда более одного положения в любой указанной структуре могут быть замещены более чем одним заместителем, выбранным из определенной группы, заместители могут быть либо одинаковыми, либо разными в каждом положении. В определенных вариантах

осуществления необязательно замещенная группа является незамещенной. Комбинации заместителей, предусмотренные в настоящем изобретении, предпочтительно представляют собой комбинации, которые приводят к образованию стабильных или химически осуществимых соединений. Термин "стабильный", используемый в данном документе, относится к соединениям, которые существенно не изменяются под воздействием условий, обеспечивающих их получение, обнаружение и, в определенных вариантах осуществления, их извлечение, очистку и применение для одной или нескольких целей, раскрытых в данном документе. Некоторые заместители описаны ниже.

Подходящие одновалентные заместители при замещаемом атоме, например подходящем атоме углерода, независимо представляют собой галоген; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OR}^\circ$; $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-4}\text{R}^\circ$; $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{CH}(\text{OR}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{Ph}$, который может быть замещен R° ; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}\text{Ph}$, который может быть замещен R° ; $-\text{CH}=\text{CHPh}$, который может быть замещен R° ; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}$ -пиридил, который может быть замещен R° ; $-\text{NO}_2$; $-\text{CN}$; $-\text{N}_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{N}(\text{R}^\circ)\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{S})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{OSiR}^\circ_3$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{OC}(\text{O})(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SR}^\circ$; $-\text{SC}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SC}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{C}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{S})\text{SR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OC}(\text{O})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NOR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{SSR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})_2\text{OR}^\circ$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{OS}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-(\text{CH}_2)_{0-4}\text{S}(\text{O})\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^\circ_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{S}(\text{O})_2\text{R}^\circ$; $-\text{N}(\text{OR}^\circ)\text{R}^\circ$; $-\text{C}(\text{NH})\text{NR}^\circ_2$; $-\text{Si}(\text{R}^\circ)_3$; $-\text{OSi}(\text{R}^\circ)_3$; $-\text{B}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OB}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OB}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)(\text{OR}^\circ)$; $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)(\text{SR}^\circ)$; $-\text{SP}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{SP}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{R}^\circ)_2$; $-\text{N}(\text{R}^\circ)\text{P}(\text{O})(\text{OR}^\circ)_2$; $-\text{P}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{P}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{OP}(\text{R}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-\text{OP}(\text{OR}^\circ)_2[\text{B}(\text{R}^\circ)_3]$; $-(\text{линейный или разветвленный } \text{C}_{1-4}\text{алкилен})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$ или $-(\text{линейный или разветвленный } \text{C}_{1-4}\text{алкилен})\text{C}(\text{O})\text{O}-\text{N}(\text{R}^\circ)_2$, где каждый R° может быть замещенным, как определено в данном документе, и независимо представляет собой водород, C_{1-20} алифатическую группу, C_{1-20} гетероалифатическую группу, содержащую 1-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, $-\text{CH}_2-(\text{C}_{6-14}\text{арил})$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_{0-1}(\text{C}_{6-14}\text{арил})$, $-\text{CH}_2-(5-14\text{-членное гетероарильное кольцо})$, $5-20\text{-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, или, безотносительно вышеприведенного определения, два независимых варианта } \text{R}^\circ$,

взятые вместе с их промежуточным(-ыми) атомом(-ами), образуют 5-20-членное моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, которые могут быть замещены, как определено ниже.

Подходящие одновалентные заместители при R° (или кольцо, образованном двумя независимыми вариантами R° , взятыми вместе с их промежуточными атомами) независимо представляют собой галоген, $-(CH_2)_{0-2}R^\lambda$, $-(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^\lambda$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\lambda)_2$; $-O(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\lambda$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\lambda$, $-(CH_2)_{0-2}SR^\lambda$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$, $-(CH_2)_{0-2}NHR^\lambda$, $-(CH_2)_{0-2}NR^\lambda_2$, $-NO_2$, $-SiR^\lambda_3$, $-OSiR^\lambda_3$, $-C(O)SR^\lambda$, $-(\text{линейный или разветвленный } C_{1-4}\text{алкилен})C(O)OR^\lambda$ или $-SSR^\lambda$, где каждый R^λ является незамещенным или, если ему предшествует "галоген", замещенным только одним или несколькими галогенами, и независимо выбранным из C_{1-4} алифатической группы, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ и 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, содержащего 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы. Подходящие двухвалентные заместители при насыщенном атоме углерода в R° включают $=O$ и $=S$.

Подходящие двухвалентные заместители, например при подходящем атоме углерода, независимо представляют собой следующее: $=O$, $=S$, $=NNR^*_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHC(O)OR^*$, $=NNHS(O)_2R^*$, $=NR^*$, $=NOR^*$, $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ или $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, где каждый независимый вариант R^* выбран из водорода, C_{1-6} алифатической группы, которая может быть замещена, как определено ниже, и незамещенного 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, содержащего 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы. Подходящие двухвалентные заместители, которые связаны с соседними поддающимися замещению атомами углерода "необязательно замещенной" группы, включают: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$, где каждый независимый вариант R^* выбран из водорода, C_{1-6} алифатической группы, которая может быть замещена, как определено ниже, и незамещенного 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного и арильного кольца, содержащего 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы.

Подходящие заместители при алифатической группе R^* независимо представляют собой галоген, $-R^\lambda$, $-(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-OH$, $-OR^\lambda$, $-O(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\lambda$, $-NH_2$, $-NHR^\lambda$, $-NR^\lambda_2$ или $-NO_2$, где каждый R^λ является незамещенным или, если ему предшествует "галоген", замещен только одним или несколькими галогенами и независимо представляет собой C_{1-4} алифатическую группу, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ или 5-6-членное насыщенное,

частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы.

В определенных вариантах осуществления подходящие заместители при замещаемом атоме азота независимо представляют собой $-R^\dagger$, $-NR^\dagger_2$, $-C(O)R^\dagger$, $-C(O)OR^\dagger$, $-C(O)C(O)R^\dagger$, $-C(O)CH_2C(O)R^\dagger$, $-S(O)_2R^\dagger$, $-S(O)_2NR^\dagger_2$, $-C(S)NR^\dagger_2$, $-C(NH)NR^\dagger_2$ или $-N(R^\dagger)S(O)_2R^\dagger$; где каждый R^\dagger независимо представляет собой водород, C_{1-6} алифатическую группу, которая может быть замещена, как определено ниже, незамещенный $-OPh$ или незамещенное 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы, или, безотносительно вышеприведенного определения, два независимых варианта R^\dagger , взятые вместе с расположенным(-и) между ними атомом(-ами), образуют незамещенное 3-12-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное моно- или бициклическое кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы.

Подходящие заместители при алифатической группе R^\dagger независимо представляют собой галоген, $-R^\lambda$, $-(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-OH$, $-OR^\lambda$, $-O(\text{галоген}-R^\lambda)$, $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^\lambda$, $-NH_2$, $-NHR^\lambda$, $-NR^\lambda_2$, или $-NO_2$, где каждый R^λ является незамещенным или, если ему предшествует "галоген", замещен только одним или несколькими галогенами и независимо представляет собой C_{1-4} алифатическую группу, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ или 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, содержащее 0-4 гетероатома, независимо выбранные из азота, кислорода и серы.

Р-модификация. Используемый в данном документе термин "Р-модификация" относится к любой модификации по атому фосфора в составе связи, отличной от стереохимической модификации. В определенных вариантах осуществления Р-модификация предусматривает добавление, замещение или удаление бокового фрагмента, ковалентно присоединенного к атому фосфора в составе связи.

Частично ненасыщенный. Используемый в данном документе термин "частично ненасыщенный" относится к кольцевому фрагменту, который содержит по меньшей мере одну двойную или тройную связь. Подразумевается, что термин "частично ненасыщенный" охватывает кольца, содержащие несколько сайтов с ненасыщенной связью, но подразумевается, что он не включает арильные или гетероарильные фрагменты, определенные в данном документе.

Фармацевтическая композиция. Используемый в данном документе термин "фармацевтическая композиция" относится к активному средству, составленному вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. В определенных вариантах осуществления активное средство присутствует в соответствующей стандартной

дозе в количестве, подходящем для введения в рамках схемы терапии, которая демонстрирует статистически значимую вероятность достижения предварительно определенного терапевтического эффекта при введении соответствующей группе. В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции могут быть специально составлены для введения в твердой или жидкой форме, включая формы, которые приспособлены для следующего: для перорального введения, например, жидкие лекарственные формы (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для трансбуккального, сублингвального и системного всасывания, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; для парентерального введения, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора или стерильной суспензии или состава с замедленным высвобождением; для местного применения, например, в виде крема, мази или пластыря или спрея с контролируемым высвобождением, наносимых на кожу, в легкие или в полость рта; для интравагинального или интаректального введения, например, в виде пессария, крема или пены; для сублингвального; глазного; трансдермального или назального, легочного введения и нанесения на поверхности других слизистых оболочек.

Фармацевтически приемлемый. Используемая в данном документе фраза "фармацевтически приемлемый" относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые в рамках обоснованного врачебного решения подходят для применения в контакте с тканями людей и животных без избыточных токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения соизмеримо с разумным соотношением польза/риск.

Фармацевтически приемлемый носитель. Используемый в данном документе термин "фармацевтически приемлемый носитель" означает фармацевтически приемлемые материал, композицию или среду-носитель, такие как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество или материал для инкапсулирования растворителя, которые участвуют в переносе или транспортировке заявляемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть "приемлемый" в плане совместимости с другими ингредиентами состава и не причинять вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как натрий-карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетилцеллюлоза; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; наполнители, такие как масло какао и воски для суппозиториев; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое

масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; буферные растворы для поддержания pH; сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

Фармацевтически приемлемая соль. Термин "фармацевтически приемлемая соль", используемый в данном документе, относится к солям таких соединений, которые являются подходящими для применения в фармацевтическом контексте, т. е. солям, которые в рамках обоснованного врачебного решения являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и низших животных без избыточных токсичности, раздражения, аллергической реакции и т. п. и соизмеримо с разумным соотношением польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны из уровня техники. Например, S. M. Berge, et al. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в *J. Pharmaceutical Sciences*, 66: 1-19 (1977). В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль включает без ограничения нетоксичные соли присоединения кислот, которые являются солями по аминогруппе, образованными с неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и перхлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с помощью других способов, используемых в данной области техники, таких как ионный обмен. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают без ограничения адипатные, альгинатные, аскорбатные, аспартатные, бензолсульфонатные, бензоатные, бисульфатные, боратные, бутиратные, камфоратные, камфорсульфонатные, цитратные, циклопентанпропионатные, диглюконатные, додецилсульфатные, этансульфонатные, формиатные, фумаратные, глюкогептонатные, глицерофосфатные, глюконатные, гемисульфатные, гептаноатные, гексаноатные, гидройодидные, 2-гидроксиэтансульфонатные, лактобионатные, лактатные, лауратные, лаурилсульфатные, малатные, малеатные, малонатные, метансульфонатные, 2-нафталинсульфонатные, никотинатные, нитратные, олеатные, оксалатные, пальмитатные, памоатные, пектинатные, персульфатные, 3-фенилпропионатные, фосфатные, пикратные, пивалатные, пропионатные, стеаратные, сукцинатные, сульфатные, тартратные, тиоцианатные, пара-толуолсульфонатные, ундеканоатные, валератные соли и т. п. В

определенных вариантах осуществления представленное соединение содержит одну или несколько кислотных групп, например, в случае олигонуклеотида, и фармацевтически приемлемая соль является солью щелочного, щелочноземельного металла или аммония (например, аммониевой солью $N(R)_3$, где каждый R независимо определен и описан в настоящем изобретении). Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают натриевую, литиевую, калиевую, кальциевую, магниевую соли и т. п. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой калиевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой кальциевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают в соответствующих случаях соли нетоксичных катионов аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с использованием противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, алкил, содержащий 1-6 атомов углерода, сульфонат и арилсульфонат. В определенных вариантах осуществления представленное соединение содержит более одной кислотной группы, например, олигонуклеотид может содержать две или больше кислотные группы (например, в природных фосфатных связях и/или модифицированных межнуклеотидных связях). В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль или в целом соль такого соединения содержит два или больше катиона, которые могут быть одинаковыми или разными. В определенных вариантах осуществления в фармацевтически приемлемой соли (или в целом соли) все ионизируемые атомы водорода (например, в водном растворе с рКа, составляющей не более чем приблизительно 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 или 2; в определенных вариантах осуществления не более чем приблизительно 7; в определенных вариантах осуществления не более чем приблизительно 6; в определенных вариантах осуществления не более чем приблизительно 5; в определенных вариантах осуществления не более чем приблизительно 4; в определенных вариантах осуществления не более чем приблизительно 3) в кислотных группах заменены на катионы. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная и фосфатная группа независимо существует в своей солевой форме (например, в случае натриевой соли, $-O-P(O)(SNa)-O-$ и $-O-P(O)(ONa)-O-$ соответственно). В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная и фосфатная межнуклеотидная связь независимо существует в своей солевой форме (например, в случае натриевой соли, $-O-P(O)(SNa)-O-$ и $-O-P(O)(ONa)-O-$ соответственно). В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль олигонуклеотида. В определенных вариантах

осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль олигонуклеотида, где каждая кислотная фосфатная и модифицированная фосфатная группа (например, фосфотиоатная, фосфатная и т. д.), если таковая имеется, существует в виде солевой формы (во всех случаях в форме натриевой соли).

Предварительно определенный. Под предварительно определенным (или предопределенным) подразумевается преднамеренно выбранный, или неслучайный, или контролируемый, например, в противоположность происходящему случайно, произвольному или достигнутому без контроля. Средним специалистам в данной области, читающим настоящее описание, будет понятно, что в настоящем изобретении представлены технологии, которые обеспечивают возможность выбора конкретных химических и/или стереохимических особенностей для включения в композиции на основе олигонуклеотидов, а также обеспечивают возможность контролируемого получения композиций на основе олигонуклеотидов, характеризующихся такими химическими и/или стереохимическими особенностями. Такие представленные композиции являются "предварительно определенными", как описано в данном документе. Композиции, которые могут содержать определенные олигонуклеотиды ввиду того, что они были случайно получены посредством процесса, который не является контролируемым для преднамеренного получения конкретных химических и/или стереохимических признаков, не являются "предварительно определенными" композициями. В определенных вариантах осуществления предварительно определенная композиция представляет собой композицию, которую можно преднамеренно воспроизвести (например, посредством повторения контролируемого процесса). В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень совокупности олигонуклеотидов в композиции означает, что абсолютное количество и/или относительное количество (соотношение, процентная доля и т. д.) совокупности олигонуклеотидов в композиции является контролируемым. В определенных вариантах осуществления предварительно определенный уровень совокупности олигонуклеотидов в композиции достигается посредством получения олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью.

Защитная группа. Используемый в данном документе термин "защитная группа" является хорошо известным в данной области техники и включает защитные группы, описанные подробно в *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, полное содержание которого включено в данный документ посредством ссылки. Также включены те защитные группы, которые специально адаптированы для химии нуклеозидов и нуклеотидов, описанные в справочнике *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry* под редакцией Serge L. Beaucage et al., 06/2012, полное

содержание раздела 2 которого включено в данный документ посредством ссылки. Подходящие защитные группы для аминогруппы включают метилкарбамат, этилкарбамат, 9-флуоренилметилкарбамат (Fmoc), 9-(2-сульфо)флуоренилметилкарбамат, 9-(2,7-дибром)флуоренилметилкарбамат, 2,7-ди-трет-бутил-[9-(10,10-диоксо-10,10,10,10-тетрагидротиоксантил)]метилкарбамат (DBD-Tmoc), 4-метоксифенацилкарбамат (Phenc), 2,2,2-трихлорэтилкарбамат (Troc), 2-триметилсилилэтилкарбамат (Teoc), 2-фенилэтилкарбамат (hZ), 1-(1-адамантил)-1-метилэтилкарбамат (Adroc), 1,1-диметил-2-галогенэтилкарбамат, 1,1-диметил-2,2-дибромэтилкарбамат (DB-трет-BOC), 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтилкарбамат (TCBOC), 1-метил-1-(4-бифенилил)этилкарбамат (Broc), 1-(3,5-ди-трет-бутилфенил)-1-метилэтилкарбамат (трет-Bumeoc), 2-(2'- и 4'-пиридил)этилкарбамат (Puc), 2-(N,N-дициклогексилкарбоксамидо)этилкарбамат, трет-бутилкарбамат (BOC), 1-адамантилкарбамат (Adoc), винилкарбамат (Voc), аллилкарбамат (Alloc), 1-изопропилаллилкарбамат (Ipaoc), циннамилкарбамат (Coc), 4-нитроциннамилкарбамат (Noc), 8-хинолилкарбамат, N-гидроксипиперидинилкарбамат, алкилдитиокарбамат, бензилкарбамат (Cbz), п-метоксибензилкарбамат (Moz), п-нитробензилкарбамат, п-бромбензилкарбамат, п-хлорбензилкарбамат, 2,4-дихлорбензилкарбамат, 4-метилсульфинилбензилкарбамат (MsZ), 9-антрилметилкарбамат, дифенилметилкарбамат, 2-метилтиоэтилкарбамат, 2-метилсульфонилэтилкарбамат, 2-(п-толуолсульфонил)этилкарбамат, [2-(1,3-дителил)]метилкарбамат (Dmoc), 4-метилтиофенилкарбамат (Mtpc), 2,4-диметилтиофенилкарбамат (Bmpc), 2-фосфонийэтилкарбамат (Pcoc), 2-трифенилфосфонийизопропилкарбамат (Ppoc), 1,1-диметил-2-цианоэтилкарбамат, м-хлор-п-ацилоксибензилкарбамат, п-(дигидроксиборил)бензилкарбамат, 5-бензизоксазолметилкарбамат, 2-(трифторметил)-6-хромонилметилкарбамат (Tcroc), м-нитрофенилкарбамат, 3,5-диметоксибензилкарбамат, о-нитробензилкарбамат, 3,4-диметокси-6-нитробензилкарбамат, фенил(о-нитрофенил)метилкарбамат, производное фенотиазинил-(10)-карбонила, производное N'-п-толуолсульфониламинокарбонила, производное N'-фениламинотиокарбонила, трет-амилкарбамат, S-бензилтиокарбамат, п-цианобензилкарбамат, циклобутилкарбамат, циклогексилкарбамат, циклопентилкарбамат, циклопропилметилкарбамат, п-децилоксибензилкарбамат, 2,2-диметоксикарбонилвинилкарбамат, о-(N,N-диметилкарбоксамидо)бензилкарбамат, 1,1-диметил-3-(N,N-диметилкарбоксамидо)пропилкарбамат, 1,1-диметилпропинилкарбамат, ди(2-пиридил)метилкарбамат, 2-фуранилметилкарбамат, 2-йодэтилкарбамат, изоборнилкарбамат, изобутилкарбамат, изоникотинилкарбамат, п-(п'-метоксифенилазо)бензилкарбамат, 1-метилциклобутилкарбамат, 1-

метилциклогексилкарбамат, 1-метил-1-циклопропилметилкарбамат, 1-метил-1-(3,5-диметоксифенил)этилкарбамат, 1-метил-1-(*p*-фенилазофенил)этилкарбамат, 1-метил-1-фенилэтилкарбамат, 1-метил-1-(4-пиридил)этилкарбамат, фенилкарбамат, *p*-(фенилазо)бензилкарбамат, 2,4,6-три-трет-бутилфенилкарбамат, 4-(триметиламмоний)бензилкарбамат, 2,4,6-триметилбензилкарбамат, формаид, ацетаид, хлорацетаид, трихлорацетаид, трифторацетаид, фенилацетаид, 3-фенилпропанаид, пиколинаид, 3-пиридилкарбоксамид, производное *N*-бензоилфенилаланила, бензамид, *p*-фенилбензамид, *o*-нитрофенилацетаид, *o*-нитрофеноксиацетаид, ацетоацетаид, (*N'*-дитиобензилоксикарбониламино)ацетаид, 3-(*p*-гидроксифенил)пропанаид, 3-(*o*-нитрофенил)пропанаид, 2-метил-2-(*o*-нитрофенокси)пропанаид, 2-метил-2-(*o*-фенилазофенокси)пропанаид, 4-хлорбутанаид, 3-метил-3-нитробутанаид, *o*-нитроциннаид, производное *N*-ацетилметионина, *o*-нитробензамид, *o*-(бензоилоксиметил)бензамид, 4,5-дифенил-3-оксазолин-2-он, *N*-фталиид, *N*-дитиасукцинимид (Dts), *N*-2,3-дифенилмалеид, *N*-2,5-диметилпиррол, аддукт *N*-1,1,4,4-тетраметилдисирилазациклопентана (STABASE), 5-замещенный 1,3-диметил-1,3,5-триазациклогексан-2-он, 5-замещенный 1,3-добензил-1,3,5-триазациклогексан-2-он, 1-замещенный 3,5-динитро-4-пиридон, *N*-метиламин, *N*-аллиламин, *N*-[2-(триметилсилил)этокси]метиламин (SEM), *N*-3-ацетоксипропиламин, *N*-(1-изопропил-4-нитро-2-оксо-3-пирролин-3-ил)амин, четвертичные аммониевые соли, *N*-бензиламин, *N*-ди(4-метоксифенил)метиламин, *N*-5-добензосубериламин, *N*-трифенилметиламин (Tr), *N*-[(4-метоксифенил)дифенилметил]амин (MMTr), *N*-9-фенилфлуорениламин (PhF), *N*-2,7-дихлор-9-флуоренилметиленамин, *N*-ферроценилметиламино (Fcm), *N*-2-пиколиламино-*N'*-оксид, *N*-1,1-диметилтиометиленамин, *N*-бензилиденамин, *N*-*p*-метоксибензилиденамин, *N*-дифенилметиленамин, *N*-[(2-пиридил)мезитил]метиленамин, *N*-(*N'*,*N'*-диметиламинометиленамин), *N*,*N'*-изопропилидендиамин, *N*-*p*-нитробензилиденамин, *N*-салицилиденамин, *N*-5-хлорсалицилиденамин, *N*-(5-хлор-2-гидроксифенил)фенилметиленамин, *N*-циклогексилиденамин, *N*-(5,5-диметил-3-оксо-1-циклогексенил)амин, производное *N*-борана, производное *N*-дифенилбориновой кислоты, *N*-[фенил(пентакарбонилхром- или вольфрам)карбонил]амин, хелат *N*-меди, хелат *N*-цинка, *N*-нитроамин, *N*-нитрозоамин, *N*-оксид амина, дифенилфосфинаид (Dpp), диметилтиофосфинаид (Mpt), дифенилтиофосфинаид (Ppt), диалкилфосфорамидаты, добензилфосфорамидат, дифенилфосфорамидат, бензолсульфенаид, *o*-нитробензолсульфенаид (Nps), 2,4-динитробензолсульфенаид, пентахлорбензолсульфенаид, 2-нитро-4-метоксибензолсульфенаид, трифенилметилсульфенаид, 3-нитропиридинсульфенаид (Npys), *p*-толуолсульфенаид

(Ts), бензолсульфонамид, 2,3,6-триметил-4-метоксибензолсульфонамид (Mtr), 2,4,6-триметоксибензолсульфонамид (Mtb), 2,6-диметил-4-метоксибензолсульфонамид (Pme), 2,3,5,6-тетраметил-4-метоксибензолсульфонамид (Mte), 4-метоксибензолсульфонамид (Mbs), 2,4,6-триметилбензолсульфонамид (Mts), 2,6-диметокси-4-метилбензолсульфонамид (iMds), 2,2,5,7,8-пентаметилхроман-6-сульфонамид (Pmc), метансульфонамид (Ms), β -триметилсилилэтансульфонамид (SES), 9-антраценсульфонамид, 4-(4',8'-диметоксинафтилметил)бензолсульфонамид (DNMBS), бензилсульфонамид, трифторметилсульфонамид и фенацилсульфонамид.

Соответствующим образом защищенные карбоновые кислоты дополнительно включают без ограничения силил-, алкил-, алкенил-, арил- и арилалкил-защищенные карбоновые кислоты. Примеры подходящих силильных групп включают триметилсилил, триэтилсилил, трет-бутилдиметилсилил, трет-бутилдифенилсилил, триизопропилсилил и т. п. Примеры подходящих алкильных групп включают метил, бензил, п-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, тритил, трет-бутил, тетрагидропиран-2-ил. Примеры подходящих алкенильных групп включают аллил. Примеры подходящих арильных групп включают необязательно замещенный фенил, бифенил или нафтил. Примеры подходящих арилалкильных групп включают необязательно замещенный бензил (например, п-метоксибензил (MPM), 3,4-диметоксибензил, О-нитробензил, п-нитробензил, п-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, п-цианобензил) и 2- и 4-пиколил.

Подходящие защитные группы для гидроксила включают метил, метоксилметил (MOM), метилтиометил (MTM), трет-бутилтиометил, (фенилдиметилсилил)метоксиметил (SMOM), бензилоксиметил (BOM), п-метоксибензилоксиметил (PMBM), (4-метоксифенокси)метил (п-AOM), гваяколметил (GUM), трет-бутоксиметил, 4-пентенилоксиметил (POM), силоксиметил, 2-метоксиэтоксиметил (MEM), 2,2,2-трихлорэтоксиметил, бис(2-хлорэтокси)метил, 2-(триметилсилил)этоксиметил (SEMOR), тетрагидропиранил (THP), 3-бромтетрагидропиранил, тетрагидротиопиранил, 1-метоксициклогексил, 4-метокситетрагидропиранил (MTHP), 4-метокситетрагидротиопиранил, 4-метокситетрагидротиопиранил-S,S-диоксид, 1-[(2-хлор-4-метил)фенил]-4-метоксипиперидин-4-ил (CTMP), 1,4-диоксан-2-ил, тетрагидрофуранил, тетрагидротиофуранил, 2,3,3а,4,5,6,7,7а-октагидро-7,8,8-триметил-4,7-метанобензофуран-2-ил, 1-этоксиэтил, 1-(2-хлорэтокси)этил, 1-метил-1-метоксиэтил, 1-метил-1-бензилоксиэтил, 1-метил-1-бензилокси-2-фторэтил, 2,2,2-трихлорэтил, 2-триметилсилилэтил, 2-(фенилселенил)этил, трет-бутил, аллил, п-хлорфенил, п-метоксифенил, 2,4-динитрофенил, бензил, п-метоксибензил, 3,4-диметоксибензил, орто-нитробензил, п-нитробензил, п-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил,

п-цианобензил, п-фенилбензил, 2-пиколил, 4-пиколил, 3-метил-2-пиколил-N-оксид, дифенилметил, п,п'-динитробензгидрил, 5-добензосуберил, трифенилметил, α-нафтилдифенилметил, п-метоксифенилдифенилметил, ди(п-метоксифенил)фенилметил, три(п-метоксифенил)метил, 4-(4'-бромфенацилоксифенил)дифенилметил, 4,4',4''-трис(4,5-дихлорфталимидофенил)метил, 4,4',4''-трис(левулиноилоксифенил)метил, 4,4',4''-трис(бензоилоксифенил)метил, 3-(имидазол-1-ил)бис(4',4''-диметоксифенил)метил, 1,1-бис(4-метоксифенил)-1'-пиренилметил, 9-антрил, 9-(9-фенил)ксантенил, 9-(9-фенил-10-оксо)антрил, 1,3-бензодитиолан-2-ил, бензизотиазолил-S,S-диоксид, триметилсилил (TMS), триэтилсилил (TES), триизопропилсилил (TIPS), диметилизопропилсилил (IPDMS), диэтилизопропилсилил (DEIPS), диметилтексилсилил, трет-бутилдиметилсилил (TBDMS), трет-бутилдифенилсилил (TBDPS), трибензилсилил, три-п-ксилилсилил, трифенилсилил, дифенилметилсилил (DPMS), трет-бутилметоксифенилсилил (TBMPS), формиат, бензоилформиат, ацетат, хлорацетат, дихлорацетат, трихлорацетат, трифторацетат, метоксиацетат, трифенилметоксиацетат, феноксиацетат, п-хлорфеноксиацетат, 3-фенилпропионат, 4-оксопентаноат (левулинат), 4,4-(этилендитио)пентаноат (левулиноилдитиоацеталь), пивалоат, адамантоат, кротонат, 4-метоксикротонат, бензоат, п-фенилбензоат, 2,4,6-триметилбензоат (мезитоат), алкилметилкарбонат, 9-флуоренилметилкарбонат (Fmoc), алкилэтилкарбонат, алкил-2,2,2-трихлорэтилкарбонат (Troc), 2-(триметилсилил)этилкарбонат (TMSEC), 2-(фенилсульфонил)этилкарбонат (Psec), 2-(трифенилфосфоний)этилкарбонат (Peoc), алкилизобутилкарбонат, алкилвинилкарбонат, алкилаллилкарбонат, алкил-п-нитрофенилкарбонат, алкилбензилкарбонат, алкил-п-метоксибензилкарбонат, алкил-3,4-диметоксибензилкарбонат, алкил-орто-нитробензилкарбонат, алкил-п-нитробензилкарбонат, алкил-S-бензилтиокарбонат, 4-этокси-1-нафтилкарбонат, метилдитиокарбонат, 2-йодбензоат, 4-азидобутират, 4-нитро-4-метилпентаноат, орто-(дибромметил)бензоат, 2-формилбензолсульфонат, 2-(метилтиометокси)этил, 4-(метилтиометокси)бутират, 2-(метилтиометоксиметил)бензоат, 2,6-дихлор-4-метилфеноксиацетат, 2,6-дихлор-4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)феноксиацетат, 2,4-бис(1,1-диметилпропил)феноксиацетат, хлордифенилацетат, изобутират, моносукциноат, (E)-2-метил-2-бутеноат, орто-(метоксикарбонил)бензоат, α-нафтоат, нитрат, алкил-N,N,N',N'-тетраметилфосфородиамидат, алкил-N-фенилкарбамаат, борат, диметилфосфинотиоил, алкил-2,4-динитрофенилсульфенат, сульфат, метансульфонат (месилат), бензилсульфонат и тозилат (Ts). Для защиты 1,2- или 1,3-диолюв защитные группы включают метиленацеталь, этилиденацеталь, 1-трет-бутилэтилиденкеталь, 1-фенилэтилиденкеталь,

(4-метоксифенил)этилиденацеталь, 2,2,2-трихлорэтилиденацеталь, ацетонид, циклопентилиденкеталь, циклогексилиденкеталь, циклогептилиденкеталь, бензилиденацеталь, п-метоксибензилиденацеталь, 2,4-диметоксибензилиденкеталь, 3,4-диметоксибензилиденацеталь, 2-нитробензилиденацеталь, метоксиметиленациеталь, этоксиметиленациеталь, сложный ортоэфир диметоксиметилена, сложный ортоэфир 1-метоксиэтилидена, сложный ортоэфир 1-этоксиэтилидена, сложный ортоэфир 1,2-диметоксиэтилидена, сложный ортоэфир α -метоксибензилидена, производное 1-(N,N-диметиламино)этилидена, производное α -(N,N'-диметиламино)бензилидена, сложный ортоэфир 2-оксациклопентилидена, ди-трет-бутилсилиленовую группу (DTBS), производное 1,3-(1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксанилидена) (TIPDS), производное тетра-трет-бутоксидисилоксан-1,3-диилидена (TBDS), циклические карбонаты, циклические боронаты, этилборонат и фенилборонат.

В определенных вариантах осуществления защитная группа для гидроксила представляет собой ацетил, трет-бутил, трет-бутоксиметил, метоксиметил, тетрагидропиранил, 1-этоксиэтил, 1-(2-хлорэтокси)этил, 2-триметилсилилэтил, п-хлорфенил, 2,4-динитрофенил, бензил, бензоил, п-фенилбензоил, 2,6-дихлорбензил, дифенилметил, п-нитробензил, трифенилметил (тритил), 4,4'-диметокситритил, триметилсилил, триэтилсилил, трет-бутилдиметилсилил, трет-бутилдифенилсилил, трифенилсилил, триизопропилсилил, бензоилформиат, хлорацетил, трихлорацетил, трифторацетил, пивалоил, 9-флуоренилметилкарбонат, мезилат, тозилат, трифлат, тритил, монометокситритил (MMTr), 4,4'-диметокситритил (DMTr) и 4,4',4''-триметокситритил (TMTr), 2-цианоэтил (CE или Cne), 2-(триметилсилил)этил (TSE), 2-(2-нитрофенил)этил, 2-(4-цианофенил)этил, 2-(4-нитрофенил)этил (NPE), 2-(4-нитрофенилсульфонил)этил, 3,5-дихлорфенил, 2,4-диметилфенил, 2-нитрофенил, 4-нитрофенил, 2,4,6-триметилфенил, 2-(2-нитрофенил)этил, бутилтиокарбонил, 4,4',4''-трис(бензоилокси)тритил, дифенилкарбамоил, левулинил, 2-(дибромометил)бензоил (Dbmb), 2-(изопропилтио метоксиметил)бензоил (Ptmt), 9-фенилксантен-9-ил (пиксил) или 9-(п-метоксифенил)ксантин-9-ил (MOX). В определенных вариантах осуществления каждая из защитных групп для гидроксила независимо выбрана из ацетила, бензила, трет-бутилдиметилсилила, трет-бутилдифенилсилила и 4,4'-диметокситритила. В определенных вариантах осуществления защитная группа для гидроксила выбрана из группы, состоящей из тритильной, монометокситритильной и 4,4'-диметокситритильной группы. В определенных вариантах осуществления защитная группа для атома фосфора в составе связи представляет собой группу, присоединенную к атому фосфора в составе связи (например, межнуклеотидной связи) благодаря олигонуклеотидному синтезу. В определенных вариантах осуществления

защитная группа присоединена к атому серы в фосфотиоатной группе. В определенных вариантах осуществления защитная группа присоединена к атому кислорода в межнуклеотидной фосфотиоатной связи. В определенных вариантах осуществления защитная группа присоединена к атому кислорода в межнуклеотидной фосфатной связи. В определенных вариантах осуществления защитная группа представляет собой 2-цианоэтил (CE или Cne), 2-триметилсилилэтил, 2-нитроэтил, 2-сульфонилэтил, метил, бензил, о-нитробензил, 2-(п-нитрофенил)этил (NPE или Npe), 2-фенилэтил, 3-(N-трет-бутилкарбоксамидо)-1-пропил, 4-оксопентил, 4-метилтио-1-бутил, 2-циано-1,1-диметилэтил, 4-N-метиламинобутил, 3-(2-пиридил)-1-пропил, 2-[N-метил-N-(2-пиридил)]аминоэтил, 2-(N-формил-N-метил)аминоэтил или 4-[N-метил-N-(2,2,2-трифторацетил)амино]бутил.

Субъект. Используемый в данном документе термин "субъект" или "тестируемый субъект" относится к любому организму, которому соединение (например, олигонуклеотид) или композицию вводят в соответствии с настоящим изобретением, например, в экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целях. Типичные субъекты включают животных (например, млекопитающих, таких как мыши, крысы, кролики, отличные от человека приматы и люди; насекомых, червей и т. д.) и растения. В определенных вариантах осуществления субъектом является человек. В определенных вариантах осуществления субъект может страдать заболеванием, нарушением и/или состоянием и/или быть предрасположенным к нему.

По сути. Используемый в данном документе термин "по сути" относится к количественному состоянию проявления полной или практически полной степени или меры представляющих интерес характеристики или свойства. Последовательность оснований, которая по сути идентична или комплементарна второй последовательности, не является идентичной или комплементарной второй последовательности, но является в значительной степени или почти идентичной или комплементарной второй последовательности. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид с последовательностью, по сути комплементарной другому олигонуклеотиду или нуклеиновой кислоте, образует дуплекс с олигонуклеотидом или нуклеиновой кислотой аналогично олигонуклеотиду с полностью комплементарной последовательностью. Кроме того, среднему специалисту в области биологии и/или химии будет понятно, что биологические и химические явления редко, если это вообще когда-либо происходит, доходят до завершения и/или протекают до завершенности или достигают или избегают абсолютного результата. Следовательно термин "по сути" используется в данном документе для обозначения потенциального отсутствия завершенности, присущего многим

биологическим и/или химическим явлениям.

Сахар. Термин "сахар" относится к моносахариду или полисахариду в замкнутой и/или открытой форме. В определенных вариантах осуществления сахара представляют собой моносахариды. В определенных вариантах осуществления сахара представляют собой полисахариды. Сахара включают без ограничений рибозный, дезоксирибозный, пентофуранозный, пентопиранозный и гексопиранозный фрагменты. Используемый в данном документе термин "сахар" также охватывает структурные аналоги, используемые вместо традиционных молекул сахаров, такие как гликоль, полимер которого образует остов аналога нуклеиновой кислоты, – гликолевую нуклеиновую кислоту ("GNA") и т. д. Используемый в данном документе термин "сахар" также охватывает структурные аналоги, используемые вместо природных или встречающихся в природе нуклеотидов, такие как модифицированные сахара и нуклеотидные сахара. В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой сахар РНК или ДНК (рибозу или дезоксирибозу). В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой модифицированный рибозный или дезоксирибозный сахар, например 2'-модифицированный, 5'-модифицированный и т. д. Как описано в данном документе, в определенных вариантах осуществления при использовании в олигонуклеотидах и/или нуклеиновых кислотах модифицированные сахара могут обеспечивать одно или несколько необходимых свойств, видов активности и т. д. В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой необязательно замещенную рибозу или дезоксирибозу. В определенных вариантах осуществления "сахар" относится к сахарному звену в олигонуклеотиде или нуклеиновой кислоте.

Восприимчивый к. Индивидуум, который является "восприимчивым" к заболеванию, нарушению и/или состоянию, представляет собой индивидуума, у которого имеется более высокий риск развития заболевания, нарушения и/или состояния, чем у представителя основной части населения. В определенных вариантах осуществления индивидуум, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, предрасположен к наличию данного заболевания, нарушения и/или состояния. В определенных вариантах осуществления у индивидуума, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, заболевание, нарушение и/или состояние может не быть диагностировано. В определенных вариантах осуществления у индивидуума, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, могут проявляться симптомы заболевания, нарушения и/или состояния. В определенных вариантах осуществления у индивидуума, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, могут не проявляться симптомы заболевания,

нарушения и/или состояния. В определенных вариантах осуществления у индивидуума, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, будет развиваться заболевание, нарушение и/или состояние. В определенных вариантах осуществления у индивидуума, который является восприимчивым к заболеванию, нарушению и/или состоянию, не будет развиваться заболевание, нарушение и/или состояние.

Терапевтическое средство. Используемый в данном документе термин "терапевтическое средство" в целом относится к любому средству, которое вызывает требуемый эффект (например, требуемый биологический, клинический или фармакологический эффект) при введении субъекту. В определенных вариантах осуществления средство, например dsRNAi-средство, считается терапевтическим средством, если оно демонстрирует статистически значимый эффект в пределах соответствующей группы. В определенных вариантах осуществления соответствующая группа представляет собой группу субъектов, страдающих от заболевания, нарушения или состояния и/или восприимчивых к нему. В определенных вариантах осуществления соответствующая группа представляет собой группу модельных организмов. В определенных вариантах осуществления соответствующую группу можно определять по одному или нескольким критериям, таким как возрастная группа, пол, генетическое окружение, существовавшие ранее клинические состояния, проводимая ранее терапия. В определенных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой вещество, которое облегчает, уменьшает интенсивность, ослабляет, подавляет, предупреждает, задерживает начало проявления, уменьшает тяжесть и/или уменьшает частоту возникновения одного или нескольких относящихся к печени симптомов или признаков заболевания, нарушения и/или состояния у субъекта при введении субъекту в эффективном количестве. В определенных вариантах осуществления "терапевтическое средство" представляет собой средство, которое получило одобрение или для которого требуется получение одобрения государственного органа, прежде чем оно может поступить на рынок для применения у человека. В определенных вариантах осуществления "терапевтическое средство" представляет собой средство, для которого требуется рецепт врача при применении у человека. В определенных вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой представленное соединение, например представленный олигонуклеотид.

Терапевтически эффективное количество. Используемый в данном документе термин "терапевтически эффективное количество" означает количество вещества (например, терапевтического средства, композиции и/или состава), которое вызывает требуемый биологический ответ при введении в качестве части схемы терапии. В определенных

вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вещества представляет собой количество, которое при введении субъекту, страдающему от заболевания, нарушения и/или состояния или восприимчивому к ним, является достаточным для лечения, диагностики, предупреждения и/или задержки начала проявления заболевания, нарушения и/или состояния. Специалистам средней квалификации в данной области техники будет понятно, что эффективное количество вещества может варьироваться в зависимости от таких факторов, как требуемая биологическая конечная точка, вещество, подлежащее доставке, клетка- или ткань-мишень и т. д. Например, эффективное количество соединения в составе для лечения заболевания, нарушения и/или состояния представляет собой количество, которое облегчает, уменьшает интенсивность, ослабляет, подавляет, предупреждает, задерживает начало проявления, уменьшает тяжесть и/или уменьшает частоту возникновения одного или нескольких симптомов или признаков заболевания, нарушения и/или состояния. В определенных вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вводят в однократной дозе; в определенных вариантах осуществления для доставки терапевтически эффективного количества требуется несколько стандартных доз.

Лечить. Используемые в данном документе термины "лечить," "лечение" или "проведение лечения" относятся к любому способу, применяемому для частичного или полного облегчения, уменьшения интенсивности, ослабления, подавления, предупреждения, задержки начала проявления, уменьшения тяжести и/или уменьшения частоты возникновения одного или нескольких симптомов или признаков заболевания, нарушения и/или состояния. Лечение может применяться в отношении субъекта, у которого не проявляются признаки заболевания, нарушения и/или состояния. В определенных вариантах осуществления лечение может применяться в отношении субъекта, у которого проявляются лишь ранние признаки заболевания, нарушения и/или состояния, например, с целью уменьшения риска развития патологии, ассоциированной с заболеванием, нарушением и/или состоянием.

Ненасыщенный. Используемый в данном документе термин "ненасыщенный" означает, что фрагмент содержит одно или несколько звеньев с ненасыщенной связью.

Дикий тип. Используемый в данном документе термин "дикий тип" имеет свое понятное в данной области техники значение, которое относится к объекту, характеризующемуся структурой и/или активностью, которые обнаруживаются в природе в "нормальном" (в отличие от мутантного, болезненного, измененного и т. д.) состоянии или окружении. Средние специалисты в данной области техники будут понимать, что гены и полипептиды дикого типа зачастую существуют в нескольких различных формах (например, аллелях).

Как будет понятно специалистам в данной области, способы и композиции, описанные в данном документе, относящиеся к представленным соединениям (например, олигонуклеотидам), обычно также применимы к фармацевтически приемлемым солям таких соединений.

1. Описание определенных вариантов осуществления

Олигонуклеотиды являются полезными инструментами при множестве вариантов применения. Например, RNAi-олигонуклеотиды применимы в терапевтических, диагностических и исследовательских вариантах применения, включая лечение различных состояний, нарушений и заболеваний. Применение встречающихся в природе нуклеиновых кислот (например, немодифицированной ДНК или РНК) является ограниченным, например, вследствие их чувствительности к эндо- и экзонуклеазам. В связи с этим, для преодоления данных недостатков и/или для дальнейшего улучшения различных свойств и активности были разработаны различные синтетические аналоги. К ним относятся синтетические олигонуклеотиды, которые содержат химические модификации, например, модификации оснований, модификации сахаров, модификации остова и т. д., которые, среди прочего, делают эти молекулы менее чувствительными к разрушению и улучшают другие свойства и/или виды активности. Со структурной точки зрения модификации межнуклеотидных связей могут вносить хиральность и/или изменять заряд, и на определенные свойства олигонуклеотидов могут воздействовать конфигурации атомов фосфора в составе связи. Например, на аффинность связывания, специфическое в отношении последовательности связывание с комплементарной РНК, устойчивость к нуклеазам, расщепление нуклеиновых кислот-мишеней, доставку, фармакокинетику и т. д., может воздействовать, среди прочего, хиральность и/или заряд атомов в составе связей остова.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что композиции, содержащие ds-олигонуклеотиды (например, dsRNAi-олигонуклеотиды, также называемые dsRNAi-средствами) с контролируруемыми структурными элементами, обеспечивают неожиданные свойства и/или виды активности.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров остова, неожиданно, может поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов. В отличие от многих более ранних наблюдений о том, что некоторые структурные элементы, которые повышают стабильность, также могут понижать активность, например РНК-интерференцию, настоящее изобретение демонстрирует, что контроль стереохимии, неожиданно, может поддерживать повышенную стабильность, в то же время значительно

не уменьшая активность. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к следующему. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим одно или несколько из:

(1) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, т. е. в направлении 5';

(2) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

(3) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, где фосфотиоатные хиральные центры остова, находящиеся выше по последовательности, находятся в Rp- или Sp-конфигурации;

(4) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) +3-нуклеотид и +4-нуклеотид и (b) +5-нуклеотид и +6-нуклеотид;

(5) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации; и

б) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1);

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

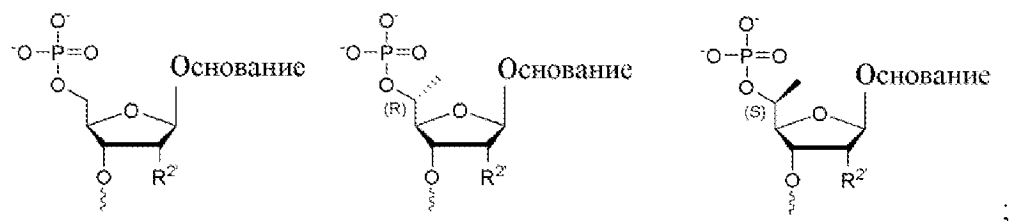
(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

где ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно

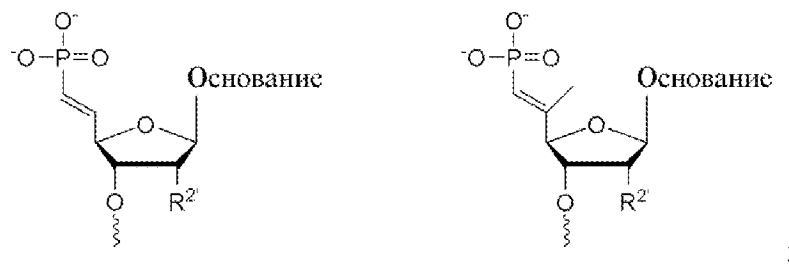
заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров, при 5'-концевой модификации направляющих нитей, неожиданно, может поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов, где направляющая нить ds-олигонуклеотида также содержит фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим направляющую нить, содержащую: (1) фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации; (2) межнуклеотидную Rp-, Sp- или стереослучайную связь, отличную от отрицательно заряженной, где 3'-нуклеотид в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, содержит 2'-модификацию, например 2'-F; и (3) 5'-концевую модификацию, выбранную из:

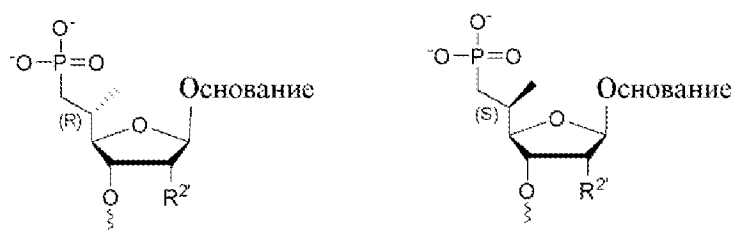
(a) модификаций 5'-PO, таких как без ограничения:



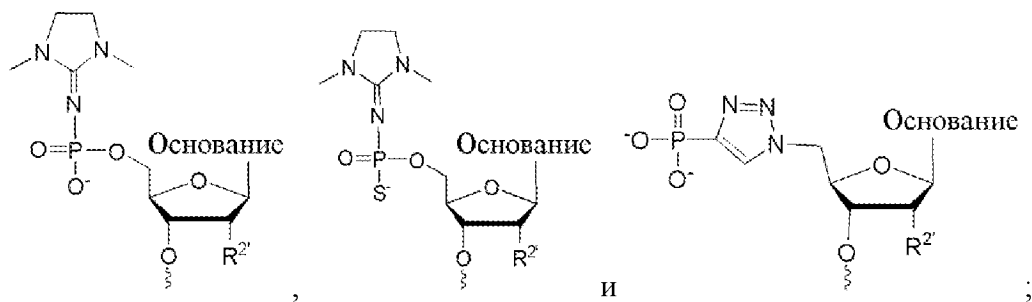
(b) модификаций 5'-VP, таких как без ограничения:



(c) модификаций 5'-MeP, таких как без ограничения:

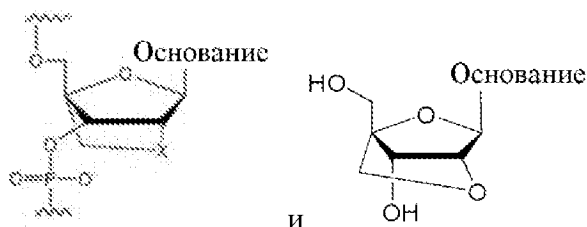


(d) модификаций 5'-PN и 5'-тризол-Р, таких как без ограничения:



где основание выбрано из А, С, G, Т, U, удаленного азотистого основания и модифицированных нуклеиновых оснований;

R^{2'} выбран из H, OH, O-алкила, F, MOE, мостиков на основе запертой нуклеиновой кислоты (LNA) и мостиков на основе мостиковой нуклеиновой кислоты (BNA) к 4'С, таких как без ограничения:

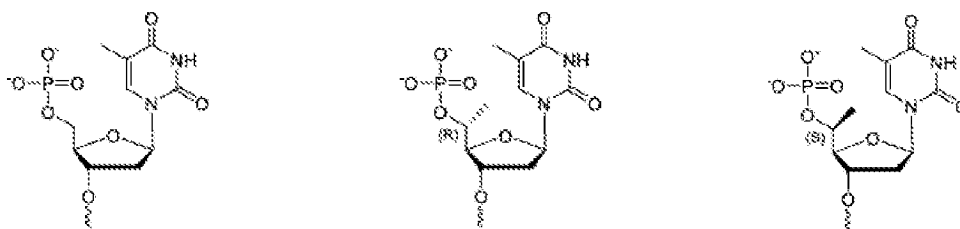


В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной.

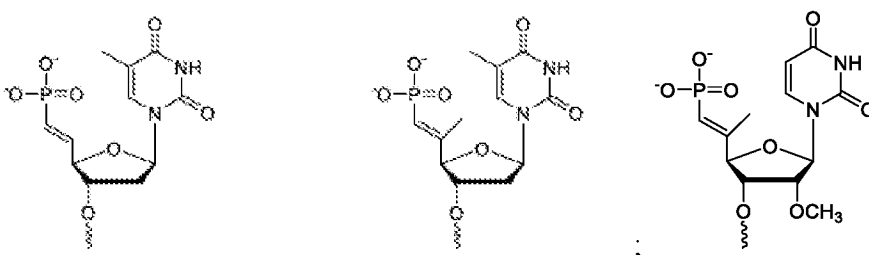
В определенных других вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что стереохимия, например стереохимия хиральных центров при 5'-концевом нуклеотиде направляющих нитей, неожиданно, может поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов, где направляющая нить ds-олигонуклеотида также содержит фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к ds-олигонуклеотидам, содержащим направляющую нить, содержащую: (1) фосфотиоатный хиральный центр в Rp- или Sp-конфигурации; (2) межнуклеотидную Rp-, Sp- или стереослучайную связь, отличную от отрицательно заряженной, где 3'-нуклеотид в паре нуклеотидов, связанных

межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, содержит 2'-модификацию, например 2'-F; и (3) 5'-концевую модификацию, выбранную из:

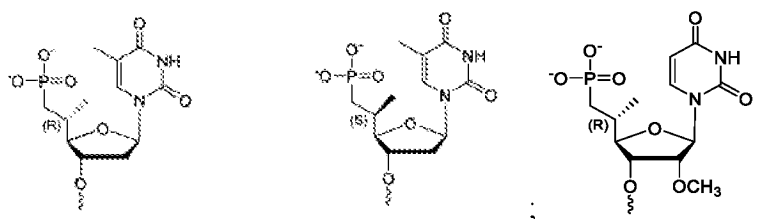
(a) нуклеотидов 5'-PO, таких как без ограничения:



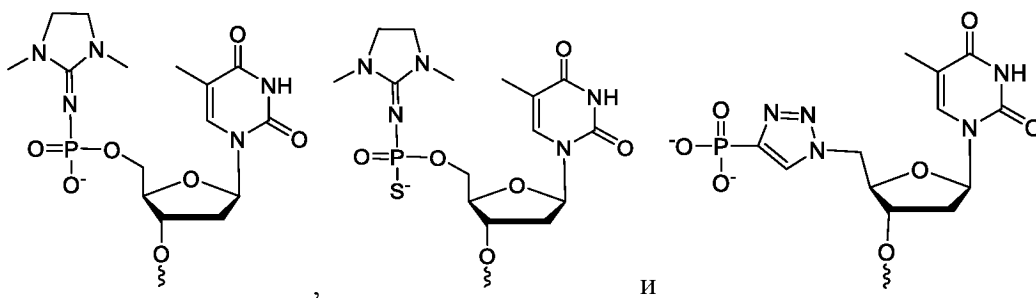
(b) нуклеотидов 5'-VP, таких как без ограничения:



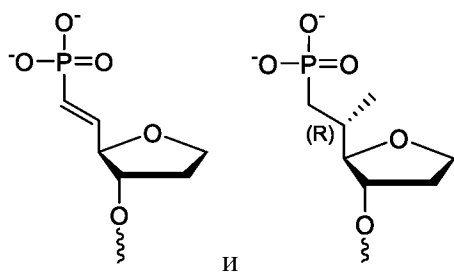
(c) нуклеотидов 5'-MeP, таких как без ограничения:



(d) нуклеотидов 5'-PN и 5'-тризол-Р, таких как без ограничения:



(e) нуклеотидов 5'-VP с удаленным азотистым основанием и 5'-MeP с удаленным азотистым основанием, таких как без ограничения:



В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что Rp-, Sp- или стереослучайные не встречающиеся в природе межнуклеотидные связи, например, нейтральные межнуклеотидные связи, неожиданно, могут поддерживать или улучшать свойства ds-олигонуклеотидов. Например, настоящее изобретение демонстрирует, что модифицированные межнуклеотидные связи могут быть введены в ds-олигонуклеотид без значительного уменьшения активности ds-олигонуклеотида. Например, без ограничения настоящее изобретение частично относится к содержащим одно или несколько из:

(1) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, т. е. в направлении 5';

(2) направляющей нити, содержащей фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

(3) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, где фосфотиоатные хиральные центры остова, находящиеся выше по последовательности, находятся в Rp- или Sp-конфигурации;

(4) направляющей нити, содержащей один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) +3-нуклеотид и +4-нуклеотид и (b) +5-нуклеотид и +6-нуклеотид;

(5) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации; и

б) сопровождающей нити в комбинации с одной или несколькими из вышеуказанных направляющих нитей, содержащих фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', и между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1);

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити;

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

где ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает признание того, что не встречающиеся в природе межнуклеотидные связи, например нейтральные межнуклеотидные связи, в определенных вариантах осуществления могут быть применимы для связывания одной или нескольких молекул с двухнитевыми олигонуклеотидами, описанными в данном документе. В определенных вариантах осуществления такие связанные молекулы могут способствовать нацеливанию и/или доставке двухнитевого олигонуклеотида. Например, без ограничения такие связанные молекулы могут включать липофильные молекулы. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой молекулу, содержащую один или несколько фрагментов GalNac. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой рецептор. В определенных вариантах осуществления связанная молекула представляет собой лиганд рецептора.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлены технологии (например, соединения, способы и т. д.) для улучшения стабильности

олигонуклеотида при одновременном поддержании или повышении активности, включая композиции на основе олигонуклеотидов с улучшенной стабильностью.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены технологии включения различных дополнительных химических фрагментов в состав ds-олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены, например, реагенты и способы для введения дополнительных химических фрагментов посредством нуклеиновых оснований (например, с помощью ковалентной связи, необязательно с помощью линкера, в сайт на нуклеиновом основании).

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены технологии, например композиции на основе ds-олигонуклеотидов и способы, связанные с ними, с помощью которых достигается аллель-специфическое подавление, где обеспечивается селективный нокдаун транскриптов, полученных из одного аллеля конкретного гена-мишени, относительно по меньшей мере одного другого аллеля того же гена.

Среди прочего, в настоящем изобретении представлены структурные элементы, технологии и/или признаки, которые могут быть включены в ds-олигонуклеотиды и могут придавать им одно или несколько их свойств или настраивать их (например, по сравнению с другим идентичным ds-олигонуклеотидом, у которого отсутствует соответствующая технология или признак). В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении записано, что одно или несколько из представленных технологий и/или признаков могут с пользой быть включены в состав ds-олигонуклеотидов с разными последовательностями.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что определенные представленные структурные элементы, технологии и/или признаки особенно применимы для ds-олигонуклеотидов, которые участвуют в механизмах RNAi и/или направляют их (например, средства для RNAi). Однако, несмотря на это, идеи настоящего изобретения не ограничены ds-олигонуклеотидами, которые участвуют в любом конкретном механизме или действуют посредством него.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к любому ds-олигонуклеотиду, применимому для любой цели, который действует посредством любого механизма и который содержит любую последовательность, структуру или формат (или их часть), описанные в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, применимый для любой цели, который действует посредством любого механизма и который содержит любую последовательность, структуру или формат (или их

часть), описанные в данном документе, в определенных вариантах осуществления включающий направляющую нить, содержащую фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и

сопровождающая нить содержит 0- n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

- (1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;
- (2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-п межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где п составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации

между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

- (1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;
- (2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;
- (3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;
- (4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и
- (5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp-

или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между вторым нуклеотидом (+2) и третьим нуклеотидом (+3) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити, и межнуклеотидную связь с предпоследним 3'-нуклеотидом (N-1), и при этом предусматривается одно или несколько из:

- (1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;
- (2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;
- (3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити

и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько

межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

- (1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;
- (2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;
- (3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и при этом предусматривается одно или несколько из:

(1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от

отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;

(2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

(3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;

(4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных

вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между нуклеотидом (+2) и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) нуклеотид (+3) и нуклеотид (+4) и (b) нуклеотид (+5) и нуклеотид (+6), и при этом предусматривается одно или несколько из:

- (1) направляющей нити, где нуклеотиды в одном или обоих из 5'- и 3'-концевых динуклеотидов *не* связаны межнуклеотидными связями, отличными от отрицательно заряженных, т. е. направляющая нить содержит еще одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно связи между нуклеотидами в 5'-концевом динуклеотиде и/или выше по последовательности, т. е. в направлении 5', относительно связи между нуклеотидами в 3'-концевом динуклеотиде;
- (2) направляющей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;
- (3) направляющей нити, где межнуклеотидная Rp-, Sp- или стереослучайная связь, отличная от отрицательно заряженной, находится между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити и/или между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами относительно 5'-концевого нуклеотида;
- (4) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся выше по

последовательности, т. е. в направлении 5', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити; и

(5) сопровождающей нити, где одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находятся ниже по последовательности, т. е. в направлении 3', относительно центрального нуклеотида сопровождающей нити, и

при этом ds-олигонуклеотид дополнительно содержит 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр

остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей или сопровождающей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно

заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до

предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, 2'-модификацию, например модификацию 2'-F, 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, включенных в состав направляющей нити, представляют собой межнуклеотидную Rp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой межнуклеотидную Sp-связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, представляют собой стереослучайную межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления сопровождающая нить содержит фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотид содержит последовательность, которая является полностью или по сути идентичной или является полностью или по сути комплементарной 10 или больше (например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше) смежным основаниям геномной последовательности-мишени или транскрипта, из нее получаемого (например, мРНК (например, пре-мРНК, мРНК после сплайсинга и т. д.)). В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотид содержит последовательность, которая является полностью комплементарной 10 или больше (например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше) смежным основаниям транскрипта, являющегося мишенью. В определенных вариантах осуществления количество смежных оснований составляет приблизительно 15-20. В определенных вариантах осуществления количество смежных оснований составляет приблизительно 20. В определенных вариантах осуществления представлен RNAi-олигонуклеотид, который может гибридизироваться с транскриптом-мишенью, являющимся мишенью (например,

пре-мРНК, РНК и т. д.), и может обеспечивать снижение уровня транскрипта, являющегося мишенью, и/или белка, кодируемого транскриптом, являющимся мишенью.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, раскрытый в данном документе, например в таблице 1. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, имеющий последовательность оснований, раскрытую в данном документе, например в таблице 1, или ее часть, содержащую по меньшей мере 10 (например, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше) смежных оснований, где RNAi-олигонуклеотид характеризуется стереослучайностью или не характеризуется контролируемой хиральностью, и где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидные связи в составе олигонуклеотида содержат 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25, 1-30, 1-40, 1-50 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью или состоят из них. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, где dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, где dsRNAi-олигонуклеотиды характеризуются стереослучайностью или не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления в олигонуклеотиде dsRNAi по меньшей мере одна межнуклеотидная связь характеризуется стереослучайностью и по меньшей мере одна межнуклеотидная связь характеризуется контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидные связи в составе олигонуклеотида содержат одну или несколько нейтрально заряженных межнуклеотидных связей или состоят из них.

1.1. Двухнитевые олигонуклеотиды

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены олигонуклеотиды различной конструкции, которые могут содержать различные нуклеиновые основания и их паттерны, сахара и их паттерны, межнуклеотидные связи и их паттерны и/или дополнительные химические фрагменты и их паттерны, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления представленные dsRNAi-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии, уровня и/или активности гена и/или одного или нескольких из его продуктов (например, транскриптов,

мРНК, белков и т. д.). В определенных вариантах осуществления представленные dsRNAi-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии, уровня и/или активности гена и/или одного или нескольких из его продуктов в клетке субъекта или пациента. В определенных вариантах осуществления клетка в норме экспрессирует или продуцирует белок. В определенных вариантах осуществления представленные dsRNAi-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или генного продукта и имеют последовательность оснований, которая состоит из последовательности оснований dsRNAi-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, содержит ее или содержит ее часть (например, участок из 1-5, 1-10, 1-15, 1-20, 1-25, 1-30, 1-40, 1-50 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше смежных оснований), где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот, и ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну не встречающуюся в природе модификацию основания, сахара и/или межнуклеотидной связи.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени, например гена-мишени, или его продукта. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии и/или уровня гена-мишени или его генного продукта. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение уровней продуктов-мишеней. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид может обеспечивать снижение уровней транскриптов генов-мишеней. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид может обеспечивать снижение уровней мРНК генов-мишеней. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид может обеспечивать снижение уровней белков, кодируемых генами-мишенями. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии и/или уровня гена-мишени или его генного продукта посредством РНК-интерференции. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии и/или уровня гена-мишени или его генного продукта посредством биохимического механизма, который не вовлекает РНК-интерференцию или RISC (включая без ограничения опосредованный РНКазой II нокдаун или стерическое затруднение экспрессии гена). В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии и/или уровня гена-мишени или его генного продукта посредством РНК-интерференции и/или опосредованного РНКазой II нокдауна. В определенных вариантах осуществления представленные ds-

олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии и/или уровня гена-мишени или его генного продукта путем стерического блокирования трансляции после связывания с мРНК гена-мишени и/или путем изменения или препятствования сплайсингу мРНК и/или включению и или исключению экзонов. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды предусматривают один или несколько структурных элементов, описанных в данном документе или известных из уровня техники, в соответствии с настоящим изобретением, например, последовательности оснований; модификации; стереохимию; паттерны межнуклеотидных связей; варианты содержания GC; длинные отрезки GC; паттерны связи в остове; паттерны хиральных центров остова; паттерны модификаций атомов фосфора в составе остова; дополнительные химический фрагменты, включающие без ограничения один или несколько нацеливающих фрагментов, липидных фрагментов и/или углеводных фрагментов и т. д.; затравочные области; постзатравочные области; 5'-концевые структуры; 5'-концевые области; нуклеотидные 5'-фрагменты; 3'-концевые области; 3'-концевые динуклеотиды; 3'-концевые кэпы и т. д. В определенных вариантах осуществления затравочная область олигонуклеотида представляет собой или содержит второй - восьмой, второй - седьмой, второй - шестой, третий - восьмой, третий - седьмой, третий - седьмой, или четвертый - восьмой, или четвертый - седьмой нуклеотиды, отсчитывая с 5'-конца; и постзатравочная область олигонуклеотида представляет собой область, находящуюся непосредственно за затравочной областью в направлении 3' и размещающуюся между затравочной областью и 3'-концевой областью. В определенных вариантах осуществления представленная композиция содержит ds-олигонуклеотид. В определенных вариантах осуществления представленная композиция содержит один или несколько липидных фрагментов, один или несколько углеводных фрагментов (если не указано иное, отличных от сахарных фрагментов в нуклеозидных звеньях, которые образуют олигонуклеотидную цепь с помощью межнуклеотидных связей) и/или один или несколько нацеливающих компонентов. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды могут направлять уменьшение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или его продукта путем стерического блокирования трансляции после связывания с мРНК гена-мишени и/или путем изменения или препятствования сплайсингу мРНК. Однако, так или иначе, настоящее изобретение не ограничивается каким-либо конкретным механизмом. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды, композиции, способы и т. д., способные действовать посредством интерференции на основе двухнитевой РНК, интерференции на основе однонитевой РНК,

нокдауна, опосредованного РНКазой H, стерического затруднения трансляции или комбинации двух или больше таких механизмов.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид содержит структурный элемент или его часть, описанные в данном документе, например в таблице 1. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид содержит последовательность оснований (или ее часть), описанную в данном документе, где каждый T может быть независимо замещен на U и наоборот, химическую модификацию или паттерн химических модификаций (или его часть) и/или формат или его часть, описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид имеет последовательность оснований, которая содержит последовательность оснований (или ее часть), где каждый T может быть независимо замещен на U, паттерн химических модификаций (или его часть) и/или формат олигонуклеотида, раскрытый в данном документе, например в таблице 1, или иным образом раскрытый в данном документе. В определенных вариантах осуществления такие ds-олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, обеспечивают снижение экспрессии, уровня и/или активности гена, например гена или его генного продукта.

Среди прочего, dsRNAi-олигонуклеотиды могут гибридизироваться со своими нуклеиновыми кислотами-мишенями (например, пре-мРНК, зрелой мРНК и т. д.). Например, в определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с нуклеиновой кислотой, полученной из нити ДНК (любой из двух нитей гена). В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с транскриптом. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с нуклеиновой кислотой-мишенью на любой стадии процессинга РНК, в том числе без ограничения с пре-мРНК или зрелой мРНК. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с любым элементом нуклеиновой кислоты-мишени или ее комплементарной последовательности, включая без ограничения промоторную область, энхансерную область, область остановки транскрипции, сигнал начала трансляции, сигнал остановки трансляции, кодирующую область, некодирующую область, экзон, интрон, границу интрон/экзон или экзон/интрон, 5'-UTR или 3'-UTR. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды могут гибридизироваться со своими мишенями при наличии не более чем 2 ошибок спаривания. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды могут гибридизироваться со своими мишенями при наличии не более чем одной ошибки спаривания. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-

олигонуклеотиды могут гибридизироваться со своими мишенями при отсутствии ошибок спаривания (например, при спаривании всех оснований С-Г и/или А-Т/У).

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид может гибридизироваться с двумя или больше вариантами транскриптов. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с двумя или больше или со всеми вариантами транскрипта. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид может гибридизироваться с двумя или больше или всеми вариантами транскрипта, полученными из смысловой нити.

В определенных вариантах осуществления мишень dsRNAi-олигонуклеотида представляет собой РНК, которая не является мРНК.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, содержат повышенные уровни одного или нескольких изотопов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, мечены, например, одним или несколькими изотопами одного или нескольких элементов, например водорода, углерода, азота и т. д. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, в представленных композициях, например ds-олигонуклеотиды из совокупности в композиции, содержат модификации оснований, модификации сахаров и/или модификации межнуклеотидных связей, при этом ds-олигонуклеотиды содержат повышенный уровень дейтерия. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, например RNAi-олигонуклеотиды, мечены дейтерием (с заменой ^{-1}H на ^{-2}H) в одном или нескольких положениях. В определенных вариантах осуществления один или несколько ^1H в цепи ds-олигонуклеотида или любом фрагменте, конъюгированном с цепью ds-олигонуклеотида (например, нацеливающим фрагменте и т. д.) замещены на ^2H . Такие ds-олигонуклеотиды могут применяться в композициях и способах, описанных в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов, содержащая совокупность ds-олигонуклеотидов, которые:

- 1) имеют общую последовательность оснований, комплементарную последовательности-мишени (например, последовательности-мишени) в транскрипте; и
- 2) содержат один или несколько модифицированных сахарных фрагментов и/или одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды, имеющие общую последовательность оснований, могут иметь одинаковый паттерн модификаций нуклеозидов, например модификаций сахаров, модификаций оснований и т. д. В

определенных вариантах осуществления паттерн модификаций нуклеозидов может быть представлен комбинацией местоположений и модификаций. В определенных вариантах осуществления паттерн связей в остове содержит местоположения и типы (например, фосфатная, фосфотиоатная, замещенная фосфотиоатная и т. д.) каждой межнуклеотидной связи.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности, например, в представленных композициях, принадлежат к одинаковому типу ds-олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций сахаров. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций оснований. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов характеризуются одинаковым составом. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов являются идентичными. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности являются идентичными. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются одинаковым составом.

В определенных вариантах осуществления, приведенных в качестве примера в данном документе, dsRNAi-олигонуклеотиды характеризуются контролируемой хиральностью, при этом они содержат одну или несколько межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды являются стереохимически чистыми. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды являются по сути отделенными от других стереоизомеров.

В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотиды содержат одно или несколько модифицированных нуклеиновых оснований, один или несколько модифицированных сахаров и/или одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат один или несколько модифицированных сахаров. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат одно или несколько модифицированных нуклеиновых оснований. В соответствии с настоящим изобретением в сахар и/или нуклеиновое основание могут быть введены различные модификации. Например, в определенных вариантах осуществления модификация представляет собой

модификацию, описанную в US 9006198. В определенных вариантах осуществления модификация представляет собой модификацию, описанную в 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 и/или WO 2019/032612, при этом модификации сахаров, оснований и межнуклеотидных связей из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

Используемый в настоящем изобретении в определенных вариантах осуществления термин "один или несколько" означает 1-200, 1-150, 1-100, 1-90, 1-80, 1-70, 1-60, 1-50, 1-40, 1-30 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает один. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает два. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает три. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает четыре. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает пять. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает шесть. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает семь. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает восемь. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает девять. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает десять. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере один. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере два. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере три. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере четыре. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере пять. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере шесть. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере семь. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере восемь. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере девять. В определенных вариантах осуществления "один или несколько" означает по меньшей мере десять.

Используемый в настоящем изобретении в определенных вариантах осуществления термин "по меньшей мере один" означает 1-200, 1-150, 1-100, 1-90, 1-80, 1-70, 1-60, 1-50, 1-

40, 1-30 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает один. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает два. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает три. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает четыре. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает пять. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает шесть. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает семь. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает восемь. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает девять. В определенных вариантах осуществления "по меньшей мере один" означает десять.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид представляет собой или содержит dsRNAi-олигонуклеотид, описанный в таблице 1.

Как продемонстрировано в настоящем изобретении, в определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид (например, dsRNAi-олигонуклеотид) характеризуется тем, что при приведении его в контакт с транскриптом в системе нокдауна происходит нокдаун его мишени (например, транскрипта олигонуклеотида-мишени).

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде солевых форм. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде солей, содержащих отрицательно заряженные межнуклеотидные связи (например, фосфотиоатные межнуклеотидные связи, природные фосфатные связи и т. д.), существующие в виде их солевых форм. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде фармацевтически приемлемых солей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде солей металлов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде натриевых солей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды представлены в виде солей металлов, например, натриевых солей, где каждая отрицательно заряженная межнуклеотидная связь независимо представлена в солевой форме (например, для натриевых солей $-O-P(O)(SNa)-O-$ в случае фосфотиоатной межнуклеотидной связи, $-O-P(O)(ONa)-O-$ в случае природной фосфатной связи и т. д.).

1.2. Области двухнитевых олигонуклеотидов

1.2.1. Последовательности оснований

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид содержит последовательность оснований, описанную в данном документе, или ее часть (например, участок из 5-50, 5-40, 5-30, 5-20, или 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21,

22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 20, или по меньшей мере 10, по меньшей мере 15 смежных нуклеиновых оснований) с 0-5 (например, 0, 1, 2, 3, 4 или 5) ошибками спаривания, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид содержит последовательность оснований, описанную в данном документе, или ее часть, где часть представляет собой участок из по меньшей мере 10 смежных нуклеиновых оснований или участок из по меньшей мере 15 смежных нуклеиновых оснований с 1-5 ошибками спаривания. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат последовательность оснований, описанную в данном документе, или ее часть, где часть представляет собой участок из по меньшей мере 10 смежных нуклеиновых оснований или участок из по меньшей мере 10 смежных нуклеиновых оснований с 1-5 ошибками спаривания, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот. В определенных вариантах осуществления последовательности оснований ds-олигонуклеотидов содержат или состоят из 10-50 (например, приблизительно или по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 15; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 16; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 17; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 18; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 19; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 20; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 21; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 22; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 23; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 24; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 25) смежных оснований из последовательности оснований, которая является идентичной или комплементарной последовательности оснований гена или его транскрипта (например, мРНК).

Последовательности оснований направляющей нити dsRNAi-олигонуклеотидов, как понятно специалистам в данной области техники, как правило, характеризуются достаточными длиной и комплементарностью с их мишенями, например РНК-транскриптами (например, пре-мРНК, зрелой мРНК и т. д.) для опосредования мишень-специфического нокдауна. В определенных вариантах осуществления последовательность оснований направляющей нити dsRNAi-олигонуклеотида характеризуется достаточной длиной и идентичностью с транскриптом-мишенью для опосредования мишень-специфического нокдауна. В определенных вариантах осуществления направляющая нить dsRNAi-олигонуклеотида является комплементарной части транскрипта (последовательности-мишени транскрипта). В определенных вариантах осуществления

последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида характеризуется 90% или большей идентичностью с последовательностью оснований ds-олигонуклеотида, раскрытого в таблице 1, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот. В определенных вариантах осуществления последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида характеризуется 95% или большей идентичностью с последовательностью оснований олигонуклеотида, раскрытого в таблице 1, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот. В определенных вариантах осуществления последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит непрерывный участок из 15 или больше оснований олигонуклеотида, раскрытого в таблице 1, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот, за исключением того, что одно или несколько оснований в пределах участка удалены (например, нуклеиновое основание в нуклеотиде отсутствует). В определенных вариантах осуществления последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит непрерывный участок из 19 или больше оснований dsRNAi-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, за исключением того, что одно или несколько оснований в пределах участка удалены (например, нуклеиновое основание в нуклеотиде отсутствует). В определенных вариантах осуществления последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит непрерывный участок из 19 или больше оснований ds-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, где каждый Т может быть независимо замещен на U и наоборот, за исключением отличия в 1 или 2 основаниях на 5'-конце и/или 3'-конце последовательностей оснований.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к ds-олигонуклеотиду, имеющему последовательность оснований, которая содержит последовательность оснований любого ds-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к ds-олигонуклеотиду, имеющему последовательность оснований, которая содержит по меньшей мере 15 смежных оснований из последовательности оснований любого ds-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к ds-олигонуклеотиду, имеющему последовательность оснований, которая является на по меньшей мере 90% идентичной последовательности оснований любого ds-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к ds-олигонуклеотиду, имеющему последовательность оснований, которая является на по меньшей мере 95% идентичной последовательности оснований любого ds-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления последовательность оснований ds-олигонуклеотида представляет собой или содержит 10-20, например 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, смежных оснований из последовательности оснований любого ds-олигонуклеотида, описанного в данном документе, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид выбран из таблицы 1.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид нацеливается на два или больше или на все аллели (если в соответствующей системе существует несколько аллелей). В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид обеспечивает снижение уровней экспрессии, уровней содержания и/или уровней активности как аллеля дикого типа, так и мутантного аллеля, и/или транскриптов, и/или продуктов.

В определенных вариантах осуществления последовательности оснований представленных ds-олигонуклеотидов являются полностью комплементарными последовательностям-мишеням как человека, так и примата, отличного от человека (NHP). В определенных вариантах осуществления такие последовательности могут быть особенно применимы, так как они могут быть легко оценены в организме как человека, так и приматов, отличных от человека.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид содержит последовательность оснований или ее часть, описанные в таблице 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот, и/или модификацию сахара, нуклеинового основания и/или межнуклеотидной связи, и/или их паттерн, описанные в таблице 1, и/или дополнительный химический фрагмент (в дополнение к олигонуклеотидной цепи, например, фрагмент для нацеливания, липидный фрагмент, углеводный фрагмент и т. д.), описанный в таблице 1.

В определенных вариантах осуществления термины "комплементарный", "полностью комплементарный" и "по сути комплементарный" могут использоваться в отношении соответствия оснований между последовательностью оснований из n ds-олигонуклеотидов (например, dsRNAi-олигонуклеотидов) и последовательностью-мишенью, как будет понятно специалистам в данной области из контекста их применения. Следует отметить,

что замена Т на U или наоборот обычно не изменяет показатель комплементарности. Используемый в данном документе ds-олигонуклеотид, который является "по сути комплементарным" последовательности-мишени, является в значительной степени или в основном комплементарным, но не на 100% комплементарным. В определенных вариантах осуществления последовательность (например, dsRNAi-олигонуклеотид), которая является по сути комплементарной, характеризуется наличием 1, 2, 3, 4 или 5 ошибок спаривания при выравнивании с ее последовательностью-мишенью. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид имеет последовательность оснований, которая является по сути комплементарной ее последовательности-мишени. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид имеет последовательность оснований, которая является по сути комплементарной последовательности, комплементарной последовательности dsRNAi-олигонуклеотида, раскрытого в данном документе. Как понятно специалистам в данной области техники, в определенных вариантах осуществления последовательности ds-олигонуклеотидов не должны быть на 100% комплементарны своим мишеням для выполнения ds-олигонуклеотидами своих функций (например, обеспечения нокдауна нуклеиновых кислот-мишеней). Как правило, при определении комплементарности А и Т (или U) являются комплементарными нуклеиновыми основаниями, и С и G являются комплементарными нуклеиновыми основаниями.

В определенных вариантах осуществления "часть" (например, последовательности оснований или паттерна модификаций) характеризуется длиной по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мономерных звеньев (например, в случае последовательности оснований длиной по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 оснований). В определенных вариантах осуществления "часть" последовательности оснований характеризуется длиной по меньшей мере 5 оснований. В определенных вариантах осуществления "часть" последовательности оснований характеризуется длиной по меньшей мере 10 оснований. В определенных вариантах осуществления "часть" последовательности оснований характеризуется длиной по меньшей мере 15 оснований. В определенных вариантах осуществления "часть" последовательности оснований характеризуется длиной по меньшей мере 16, 17, 18, 19 или 20 оснований. В определенных вариантах осуществления "часть" последовательности оснований характеризуется длиной по меньшей мере 20 оснований. В определенных вариантах осуществления часть последовательности оснований составляет 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или больше смежных (последовательных) оснований. В определенных вариантах осуществления часть последовательности оснований составляет 15 или больше смежных

(последовательных) оснований. В определенных вариантах осуществления часть последовательности оснований составляет 16, 17, 18, 19 или 20 или больше смежных (последовательных) оснований. В определенных вариантах осуществления часть последовательности оснований составляет 20 или больше смежных (последовательных) оснований.

В определенных вариантах осуществления часть представляет собой участок из по меньшей мере 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 суммарных нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления часть представляет собой участок из по меньшей мере 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 суммарных нуклеотидов с 0-3 ошибками спаривания. В определенных вариантах осуществления часть представляет собой участок из по меньшей мере 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 суммарных нуклеотидов с 0-3 ошибками спаривания, где участок с 0 ошибочных оснований является комплементарным, а участок с 1 или несколькими ошибочными основаниями представляет собой неограничивающий пример по сути комплементарности. В определенных вариантах осуществления основание предусматривает часть, характерную для нуклеиновой кислоты (например, гена) в том смысле, что часть является идентичной или комплементарной части нуклеиновой кислоты или ее транскрипта и не является идентичной или комплементарной части любой другой нуклеиновой кислоты (например, гена) или ее транскрипта в том же геноме. В определенных вариантах осуществления часть является характерной для dsRNAi человека.

В определенных вариантах осуществления представленный олигонуклеотид, например dsRNAi-олигонуклеотид, характеризуется длиной не более приблизительно 49, 45, 40, 30, 35, 25 или 23 суммарных нуклеотида, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления, где последовательность, изложенная в данном документе, начинается с U или T на 5'-конце, U может быть удален и/или заменен на другое основание.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, характеризуются стереослучайностью. В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотиды характеризуются контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления ds-RNAi-олигонуклеотид является хирально чистым (или "стереомерно чистым", "стереохимически чистым"), где ds-олигонуклеотид существует в виде единственной стереоизомерной формы (во многих случаях единственной диастереоизомерной (или "диастереомерной") формы, поскольку в ds-олигонуклеотиде может быть несколько хиральных центров, например, атом фосфора в составе связи, атом углерода в составе сахара и т. д.). Как понятно специалистам в данной области техники, хирально чистый ds-олигонуклеотид отделен от его других стереоизомерных форм (до

степени, предусматривающей наличие некоторых примесей, поскольку химические и биологические способы, уровни селективности и/или очистки и т. д. редко, если вообще когда-либо, обеспечивают достижение абсолютно полной очистки). В хирально чистом ds-олигонуклеотиде каждый хиральный центр независимо определен с точки зрения его конфигурации (для хирально чистого ds-олигонуклеотида каждая межнуклеотидная связь независимо стерически задана или характеризуется контролируемой хиральностью). В отличие от ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью или хирально чистых ds-олигонуклеотидов, которые содержат атом фосфора в составе стерически заданной связи, рацемические (или "стереослучайные", "без контролируемой хиральности") ds-олигонуклеотиды, содержащие хиральный атом фосфора в составе связи, например, полученные в результате традиционного фосфорамидитного синтеза олигонуклеотидов без стереохимического контроля в ходе стадий сочетания в комбинации с традиционным сульфированием (с созданием стереослучайных фосфотиоатных межнуклеотидных связей), относятся к случайной смеси различных стереоизомеров (как правило, диастереоизомеров (или "диастереомеров"), поскольку в ds-олигонуклеотиде существует несколько хиральных центров; например, из традиционного ds-олигонуклеотидного препарата с использованием реагентов, не содержащих хиральных элементов, отличных от таковых в нуклеозидах и атома фосфора в составе связи). Например, в случае A^*A^*A , где * представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь (которая содержит хиральный атом фосфора в составе связи), рацемический олигонуклеотидный препарат включает четыре диастереомера [$2^2 = 4$, учитывая два хиральных атома фосфора в составе связи, каждый из которых может существовать в одной из двух конфигураций (*Sp* или *Rp*)]: $A^*S A^*S A$, $A^*S A^*R A$, $A^*R A^*S A$ и $A^*R A^*R A$, где *S представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь *Sp*, а *R представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь *Rp*. В случае хирально чистого олигонуклеотида, например, $A^*S A^*S A$, он существует в единственной стереоизомерной форме, и его отделяют от других стереоизомеров (например, диастереомеров $A^*S A^*R A$, $A^*R A^*S A$ и $A^*R A^*R A$).

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше стереослучайных межнуклеотидных связей (смесь *Rp*- и *Sp*-атомов фосфора в составе связи в межнуклеотидной связи, например, полученных в результате традиционного синтеза олигонуклеотидов без контроля хиральности). В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат одну или несколько (например, 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 или больше) межнуклеотидных связей с контролируемой

хиральностью (*Rp*- или *Sp*-атомы фосфора в составе связи в межнуклеотидной связи, например, полученные в результате синтеза олигонуклеотидов с контролем хиральности).

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой стереослучайную фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью.

Среди прочего, в настоящем изобретении представлены технологии получения ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью (в определенных вариантах осуществления стереохимически чистых). В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды являются стереохимически чистыми. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению являются на приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%, или по меньшей мере приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% чистыми. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидные связи в ds-олигонуклеотидах содержат или состоят из одной или нескольких (например, 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 или больше) хиральных межнуклеотидных связей, каждая из которых независимо характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5%, как правило, по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5%. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению, например dsRNAi-олигонуклеотиды, характеризуются диастереомерной чистотой, составляющей $(DS)^{CIL}$, где DS представляет собой диастереомерную чистоту, описанную в настоящем изобретении (например, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5% или больше), а CIL представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью (например, 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 или больше). В определенных вариантах осуществления DS составляет 95% - 100%. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь независимо

характеризуется контролируемой хиральностью, а CIL представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью.

В качестве примеров определенные dsRNAi-олигонуклеотиды, содержащие определенные иллюстративные последовательности оснований, модификации нуклеиновых оснований и их паттерны, модификации сахаров и их паттерны, межнуклеотидные связи и их паттерны, стереохимию атомов фосфора в связи и их паттерны, линкеры и/или дополнительные химические фрагменты, представлены в таблице 1 ниже. Среди всего прочего, ds-олигонуклеотиды, например из таблицы 1А, можно использовать для нацеливания на транскрипт, например, для снижения уровня транскрипта и/или его продукта.

Таблица 1. Иллюстративные олигонуклеотиды/композиции, которые нацеливаются на TTR

ID	Описание	"Голая" последовательность	Стереохимические особенности/связь
WV-46497	mUn001RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	nRS00000000000000 00000SS
WV-46498	mU*RfUn001RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RnR00000000000000 00000SS
WV-46499	mU*RfU*SmAn001RmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnR000000000000 00000SS
WV-46500	mU*RfU*SmAmUn001RmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnR000000000000 00000SS
WV-46501	mU*RfU*SmAmUmAn001RfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnR000000000000 00000SS
WV-46502	mU*RfU*SmAmUmAfGn001RmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS000nR0000000000 00000SS
WV-46503	mU*RfU*SmAmUmAfGmAn001RmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS0000nR00000000 00000SS
WV-46504	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGn001RmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS00000nR0000000 00000SS
WV-46505	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCn001RmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS000000nR000000 00000SS
WV-46506	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAn001RmAmGmAfAmCfAm	UUAUAGAGCAAGAAC	RS0000000nR00000

	CmUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOOSS
WV-46507	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001RmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnROOOO OOOOOSS
WV-46508	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001RmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnROOO OOOOOSS
WV-46509	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAn001RfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnROO OOOOOSS
WV-46510	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001RmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnRO OOOOOSS
WV-46511	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCn001RfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnR OOOOOSS
WV-46512	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001Rm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOn ROOOOSS
WV-46513	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 RmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOn nROOOSS
WV-46514	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01RmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOn OnROOSS
WV-46515	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001RmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOn OOnROSS
WV-46516	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001RmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOn OOOnRSS
WV-46517	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm	UUAUAGAGCAAGAAC	RSOOOOOOOOOn

	GmUmUn001RmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOnRS
WV-46518	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001RmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOSnR
WV-46519	mUn001SfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	nSSOOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46520	mU*RfUn001SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RnSOOOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-45148	mU*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46521	mU*RfU*SmAmUn001SmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnSOOOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46522	mU*RfU*SmAmUmAn001SfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnSOOOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46523	mU*RfU*SmAmUmAfGn001SmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46524	mU*RfU*SmAmUmAfGmAn001SmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46525	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGn001SmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOnSOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46526	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCn001SmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOnSOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-45147	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAm	UUAUAGAGCAAGAAC	RSOOOOOOOnSOOOOOOO

	CmUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOOSS
WV-46527	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001SmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOnSOOOO OOOOOSS
WV-46528	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001SmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOnSOOO OOOOOSS
WV-46529	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAn001SfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOnSOO OOOOOSS
WV-46530	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001SmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOnSO OOOOOSS
WV-46531	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCn001SfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOnS OOOOOSS
WV-46532	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001Sm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOn SOOOOSS
WV-46533	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 SmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOn nSOOSS
WV-46534	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01SmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOn OnSOOSS
WV-45146	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOn OOnSOSS
WV-46535	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001SmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOn OOnSSS
WV-46536	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm	UUAUAGAGCAAGAAC	RSOOOOOOOOn

	GmUmUn001SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOnSS
WV-46537	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOSnS
WV-46538	mUn001RfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	nRROOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46539	mU*SfUn001RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SnROOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46540	mU*SfU*RmAn001RmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnROOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46541	mU*SfU*RmAmUn001RmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROnROOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46542	mU*SfU*RmAmUmAn001RfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOnROOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46543	mU*SfU*RmAmUmAfGn001RmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOnROOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46544	mU*SfU*RmAmUmAfGmAn001RmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOnROOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46545	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGn001RmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOnROOOOOOOOO OOOOOSS
WV-46546	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCn001RmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOnROOOOOOO OOOOOSS
WV-46547	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAn001RmAmGmAfAmCfAm	UUAUAGAGCAAGAAC	SROOOOOOnROOOOO

	CmUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOOSS
WV-46548	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001RmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nROOOO OOOOOSS
WV-46549	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001RmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nROOO OOOOOSS
WV-46550	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAn001RfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nROO OOOOOSS
WV-46551	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001RmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000nRO OOOOOSS
WV-46552	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCn001RfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000000nR OOOOOSS
WV-46553	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001Rm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000n ROOOOSS
WV-46554	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 RmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 nROOOSS
WV-46555	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01RmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 OnROOSS
WV-46556	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001RmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 OOnROSS
WV-46557	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001RmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 OOnRSS
WV-46558	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm	UUAUAGAGCAAGAAC	SR00000000000000

	GmUmUn001RmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOnRS
WV-46559	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001RmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOOSnR
WV-46560	mUn001SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	nSR0000000000000000 OOOOSS
WV-46561	mU*SfUn001SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SnS0000000000000000 OOOOSS
WV-44453	mU*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnS0000000000000000 OOOOSS
WV-46562	mU*SfU*RmAmUn001SmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROnS0000000000000000 OOOOSS
WV-46563	mU*SfU*RmAmUmAn001SfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0OnS0000000000000000 OOOOSS
WV-46564	mU*SfU*RmAmUmAfGn001SmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-46565	mU*SfU*RmAmUmAfGmAn001SmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-46566	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGn001SmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-46567	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCn001SmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-44452	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAm	UUAUAGAGCAAGAAC	SR0000000nS0000000000000000

	CmUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOSS
WV-46568	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001SmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nSOOOO OOOOSS
WV-46569	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001SmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nSOOO OOOOSS
WV-46570	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAn001SfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nSOO OOOOSS
WV-46571	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001SmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000nSO OOOOSS
WV-46572	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCn001SfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000nS OOOOSS
WV-46573	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001Sm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000000n SOOOSS
WV-46574	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 SmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000 nSOOSS
WV-46575	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01SmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000 OnSOSS
WV-44451	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000 OOnSOSS
WV-46576	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001SmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000 OOnSSS
WV-46577	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm	UUAUAGAGCAAGAAC	SR0000000000000

	GmUmUn001SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOnSS
WV-44457	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOOSnS
WV-43774	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS0000000000000000 OOOOSS
WV-47066	mU*RfUn001RfAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RnR0000000000000000 OOOOSS
WV-47067	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnR0000000000000000 OOOOSS
WV-47068	mU*RfU*SmAmUn001RfAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnR0000000000000000 OOOOSS
WV-47069	mU*RfU*SmAmUmAfGn001RfAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS000nR0000000000000000 OOOOSS
WV-47070	mU*RfU*SmAmUmAfGmAn001RfGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS0000nR0000000000000000 OOOOSS
WV-47071	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGn001RfCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS00000nR0000000000000000 OOOOSS
WV-47072	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCn001RfAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS000000nR0000000000000000 OOOOSS
WV-47073	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS0000000nR0000000000000000 OOOOSS
WV-47074	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001RfGmAfAmCfAmC	UUAUAGAGCAAGAAC	RS000000000nR0000000000000000

	mUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOOSS
WV-47075	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001RfAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOnROOO OOOOOSS
WV-47076	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001RfCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOnRO OOOOOSS
WV-47077	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001RfC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOn ROOOOSS
WV-47078	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 RfUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO nROOOSS
WV-47079	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01RfGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO OnROOSS
WV-47080	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO OOnROSS
WV-47081	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001RfU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO OOnRSS
WV-47082	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmUn001RfU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO OOOnRS
WV-47083	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001RfU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOO OOOSnR
WV-47084	mU*RfUn001SfAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RnSOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-47085	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC	UUAUAGAGCAAGAAC	RSnSOOOOOOOOOOO

	mUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOSS
WV-47086	mU*RfU*SmAmUn001SfAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOnSOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-47087	mU*RfU*SmAmUmAfGn001SfAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOOO OOOOSS
WV-47088	mU*RfU*SmAmUmAfGmAn001SfGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOOO OOOOSS
WV-47089	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGn001SfCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47090	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCn001SfAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47091	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47092	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001SfGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47093	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001SfAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47094	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001SfCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO OOOOSS
WV-47095	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001SfC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOnSOOOOOOO SOOOSS
WV-47096	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001	UUAUAGAGCAAGAAC	RSOOOnSOOOOOOO

	SfUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	nSOOSS
WV-47097	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01SfGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OnSOOSS
WV-47098	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOnSOSS
WV-47099	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001SfU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOnSSS
WV-47100	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmUn001SfU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOnSS
WV-47101	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001SfU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOSnS
WV-43775	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOO OOOSS
WV-47102	mU*SfUn001RfAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SnROOOOOOOOOOOOO OOOSS
WV-47103	mU*SfU*RmAn001RfUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnROOOOOOOOOOOO OOOSS
WV-47104	mU*SfU*RmAmUn001RfAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROnROOOOOOOOOOO OOOSS
WV-47105	mU*SfU*RmAmUmAfGn001RfAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000nROOOOOOOOO OOOSS
WV-47106	mU*SfU*RmAmUmAfGmAn001RfGmCmAmAmGmAfAmCfAmC	UUAUAGAGCAAGAAC	SR0000nROOOOOOOO

	mUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOOSS
WV-47107	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGn001RfCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000nRO000000 OOOOOSS
WV-47108	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCn001RfAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000nRO00000 OOOOOSS
WV-47109	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000nRO0000 OOOOOSS
WV-47110	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001RfGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000nRO000 OOOOOSS
WV-47111	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001RfAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000nRO00 OOOOOSS
WV-47112	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001RfCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000nRO OOOOOSS
WV-47113	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001RfC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000n ROOOOSS
WV-47114	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 RfUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 nROOOSS
WV-47115	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01RfGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 OnROOSS
WV-47116	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 OOnROSS
WV-47118	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm	UUAUAGAGCAAGAAC	SR00000000000000

	GmUmUn001RfU*SmU	ACUGUUUU	OOOOnRS
WV-47119	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001RfU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOOSnR
WV-47120	mU*SfUn001SfAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmU mGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SnS0000000000000000 OOOOSS
WV-47121	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnS0000000000000000 OOOOSS
WV-47122	mU*SfU*RmAmUn001SfAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROnS0000000000000000 OOOOSS
WV-47123	mU*SfU*RmAmUmAfGn001SfAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47124	mU*SfU*RmAmUmAfGmAn001SfGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47125	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGn001SfCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47126	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCn001SfAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47127	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47128	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAn001SfGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000nS0000000000000000 OOOOSS
WV-47129	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGn001SfAfAmCfAmC	UUAUAGAGCAAGAAC	SR0000000000nS0000000000000000

	mUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOSS
WV-47130	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAn001SfCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR000000000000OnSO OOOOSS
WV-47131	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAn001SfC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000On SOOOSS
WV-47132	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCn001 SfUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 nSOOSS
WV-47133	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUn0 01SfGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OnSOSS
WV-47134	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm Gn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOnSOSS
WV-47135	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUn001SfU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOnSSS
WV-47136	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmUn001SfU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOnSS
WV-47137	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUm GmUmU*SmUn001SfU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR0000000000000000 OOOSnS
WV-41826	mU*fU*mAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGm UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX0000000000000000 OOOXX
WV-41828	Mod001L001mA*mAmCmAmGmUfGmUfUfCfUmUmGmCmUmC mUmAmUmA*mA	AACAGUGUUCUUGCU CUAUAA	OX0000000000000000 OOOXX
WV-46380	T*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmG	TUAUAGAGCAAGAAC	SR0000000000000000

	mUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOS
WV-46381	POT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmU mGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-46382	PO5MSdT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-46383	PO5MRdT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-46384	VPT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmU mGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-46385	5mspdT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-46386	5mrpdT*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCm UmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooooooo OOOOS
WV-42079	mU*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAm CfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-44434	T*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCf AmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-44435	POT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAm CfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-44436	PO5MSdT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGm AfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-44437	PO5MRdT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGm	TUAUAGAGCAAGAAC	SRnSOooooOnSOoooo

	AfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOnSOSS
WV-44438	VPT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-44439	5mvpdT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-44440	5mspdT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-44441	5mrpdT*SfU*RmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-46387	T*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46388	POT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46389	PO5MSdT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46390	PO5MRdT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46391	VPT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46392	5mspdT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-46393	5mrpdT*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC	RSOOOOOOOOOOOOOO

	UmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOS
WV-42078	mU*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46394	T*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46395	POT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46396	PO5MSdT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46397	PO5MRdT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46398	VPT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46399	5mspdT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-46400	5mrpdT*RfU*SmAn001SmUmAfGmAmGmCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOnSOSS
WV-42080	Mod001L001mA*SmAmCmAmGmUfGmUfUfCfUmUmGmCmUmCmUmAmUmA*SmA	AACAGUGUUCUUGCU CUAUA	OSOOOOOOOOOOOO OOOS
WV-47144	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOO OOOOS
WV-47145	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf	UUAUAGAGCAAGAAC	SRnSOOOOOOnSOOOO

	AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOOSS
WV-43771	mU*SfU*RmAmUmAfGmAfGfCmAmAmGmAfAmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooo OOOOS
WV-43773	mU*SfU*RmAn001SmUmAfGmAfGfCmAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-43988	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-43989	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCfAn001SmAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-43994	mU*SfU*RfAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001SfAmGmAfAmCfAmCfUfGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-43996	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-43256	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfAmCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-46991	mU*fU*mAfUmAfGmAmGmCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGfUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXoooooooooooo OOOXX
WV-46992	mU*SfU*RmAfUmAfGmAmGmCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooo OOOOS
WV-46993	T*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOooooOnSOoooo OOOnSOSS
WV-46994	POT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf	TUAUAGAGCAAGAAC	SRnSOooooOnSOoooo

	AmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOnSOSS
WV-46995	PO5MSdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAf AmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-46996	PO5MRdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAf AmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-46997	VPT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf AmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-46998	5mspdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-46999	5mrpdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47000	mU*RfU*SmAfUmAfGmAmGmCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGf UmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-47001	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf AmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47002	T*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47003	POT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf AmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47004	PO5MSdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAf AmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47005	PO5MRdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAf	TUAUAGAGCAAGAAC	RSnSOOOOOOnSOOOOO

	AmCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	ACUGUUUU	OOOnSOSS
WV-47006	VPT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfAmCf AmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47007	5mspdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47008	5mrpdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47009	mU*fU*mAfUmAfGmAfGfCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGfUmU *mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOXX
WV-47010	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGfCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOO OOOSS
WV-47011	T*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfAmC mUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47012	POT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47013	PO5MSdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47014	PO5MRdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47015	VPT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS

WV-47016	5mspdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAm CfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47017	5mrpdT*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmC fAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47018	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGfCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOoSS
WV-47019	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47020	T*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfAmC mUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47021	POT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47022	PO5MSdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47023	PO5MRdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47024	VPT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47025	5mspdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAm CfAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-47026	5mrpdT*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGfCmAn001SfAmGmAfAmC fAmCmUmGn001SfUmU*SmU*SmU	TUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS

WV-48526	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001RfAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-48527	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001RfAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-48528	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-48529	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCf AmCmUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-48530	mU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCfAmC mUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-48531	mU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfAmCfAmC mUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-20167	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU *mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOXX
WV-20170	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38708	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-36860	Mod001L001mAmAfCmAfGmUfGmUfUfCfUmUfGmCfUmCfUmA fUmAfA*mU*mU	AACAGUGUUCUUGCU CUAUAAUU	OOOOOOOOOOOOOOOO OOOXX
WV-36807	Mod001L001mAmAfCmAfGmUfGmUfUfCfUmUfGmCfUmCfUmA fUmAfA*SmU*SmU	AACAGUGUUCUUGCU CUAUAAUU	OOOOOOOOOOOOOOOO OOOOS

WV-20167	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU *mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX00000000000000 0000XX
WV-20169	mU*SfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SS00000000000000 0000SS
WV-20170	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RS00000000000000 0000SS
WV-20171	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 0000SS
WV-20172	mU*RfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RR00000000000000 0000SS
WV-20183	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*RmU*RmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SR00000000000000 0000RR
WV-36836	mUn001fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	nXX00000000000000 00000XX
WV-36837	mU*fUn001mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XnX000000000000000 00000XX
WV-36838	mU*fU*mAn001fUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnX00000000000000 00000XX
WV-36839	mU*fU*mAfUn001mAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOnX0000000000000 00000XX
WV-36840	mU*fU*mAfUmAn001fGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOnX000000000000 00000XX

WV-36841	mU*fU*mAfUmAfGn001mAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX000nX000000000 00000XX
WV-36842	mU*fU*mAfUmAfGmAn001fGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX0000nX00000000 00000XX
WV-36843	mU*fU*mAfUmAfGmAfGn001mCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX00000nX0000000 00000XX
WV-36844	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCn001fAmAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX000000nX000000 00000XX
WV-36845	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAn001mAmGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX0000000nX00000 00000XX
WV-36846	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAn001mGmAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX00000000nX0000 00000XX
WV-36847	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGn001mAfAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX000000000nX000 00000XX
WV-36848	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAn001fAmCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX0000000000nX00 00000XX
WV-36849	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAn001mCfAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX00000000000nX0 00000XX
WV-36850	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCn001fAmCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX000000000000nX 00000XX
WV-36851	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAn001mCfUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XX0000000000000n X0000XX

WV-36852	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCn001fUmGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO nXOOOXX
WV-36853	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUn001mGf UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO OnXOOXX
WV-36854	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn001f UmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO OOOnXOXX
WV-36855	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUn00 1mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO OOOnXXX
WV-36856	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU n001mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO OOOnXX
WV-36857	mU*fU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU *mUn001mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOOO OOOOXnX
WV-36980	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRSOOOOOOOO OOOOS
WV-36981	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRSOOOOOOOO OOOOS
WV-36982	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRSSOOOOOOOO OOOOS
WV-36983	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRSRROOOOOOOO OOOOS
WV-36984	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRSRSOOOOOOOO OOOOS

WV-36985	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRSSROOOOOOOO OOOSS
WV-36986	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRSSSOOOOOOOO OOOSS
WV-36987	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRROOOOOOOO OOOSS
WV-36988	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRSOOOOOOOO OOOSS
WV-36989	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSROOOOOOOO OOOSS
WV-36990	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSSOOOOOOOO OOOSS
WV-36991	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRROOOOOOOO OOOSS
WV-36992	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSROOOOOOOO OOOSS
WV-36993	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSROOOOOOOO OOOSS
WV-36994	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSSOOOOOOOO OOOSS
WV-36995	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRRRROOOOOOOO OOOSS

WV-36996	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRRSOOOOOOOO OOOISS
WV-36997	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRRSOOOOOOOO OOOISS
WV-36998	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRSSOOOOOOOO OOOISS
WV-36999	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSRROOOOOOOO OOOISS
WV-37000	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSRSOOOOOOOO OOOISS
WV-37001	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSSROOOOOOOO OOOISS
WV-37002	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSSSOOOOOOOO OOOISS
WV-37003	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRROOOOOOOO OOOISS
WV-37004	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRRRSOOOOOOOO OOOISS
WV-37005	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSROOOOOOOO OOOISS
WV-37006	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSRSSOOOOOOOO OOOISS

WV-37007	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSRROOOOOOOO OOSS
WV-37008	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSRROOOOOOOO OOSS
WV-37009	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSRROOOOOOOO OOSS
WV-37010	mU*RfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRSSSRROOOOOOOO OOSS
WV-37011	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOOISS
WV-37012	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOOISS
WV-37013	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOOISS
WV-37014	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOSS
WV-37015	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOOISS
WV-37016	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOSS
WV-37017	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOOO OOSS

WV-37018	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSSOOOOOOOO OOSS
WV-37019	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37020	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRRRSOOOOOOOO OOSS
WV-37021	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRRSROOOOOOOO OOSS
WV-37022	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSSOOOOOOOO OOSS
WV-37023	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSROOOOOOOO OOSS
WV-37024	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSROOOOOOOO OOSS
WV-37025	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSROOOOOOOO OOSS
WV-37026	mU*RfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSRSSSOOOOOOOO OOSS
WV-37027	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37028	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRRROOOOOOOO OOSS

WV-37029	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37030	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37031	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37032	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37033	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37034	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37035	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37036	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37037	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37038	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37039	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSRRROOOOOOOOO OOSS

WV-37040	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37041	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSSSR000000000 OOSS
WV-37042	mU*RfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRSSSSSS000000000 OOSS
WV-37043	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRRRR000000000 OOOISS
WV-37044	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRRRS000000000 OOOISS
WV-37045	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRRSR000000000 OOOISS
WV-37046	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRRSS000000000 OOSS
WV-37047	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRSR000000000 OOOISS
WV-37048	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRSRS000000000 OOSS
WV-37049	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRSSR000000000 OOSS
WV-37050	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRRSSS000000000 OOSS

WV-37051	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37052	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSRRSROOOOOOOO OOOS
WV-37053	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSRSROOOOOOOO OOOS
WV-37054	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSRSSROOOOOOOO OOOS
WV-37055	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSSRROOOOOOOO OOOS
WV-37056	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSSRSROOOOOOOO OOOS
WV-37057	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSSSROOOOOOOO OOOS
WV-37058	mU*RfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRRSSSSROOOOOOOO OOOS
WV-37059	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37060	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRRSROOOOOOOO OOOS
WV-37061	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRSROOOOOOOO OOOS

WV-37062	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37063	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37064	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37065	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37066	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSRSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37067	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37068	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37069	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37070	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37071	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37072	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSRSOOOOOOOOO OOSS

WV-37073	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37074	mU*RfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSRSSSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37075	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRRROOOOOOOOO OOOISS
WV-37076	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37077	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37078	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37079	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37080	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37081	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37082	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37083	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSRRROOOOOOOOO OOSS

WV-37084	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSRRS0000000000 OOSS
WV-37085	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSRSR0000000000 OOSS
WV-37086	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSRSS0000000000 OOSS
WV-37087	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSSRR0000000000 OOSS
WV-37088	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSSRS0000000000 OOSS
WV-37089	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSSSR0000000000 OOSS
WV-37090	mU*RfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRSSSS0000000000 OOSS
WV-37091	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRRR0000000000 OOSS
WV-37092	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRRS0000000000 OOSS
WV-37093	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRRSR0000000000 OOSS
WV-37094	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSRRSSS0000000000 OOSS

WV-37095	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRROOOOOOOOOO OOSS
WV-37096	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRROOOOOOOOOO OOSS
WV-37097	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS
WV-37098	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS
WV-37099	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRRRROOOOOOOOOO OOSS
WV-37100	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRRRROOOOOOOOOO OOSS
WV-37101	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS
WV-37102	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS
WV-37103	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRROOOOOOOOOO OOSS
WV-37104	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS
WV-37105	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSRSSROOOOOOOOOO OOSS

WV-37106	mU*RfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSSSSSSSOOOOOOOO OOSS
WV-37107	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37108	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRRRSROOOOOOOO OOOOS
WV-37109	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRRSROOOOOOOO OOOOS
WV-37110	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRRSSOOOOOOOO OOSS
WV-37111	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRSRROOOOOOOO OOOOS
WV-37112	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRRSROOOOOOOO OOSS
WV-37113	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRSSROOOOOOOO OOSS
WV-37114	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRRSSSOOOOOOOO OOSS
WV-37115	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRSRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37116	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRSRRSROOOOOOOO OOSS

WV-37117	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37118	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRSRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37119	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRRSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37120	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37121	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37122	mU*SfU*RmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37123	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRRRROOOOOOOOO OOOOS
WV-37124	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37125	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37126	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37127	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRSRROOOOOOOOO OOSS

WV-37128	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRRSOoooooooooo OOSS
WV-37129	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRSSROoooooooooo OOSS
WV-37130	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSRSSSOoooooooooo OOSS
WV-37131	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRRROoooooooooo OOSS
WV-37132	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRRSOoooooooooo OOSS
WV-37133	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRSROoooooooooo OOSS
WV-37134	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRSSOoooooooooo OOSS
WV-37135	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSSRROoooooooooo OOSS
WV-37136	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSRSOoooooooooo OOSS
WV-37137	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSSSROoooooooooo OOSS
WV-37138	mU*SfU*RmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRRSSSSSOoooooooooo OOSS

WV-37139	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRRRROOOOOOOO OOOOS
WV-37140	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRRRSOOOOOOOO OOOS
WV-37141	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRRSROOOOOOOO OOOS
WV-37142	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRRSSOOOOOOOO OOOS
WV-37143	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRSRROOOOOOOO OOOS
WV-37144	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRSRSOOOOOOOO OOOS
WV-37145	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRSSROOOOOOOO OOOS
WV-37146	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRRSSSOOOOOOOO OOOS
WV-37147	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSRRROOOOOOOO OOOS
WV-37148	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSRRSOOOOOOOO OOOS
WV-37149	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSRSROOOOOOOO OOOS

WV-37150	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37151	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37152	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37153	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37154	mU*SfU*RmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSRSSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37155	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37156	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37157	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37158	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37159	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37160	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSRSOOOOOOOOO OOSS

WV-37161	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSSROOOOOOOOO OOOSS
WV-37162	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSSSOOOOOOOOO OOOSS
WV-37163	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRROOOOOOOOO OOOSS
WV-37164	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRRSOOOOOOOOO OOOSS
WV-37165	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSROOOOOOOOO OOOSS
WV-37166	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSRSROOOOOOOOO OOOSS
WV-37167	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSSRROOOOOOOOO OOOSS
WV-37168	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSSRROOOOOOOOO OOOSS
WV-37169	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSSSROOOOOOOOO OOOSS
WV-37170	mU*SfU*RmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRSSSSSOOOOOOOOO OOOSS
WV-37171	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRROOOOOOOOO OOOSS

WV-37172	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37173	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37174	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37175	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37176	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37177	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37178	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37179	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37180	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37181	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37182	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSRSSOOOOOOOOO OOSS

WV-37183	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37184	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37185	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37186	mU*SfU*SmA*RfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRSSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37187	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37188	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37189	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37190	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37191	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37192	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37193	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSSROOOOOOOOO OOSS

WV-37194	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSSOooooooooo OOSS
WV-37195	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSRRROooooooooo OOSS
WV-37196	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSRSOooooooooo OOSS
WV-37197	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSRSROooooooooo OOSS
WV-37198	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSRSSOooooooooo OOSS
WV-37199	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSSRROooooooooo OOSS
WV-37200	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSRSOooooooooo OOSS
WV-37201	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSSSROooooooooo OOSS
WV-37202	mU*SfU*SmA*RfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSSSSSOooooooooo OOSS
WV-37203	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRROooooooooo OOSS
WV-37204	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRRRRSOooooooooo OOSS

WV-37205	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37206	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37207	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37208	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37209	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37210	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRSSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37211	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37212	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37213	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37214	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRSSOOOOOOOOO OOSS
WV-37215	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSRSRRROOOOOOOOO OOSS

WV-37216	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSSRSOOOOOOOOO OOSS
WV-37217	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSSSR000000000 OOSS
WV-37218	mU*SfU*SmA*SfU*RmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSSSS000000000 OOSS
WV-37219	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRRR000000000 OOSS
WV-37220	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRRRS000000000 OOSS
WV-37221	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRSR000000000 OOSS
WV-37222	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRRS000000000 OOSS
WV-37223	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSR000000000 OOSS
WV-37224	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSR000000000 OOSS
WV-37225	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSSR000000000 OOSS
WV-37226	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*RfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSRSSS000000000 OOSS

WV-37227	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSRRROOOOOOOOO OOSS
WV-37228	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSRRS000000000 OOSS
WV-37229	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSRSROOOOOOOOO OOSS
WV-37230	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*RmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSRSS000000000 OOSS
WV-37231	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*RmCfAmAmGmAfAm CfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSSRROOOOOOOOO OOSS
WV-37232	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*RfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSSR000000000 OOSS
WV-37233	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*RmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSSSROOOOOOOOO OOSS
WV-37234	mU*SfU*SmA*SfU*SmA*SfG*SmA*SfG*SmCfAmAmGmAfAmC fAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SSSSSSS000000000 OOSS
WV-37235	mU*RfU*RmA*RfU*RmA*RfG*RmA*RfG*RmCfAmAmGmAfA mCfAmCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RRRRRRRROOOOOOO OOOOS
WV-37236	mU*fU*mA*fU*mA*fG*mA*fG*mCfAmAmGmAfAmCfAmCfUm GfUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXXXXXXXX00000000 OOOXX
WV-37236	mU*fU*mA*fU*mA*fG*mA*fG*mCfAmAmGmAfAmCfAmCfUm GfUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXXXXXXXX00000000 OOOXX

WV-38082	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 0000XX
WV-38083	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 0000SS
WV-38087	mU*RfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	R000000000000000 0000SS
WV-38088	mUfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OR00000000000000 0000SS
WV-38089	mUfUmA*RfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOR0000000000000 0000SS
WV-38090	mUfUmAfU*RmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00OR000000000000 0000SS
WV-38091	mUfUmAfUmA*RfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000OR00000000000 0000SS
WV-38092	mUfUmAfUmAfG*RmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000OR0000000000 0000SS
WV-38093	mUfUmAfUmAfGmA*RfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00000OR000000000 0000SS
WV-38094	mUfUmAfUmAfGmAfG*RmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000OR00000000 0000SS
WV-38095	mUfUmAfUmAfGmAfGmC*RfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000OR0000000 0000SS

WV-38096	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfA*RmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38097	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmA*RmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38098	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmG*RmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38099	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmA*RfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38100	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfA*RmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38101	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmC*RfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38102	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfA*RmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOOOSS
WV-38103	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmC*RfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO ROOOSS
WV-38104	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU*RmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OROOSS
WV-38105	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmG*RfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOROSS
WV-38106	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU*Rm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOROOOOOO OOROSS

WV-38107	mU*SfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SOOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38108	mUfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38109	mUfUmA*SfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOSOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38110	mUfUmAfU*SmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOSOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38111	mUfUmAfUmA*SfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOSOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38112	mUfUmAfUmAfG*SmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOSOOOOOOOOOO OOOOS
WV-38113	mUfUmAfUmAfGmA*SfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOSOOOOOOOOO OOOOS
WV-38114	mUfUmAfUmAfGmAfG*SmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOSOOOOOOOO OOOOS
WV-38115	mUfUmAfUmAfGmAfGmC*SfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOSOOOOOOO OOOOS
WV-38116	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfA*SmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOSOOOOOO OOOOS
WV-38117	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmA*SmGmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOSOOOOO OOOOS

WV-38118	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmG*SmAfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000S0000 0000SS
WV-38119	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmA*SfAmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000000000S000 0000SS
WV-38120	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfA*SmCfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000S00 0000SS
WV-38121	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmC*SfAmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00000000000000S0 0000SS
WV-38122	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfA*SmCfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000000000000S 0000SS
WV-38123	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmC*SfUmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 S000SS
WV-38124	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU*SmGfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 0S00SS
WV-38125	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmG*SfUm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 00S0SS
WV-38126	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU*Sm U*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000000000 000SSS
WV-38127	mU*fUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	X000000000000000 0000SS
WV-38128	mUfU*mAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0X00000000000000 0000SS

WV-38129	mUfUmA*fUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00X0000000000000 0000SS
WV-38130	mUfUmAfU*mAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000X000000000000 0000SS
WV-38131	mUfUmAfUmA*fGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000X00000000000 0000SS
WV-38132	mUfUmAfUmAfG*mAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00000X0000000000 0000SS
WV-38133	mUfUmAfUmAfGmA*fGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000X000000000 0000SS
WV-38134	mUfUmAfUmAfGmAfG*mCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000X00000000 0000SS
WV-38135	mUfUmAfUmAfGmAfGmC*fAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00000000X0000000 0000SS
WV-38136	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfA*mAmGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000000X000000 0000SS
WV-38137	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmA*mGmAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	0000000000X00000 0000SS
WV-38138	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmG*mAfAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	00000000000X0000 0000SS
WV-38139	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmA*fAmCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	000000000000X000 0000SS

WV-38140	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfA*mCfAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOXOO OOOOSS
WV-38141	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmC*fAmCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOXO OOOOSS
WV-38142	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfA*mCfUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOX OOOOSS
WV-38143	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmC*fUmGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOOO XOOOSS
WV-38144	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU*mGfUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOOO OXOOSS
WV-38145	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmG*fUmU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOOO OOXOSS
WV-38146	mUfUmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGfU*mU* SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	OOOOOOOOOOOOOOO OOOXSS
WV-38678	mU*fU*mAn001fUmAfGmAfGmCfAn001mAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnXOOOOOOnXOOOO OOOOOXX
WV-38687	mU*fU*mAn001fUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn 001fUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnXOOOOOOOOOOO OOOnXOXX
WV-38703	mU*RfU*SmAn001fUmAfGmAfGmCfAn001mAmGmAfAmCfAm CfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnXOOOOOOnXOOOO OOOOOSS
WV-38704	mU*RfU*SmAn001fUmAfGmAfGmCfAn001mAmGmAfAmCfAm CfUmGn001fUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnXOOOOOOnXOOOO OOOOnXOSS

WV-38705	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfA mCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOnROOOOO OOOOOSS
WV-38706	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-38707	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUmGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOOOSS
WV-40362	Mod001L001mA*mAfCmAfGmUfGmUfUfCfUmUfGmCfUmCfUm AfUmA*fA	AACAGUGUUCUUGCU CUAUAA	OXOOOOOOOOOOOOOO OOOOX
WV-40363	Mod001L001mA*SmAfCmAfGmUfGmUfUfCfUmUfGmCfUmCfU mAfUmA*SfA	AACAGUGUUCUUGCU CUAUAA	OSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-40552	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnROOOOO OOOnROSS
WV-40553	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOnROOOOO OOOnSOSS
WV-40555	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-40556	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnROOOOO OOOnSOSS
WV-40796	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOnSOOOOO OOOnROSS
WV-40797	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUmGn001RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOnROSS

WV-40838	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAn001SfGmCfAn001SmAmGmAfA mCfAmCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOnSOOnSOOOO OOOOnSOSS
WV-40839	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGn001SmCfAn001SmAmGmAfA mCfAmCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOnSOOnSOOOO OOOOnSOSS
WV-40842	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAn001SfGmCfAn001SmAmGmAfA mCfAn001SmCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOnSOOnSOOOO OnSOOnSOSS
WV-40843	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGn001SmCfAn001SmAmGmAfA mCfAn001SmCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOnSOOnSOOOO OnSOOnSOSS
WV-41896	mU*RfU*SmAn001RfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnROOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-41898	mU*RfU*SmAfUmAn001RfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOnROOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-41903	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOnROOOOO OOOOOSS
WV-41912	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn0 01RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOOO OOnROSS
WV-41918	mU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-41920	mU*RfU*SmAfUmAn001SfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOnSOOOOOOOOOO OOOOOSS
WV-41925	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOnSOOOOO OOOOOSS

WV-41934	mU*RfU*SmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn0 01SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOOO OOoSoss
WV-41940	mU*SfU*RmAn001RfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnROOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-41942	mU*SfU*RmAfUmAn001RfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOnROOOOOOOOOO OOOOSS
WV-41947	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAn001RmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-41956	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn0 01RfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOO OOnROSS
WV-41962	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-41964	mU*SfU*RmAfUmAn001SfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOnSOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-41969	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfAmCfU mGfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-41978	mU*SfU*RmAfUmAfGmAfGmCfAmAmGmAfAmCfAmCfUmGn0 01SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOO OOoSoss
WV-43987	mU*SfU*RfAn001SmUmAfGmAmGmCfAn001SmAmGmAfAmCf AmCmUfGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-43990	mU*SfU*RfAn001SfUmAfGmAmGmCfAn001SfAmGmAfAmCfA mCmUfGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS

WV-43991	mU*SfU*RmAn001SmUmAfGmAfGmCmAn001SmAmGmAfAmCf AmCfUmGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-43992	mU*SfU*RfAn001SmUmAfGmAfGmCfAn001SmAmGmAfAmCfA mCfUfGn001SmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-43993	mU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAfGmCmAn001SfAmGmAfAmCfA mCfUmGn001SfUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOnSOSS
WV-49611	mU*fU*mAfUmAfGmAmGmCmAfAmGmAfAmCfAmCmUmGmU mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOOXX
WV-49612	mU*fU*mAn001fUmAfGmAmGmCmAn001fAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnXOOOOOOOnXOOOO OOOOOOXX
WV-49613	mU*SfC*RmCn001SfUmUfCmCmCmUmGn001SfAmAmGfGmUf UmCmCmUmCmC*SmU*SmU	UCCUUCCUGAAGGU UCCUCCUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-49614	mU*SfC*RmCn001SfUmUfCmCmCmUmGn001RfAmAmGfGmUf UmCmCmUmCmC*SmU*SmU	UCCUUCCUGAAGGU UCCUCCUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-49615	Mod001L001mG*SmGmAmGmGmAfAmCfCfUfUmCmAmGmGm GmAmAmGmG*SmA	GGAGGAACCUUCAGG GAAGGA	OSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-49626	mU*SfU*RmAn001fUmAfGmAmGmCmAn001fAmGmAfAmCfAm CmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnXOOOOOOOnXOOOO OOOOOSS
WV-49900	mU*fC*mCfUmUfCmCfCmUfGmAmAmGfGmUfUmCfCmUfCmC *mU*mU	UCCUUCCUGAAGGU UCCUCCUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOOXX
WV-49901	Mod001L001mG*mGfAmGfGmAfAmCfCfUfUmCfAmGfGmGfAm AfGmG*fA	GGAGGAACCUUCAGG GAAGGA	OXOOOOOOOOOOOOOO OOOOX

WV-50034	mU*SfU*RmAn003SfUmAfGmAmGmCmAn003RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50035	mU*SfU*RmAn003SfUmAfGmAmGmCmAn003SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50036	mU*SfU*RmAn004SfUmAfGmAmGmCmAn004RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50037	mU*SfU*RmAn004SfUmAfGmAmGmCmAn004SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50040	mU*SfU*RmAn008SfUmAfGmAmGmCmAn008RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50041	mU*SfU*RmAn008SfUmAfGmAmGmCmAn008SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50042	mU*SfU*RmAn025SfUmAfGmAmGmCmAn025RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50043	mU*SfU*RmAn025SfUmAfGmAmGmCmAn025SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50044	mU*SfU*RmAn026SfUmAfGmAmGmCmAn026RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50045	mU*SfU*RmAn026SfUmAfGmAmGmCmAn026SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50046	mU*SfU*RmAn043SfUmAfGmAmGmCmAn043RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS

WV-50047	mU*SfU*RmAn043SfUmAfGmAmGmCmAn043SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50048	mU*SfU*RmAn058SfUmAfGmAmGmCmAn058RfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50049	mU*SfU*RmAn058SfUmAfGmAmGmCmAn058SfAmGmAfAmCf AmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50101	5mrpmU*RfU*SmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSOOOOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-50102	5mrpmU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-50103	5mrpmU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50104	5mrpmU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAfA mCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50105	5mrpmU*RfU*SmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfA mCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	RSnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50106	5mrpmU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001RfAmGmAfA mCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50108	5mvpmU*SfU*RmAmUmAfGmAmGmCmAmAmGmAfAmCfAmC mUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SROOOOOOOOOOOOOOO OOOOSS
WV-50110	5mvpmU*SfU*RmAn001SfUmAfGmAmGmCmAn001SfAmGmAf AmCfAmCmUmGmUmU*SmU*SmU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS

WV-50112	5mvp <u>U</u> *S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001S <u>f</u> <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n001R <u>f</u> <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> f A <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>m</u> U <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50113	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001S <u>f</u> <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n009R <u>f</u> <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>m</u> U <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50114	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001S <u>f</u> <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n009S <u>f</u> <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>m</u> U <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50115	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001S <u>f</u> <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n033R <u>f</u> <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>m</u> U <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOSS
WV-50116	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001S <u>f</u> <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n033S <u>f</u> <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>m</u> U <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOSS
WV-50481	mU*f <u>U</u> *m <u>A</u> n001f <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n001f <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C mU <u>m</u> G <u>n</u> 001f <u>U</u> mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnXOOOOOnXOOOO OOOnXOXX
WV-50482	mU*f <u>U</u> *m <u>A</u> n001f <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> fA <u>n</u> 001m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C mU <u>m</u> G <u>n</u> 001f <u>U</u> mU*mU*mU	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	XXnXOOOOOnXOOOO OOOnXOXX
WV-50485	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001f <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> n001f <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>n</u> 001f <u>U</u> mU* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnXOOOOOnXOOOO OOOnXOSS
WV-50486	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> n001f <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> fA <u>n</u> 001m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G <u>n</u> 001f <u>U</u> mU* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRnXOOOOOnXOOOO OOOnXOSS
WV-51122	mU*S <u>f</u> <u>U</u> *R <u>m</u> <u>A</u> f <u>U</u> m <u>A</u> f <u>G</u> m <u>A</u> m <u>G</u> m <u>C</u> m <u>A</u> fA <u>m</u> G <u>m</u> <u>A</u> fA <u>m</u> C <u>f</u> A <u>m</u> C <u>m</u> U <u>m</u> G mU <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U* <u>S</u> <u>m</u> U	UUAUAGAGCAAGAAC ACUGUUUU	SRoooooooooooo OOOOS

Таблица 1а. Иллюстративные олигонуклеотиды/композиции для ненацеливающихся контрольных образцов

ID	Описание	"Голая" последовательность	Стереохимические особенности/связь
WV-49613	mU*SfC*RmCn001SfUmUfCmCmCmUmGn001SfAmAmGfGmUf UmCmCmUmCmC*SmU*SmU	UCCUUCCCUGAAGGU UCCUCCUU	SRnSOOOOOOnSOOOOO OOOOOSS
WV-49614	mU*SfC*RmCn001SfUmUfCmCmCmUmGn001RfAmAmGfGmUf UmCmCmUmCmC*SmU*SmU	UCCUUCCCUGAAGGU UCCUCCUU	SRnSOOOOOOnROOOOO OOOOOSS
WV-49615	Mod001L001mG*SmGmAmGmGmAfAmCfCfUfUmCmAmGmGm GmAmAmGmG*SmA	GGAGGAACCUUCAGG GAAGGA	OSOOOOOOOOOOOOOO OOOOS
WV-49900	mU*fC*mCfUmUfCmCfCmUfGmAmAmGfGmUfUmCfCmUfCmC *mU*mU	UCCUUCCCUGAAGGU UCCUCCUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOOXX
WV-49901	Mod001L001mG*mGfAmGfGmAfAmCfCfUfUmCfAmGfGmGfAm AfGmG*fA	GGAGGAACCUUCAGG GAAGGA	OXOOOOOOOOOOOOOO OOOOX
WV-49903	mU*fC*mCmUmUfCmCmCmUmGmAmAmGfGmUfUmCmCmUm CmC*mU*mU	UCCUUCCCUGAAGGU UCCUCCUU	XXOOOOOOOOOOOOOO OOOOXX
WV-49904	Mod001L001mG*mGmAmGmGmAfAmCfCfUfUmCmAmGmGmG mAmAmGmG*mA	GGAGGAACCUUCAGG GAAGGA	OXOOOOOOOOOOOOOO OOOOX

Таблица 1б. Иллюстративные олигонуклеотиды/композиции, которые нацеливаются на TTR

ID	Описание	"Голая" последовательность

SSR-0106266	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106267	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106268	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106269	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106270	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106271	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106272	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106273	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)[n001S].m(U)[n001S].m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106274	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106275	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106276	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106277	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106278	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106279	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106280	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)[n001S].m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106281	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106282	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106283	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106284	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106285	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106286	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)[n001S].m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106287	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)p.m(U)[n001S].m(G)p.m(U)[n001S].m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106288	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)p.m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106289	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].[fl2r](A)p.[fl2r](A)[n001S].[fl2r](C)p.[fl2r](A)[n001S].[fl2r](C)p.m(U)[n001S].[fl2r](G)p.m(U)[n001S].[fl2r](U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106290	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](U)p.m(G)[n001S].[fl2r](U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106291	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)[n001S].m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)[n001S].m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106292	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)[n001S].m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106293	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106294	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106295	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106296	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106297	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)[n001S].m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106298	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106299	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)[n001S].m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106300	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)[n001S].m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106301	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)[n001S].m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106302	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)[n001S].[fl2r](A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106303	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)[n001S].[fl2r](C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106304	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)[n001S].[fl2r](C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106305	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)[n001S].[fl2r](U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0106306	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)[n001S].[fl2r](G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0104474	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)[n001S].[fl2r](U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU

SSR-0106307	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)[n001S].[fl2r](U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0104475	RNA1 {m(U)[Ssp].[fl2r](U)[Rsp].m(A)[n001S].[fl2r](U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)[n001S].[fl2r](A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[Ssp].m(U)[Ssp].m(U)}\$\$\$ \$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0104720	RNA1 {m(U)[sp].[fl2r](U)[sp].m(A)p.m(U)p.m(A)p.[fl2r](G)p.m(A)p.m(G)p.m(C)p.m(A)p.m(A)p.m(G)p.m(A)p.[fl2r](A)p.m(C)p.[fl2r](A)p.m(C)p.m(U)p.m(G)p.m(U)p.m(U)[sp].m(U)[sp].m(U)}\$\$\$\$V2.0	UUAUAGAG CAAGAACA CUGUUUU
SSR-0101599	RNA1 {p.m(A)[Ssp].m(A)p.m(C)p.m(A)p.m(G)p.m(U)p.[fl2r](G)p.m(U)p.[fl2r](U)p.[fl2r](C)p.[fl2r](U)p.m(U)p.m(G)p.m(C)p.m(U)p.m(C)p.m(U)p.m(A)p.m(U)p.m(A)[Ssp].m(A)} CHEM1 {[GalNAc3C12oyl]} CHEM2 {[nC6o]} \$CHEM2,RNA1,1:R1-1:R1 CHEM2,CHEM1,1:R2-1:R1\$\$\$\$V2.	AACAGUGU UCUUGCUC UAUAA
SSR-0101596	RNA1 {p.m(A)[sp].m(A)p.m(C)p.m(A)p.m(G)p.m(U)p.[fl2r](G)p.m(U)p.[fl2r](U)p.[fl2r](C)p.[fl2r](U)p.m(U)p.m(G)p.m(C)p.m(U)p.m(C)p.m(U)p.m(A)p.m(U)p.m(A)[sp].m(A)} CHEM1 {[GalNAc3C12oyl]} CHEM2 {[nC6o]} \$CHEM2,RNA1,1:R1-1:R1 CHEM2,CHEM1,1:R2-1:R1\$\$\$\$V2.0	AACAGUGU UCUUGCUC UAUAA
	Примечание SSR-0104474 = WV-43988 SSR-0104475 = WV-47145 SSR-0104720 = WV-41826 SSR-0101599 = WV-42080 SSR-0101596 = WV-41828	

Примечания

Данные по описанию, последовательности оснований и стереохимическим особенностям/связи из-за их длины могут быть разделены на несколько строк в таблице 1. Если не указано иное, все олигонуклеотиды в таблице 1 являются односторонними. Как понятно специалистам в данной области, нуклеозидные звенья являются немодифицированными и содержат немодифицированные нуклеиновые основания и 2'-дезоксисахара, если не указано иное (например, с г, m и т. д.); связи, если не указано иное, являются природными фосфатными связями; и кислотные/основные группы могут независимо существовать в их солевых формах. Если сахар не определен, то сахар представляет собой сахар природной ДНК; и если межнуклеотидная связь не определена, то межнуклеотидная связь представляет собой природную фосфатную связь. Фрагменты и модификации:

m: 2'-OMe;

f или [fl2r]: 2'-F;

O, PO, p: фосфодиэфир (фосфат). Он может представлять собой связь или концевую группу (или ее компонент), например, связь между линкером и олигонуклеотидной цепью, межнуклеотидную связь (природную фосфатную связь) и т. д. Фосфодиэфиры обычно обозначаются буквой "O" в столбце "Стереохимические особенности/связь" и обычно не отмечаются в столбце "Описание" (если это концевая группа, например, 5'-концевая группа, она указывается в столбце "Описание" и обычно не указывается в столбце "Стереохимические особенности/связь"); если связь не указана в столбце "Описание", она обычно является фосфодиэфирной, если не указано иное. Следует отметить, что фосфатная связь между линкером (например, L001) и олигонуклеотидной цепью может не быть отмечена в столбце "Описание", но может быть обозначена буквой "O" в столбце "Стереохимические особенности/связь".

*, PS, sp: фосфотиоат. Он может представлять собой концевую группу (если он представляет собой концевую группу, например, 5'-концевую группу, она указана в столбце "Описание" и, как правило, не указана в столбце "Стереохимические особенности/связь") или связь, например, связь между линкером (например, L001) и олигонуклеотидной цепью, межнуклеотидную связь (фосфотиоатную межнуклеотидную связь) и т. д.;

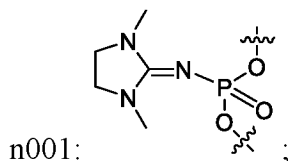
R, Rp, или [Rsp]: фосфотиоат в конфигурации Rp. Следует отметить, что * R в столбце "Описание" указывает на одну фосфотиоатную связь в конфигурации Rp;

S, Sp, или [Ssp]: фосфотиоат в конфигурации Sp. Следует отметить, что * S в столбце "Описание" указывает на одну фосфотиоатную связь в конфигурации Sp;

X: стереослучайный фосфотиоат;

CHEM1: лиганд;

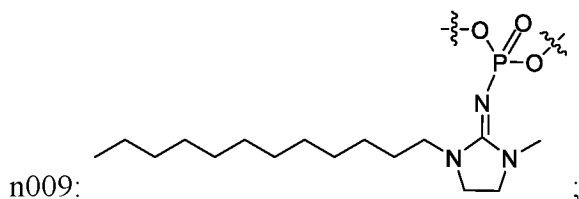
CHEM2: 5'-линкер;



nX: стереослучайный n001;

nR или n001R или [n001R]: n001 в конфигурации Rp;

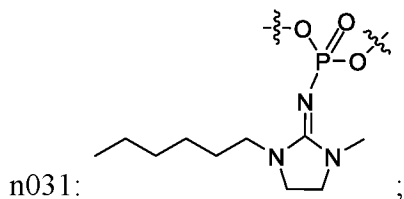
nS или n001S или [n001S]: n001 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n009;

nR или n009R: n009 в конфигурации Rp;

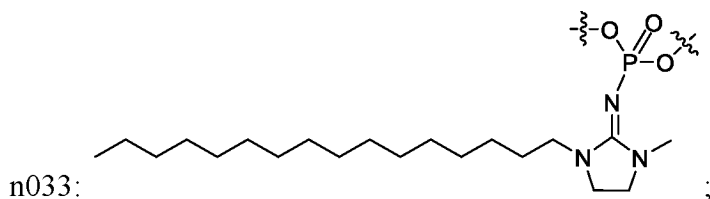
nS или n009S: n009 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n031;

nR или n031R: n031 в конфигурации Rp;

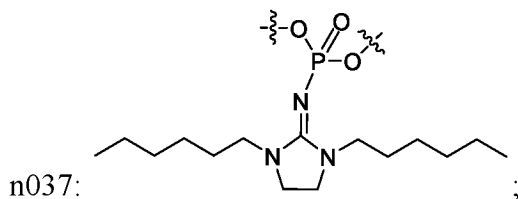
nS или n031S: n031 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n033;

nR или n033R: n033 в конфигурации Rp;

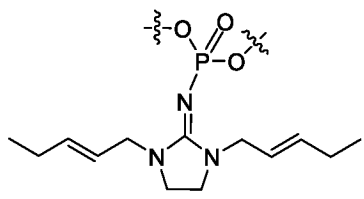
nS или n033S: n033 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n037;

nR или n037R: n037 в конфигурации Rp;

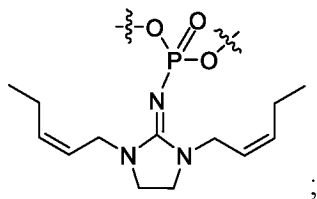
nS или n037S: n037 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n046;

nR или n046R: n046 в конфигурации Rp;

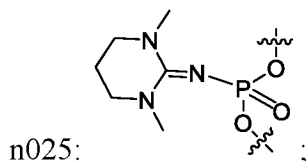
nS или n046S: n046 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n047;

nR или n047R: n047 в конфигурации Rp;

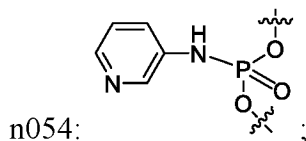
nS или n047S: n047 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n025;

nR или n025R: n025 в конфигурации Rp;

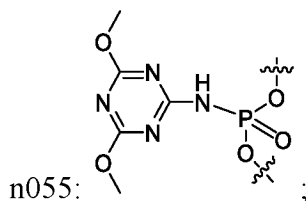
nS или n025S: n025 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n054;

nR или n054R: n054 в конфигурации Rp;

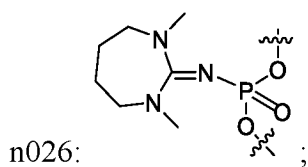
nS или n054S: n054 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n055;

nR или n055R: n055 в конфигурации Rp;

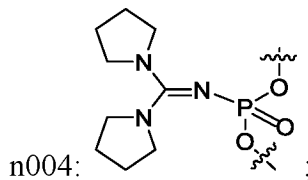
nS или n055S: n055 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n001;

nR или n026R: n026 в конфигурации Rp;

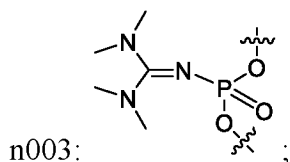
nS или n026S: n026 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n004;

nR или n004R: n004 в конфигурации Rp;

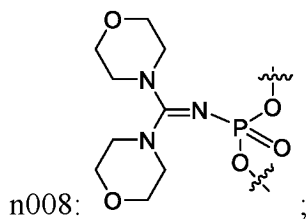
nS или n004S: n004 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n003;

nR или n003R: n003 в конфигурации Rp;

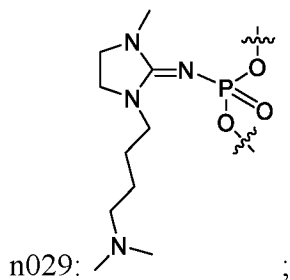
nS или n003S: n003 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n008;

nR или n008R: n008 в конфигурации Rp;

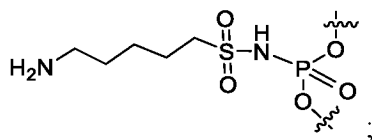
nS или n008S: n008 в конфигурации Sp;



nX: стереослучайный n029;

nR или n029R: n029 в конфигурации Rp;

nS или n029S: n029 в конфигурации Sp;

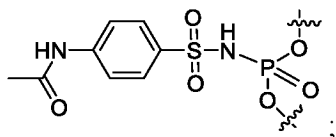


n021:

nX: стереослучайный n021;

nR или n021R: n021 в конфигурации Rp;

nS или n021S: n021 в конфигурации Sp;

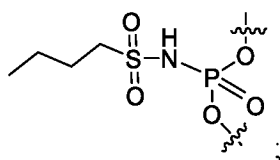


n006:

nX: стереослучайный n006;

nR или n006R: n006 в конфигурации Rp;

nS или n006S: n006 в конфигурации Sp;

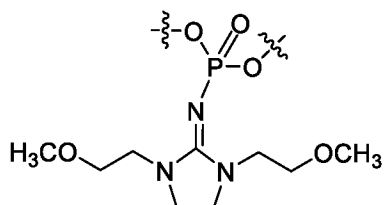


n020:

nX: стереослучайный n020;

nR или n020R: n020 в конфигурации Rp;

nS или n020S: n020 в конфигурации Sp;

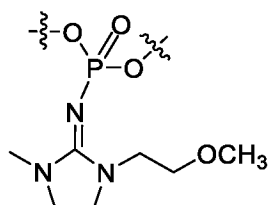


n043:

nX: стереослучайный n043;

nR или n043R: n043 в конфигурации Rp;

nS или n043S: n043 в конфигурации Sp;



n058:

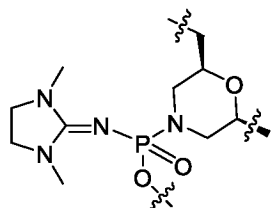
nX: стереослучайный n058;

nR или n058R: n058 в конфигурации Rp;

nS или n058S: n058 в конфигурации Sp;

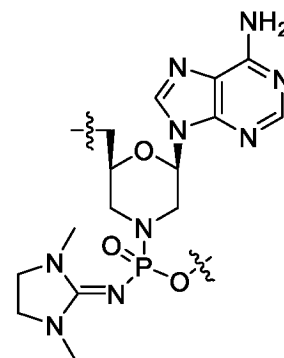
X: стереослучайный фосфотиоат;

sm01n001:



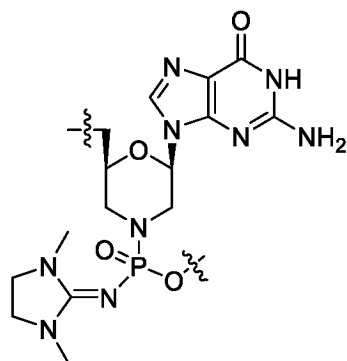
(например,

Asm01n001:

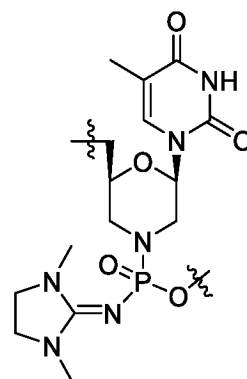


;

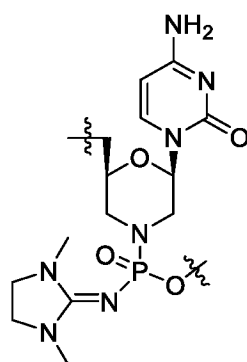
Gsm01n001:



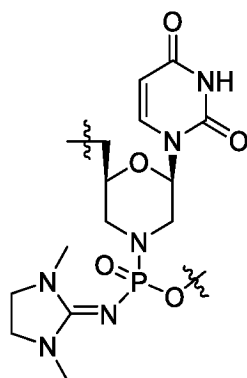
; Tsm01n001:



; Csm01n001:

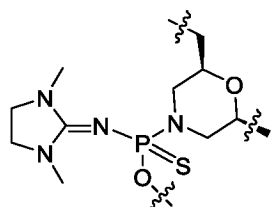


Usm01n001:



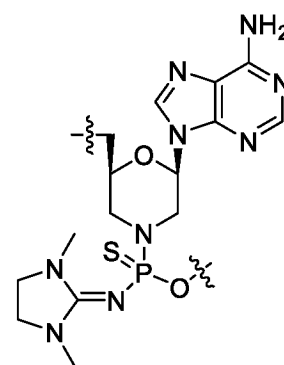
);

sm01*n001:

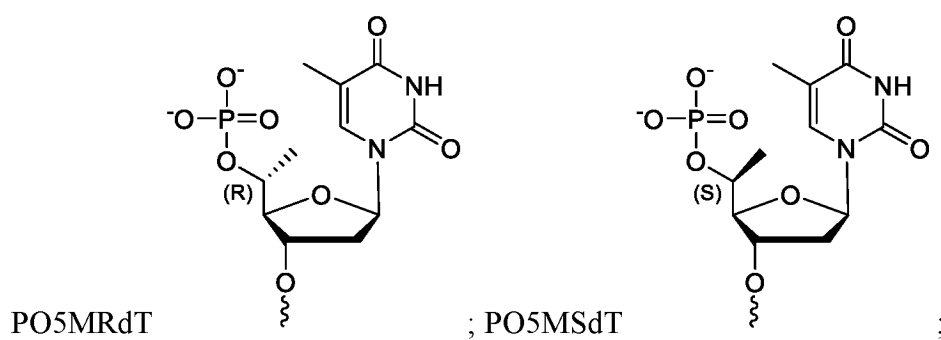
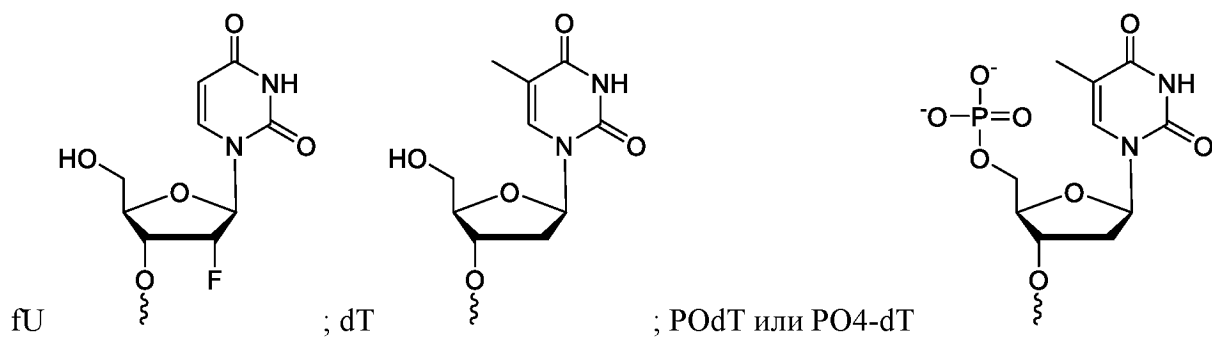
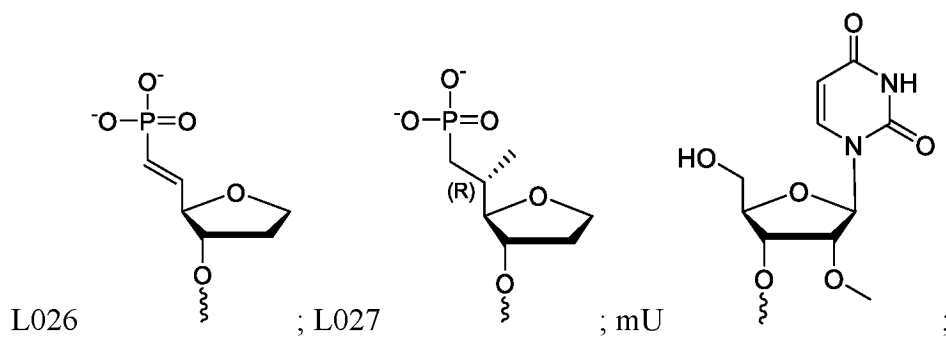
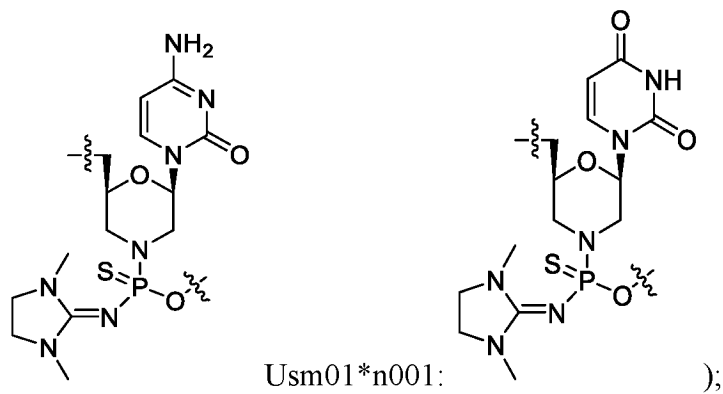
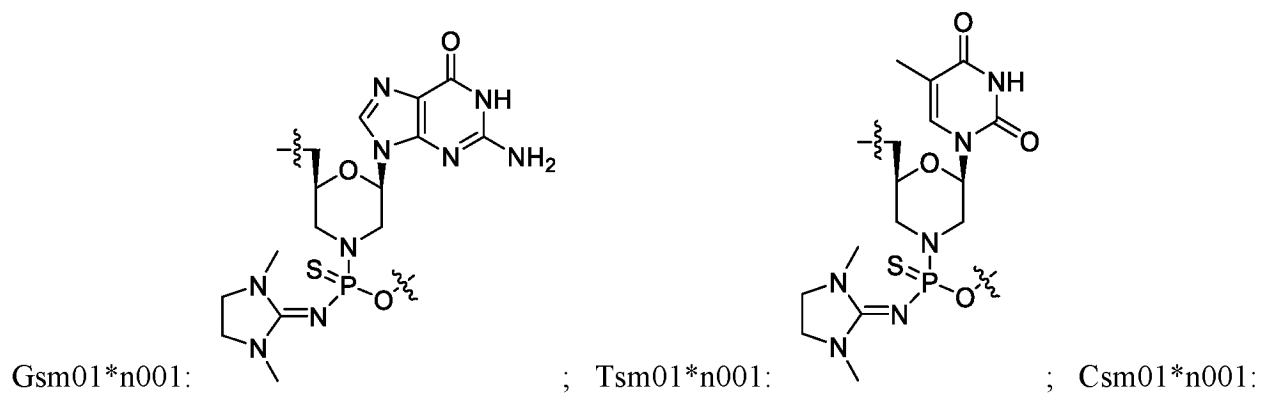


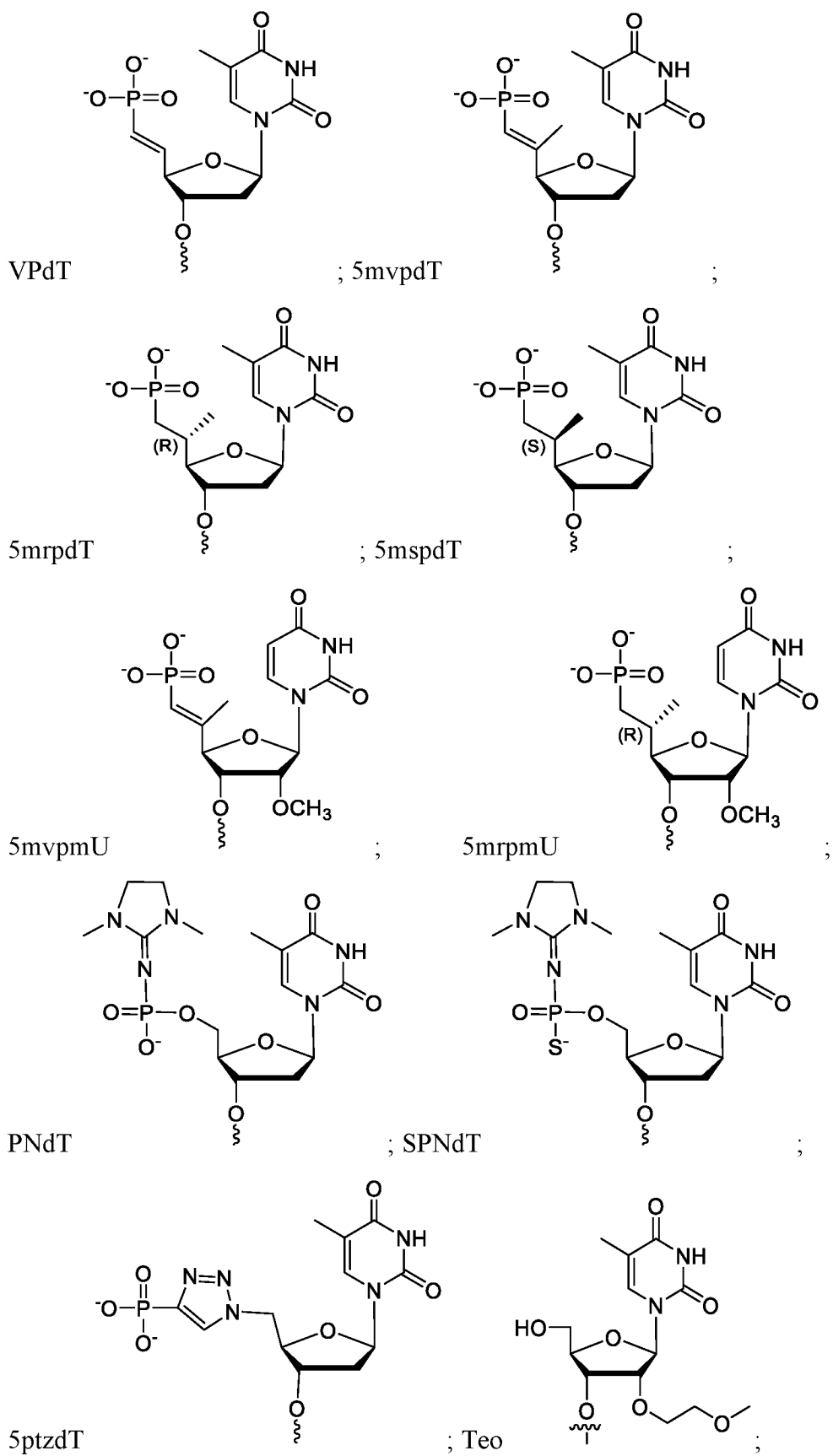
(например,

Asm01*n001:

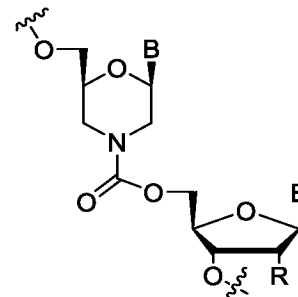
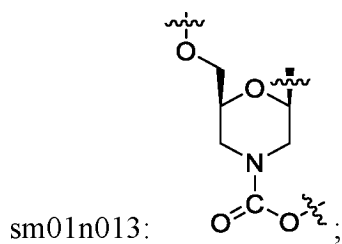


;

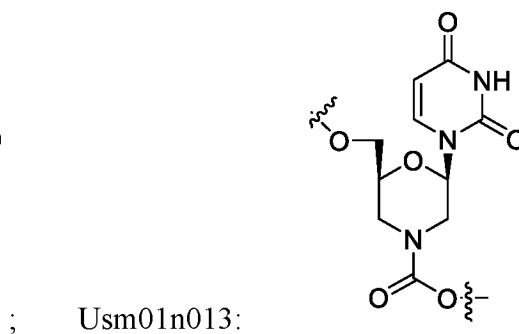
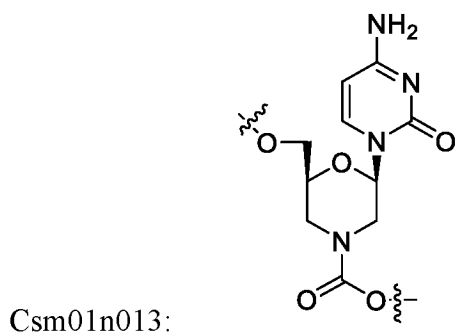
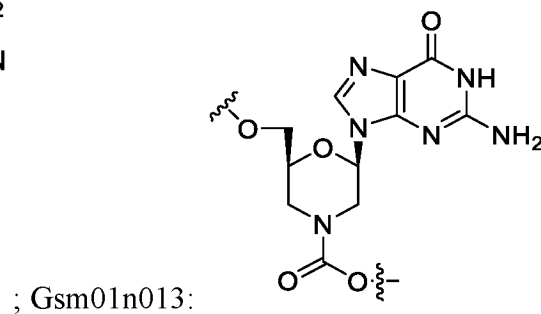
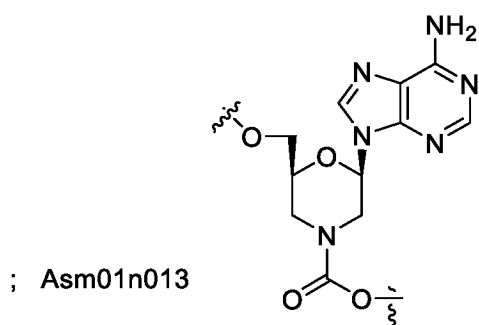




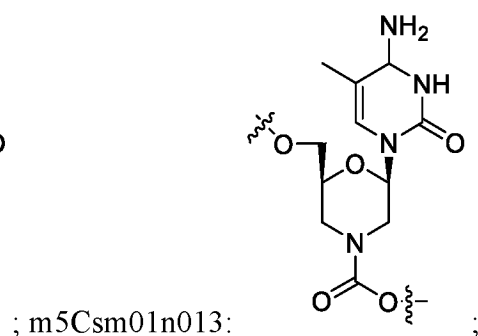
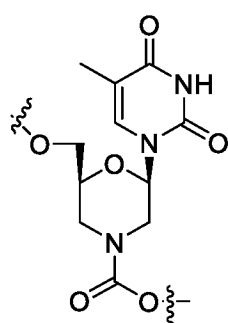
n013: $\text{O}=\overset{\text{w}}{\text{C}}-\overset{\text{z}}{\text{O}}$, где $-\text{C}(\text{O})-$ соединен с азотом;



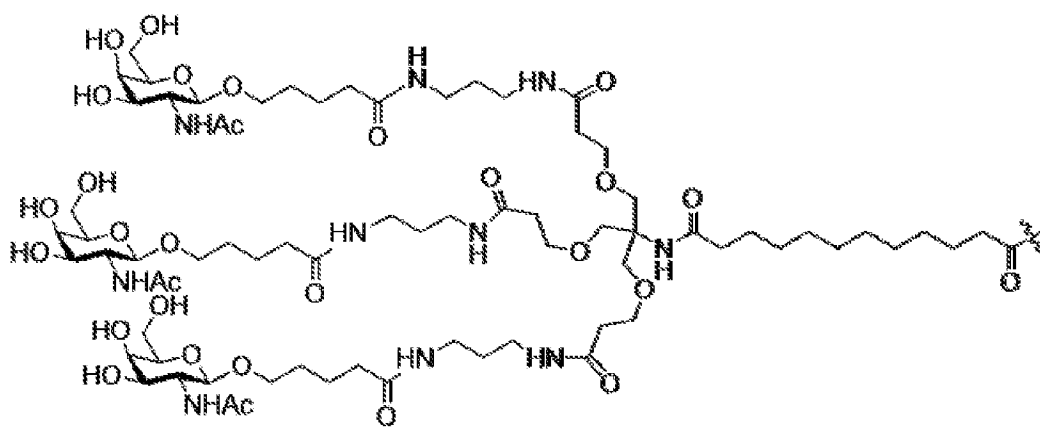
т. е. морфолинкарбаматная межнуклеотидная связь (sm01n013)



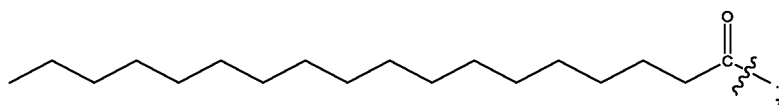
; Tsm01n013:



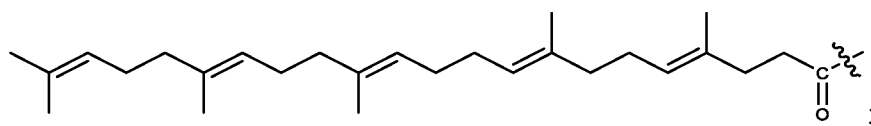
Mod001 или [GalNAc3C12oyl]:



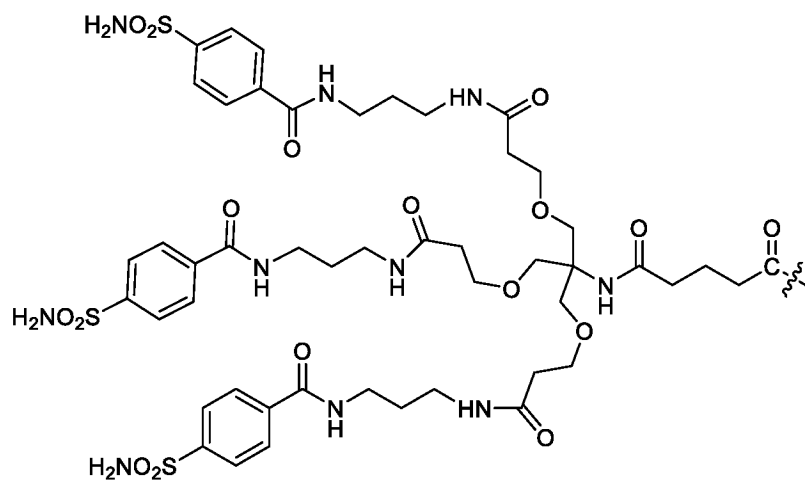
Mod015:



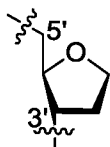
Mod020:



Mod029:



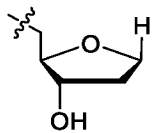
L001 или пС6о: линкер $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_6-$ (С6-линкер, С6-аминный линкер или С6-аминолинкер), соединенный с Mod (например, Mod001) посредством $-\text{NH}-$, и в случае, например, WV-38061, с 5'-концом олигонуклеотидной цепи посредством фосфатной связи (O или PO). Например, в WV-38061 L001 соединен с Mod001 посредством $-\text{NH}-$ (с образованием амидной группы $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$) и соединен с олигонуклеотидной цепью посредством фосфатной связи (O).



L010: . В некоторых вариантах осуществления, если L010 присутствует в середине олигонуклеотида, то он связан с межнуклеотидными связями как другие сахара

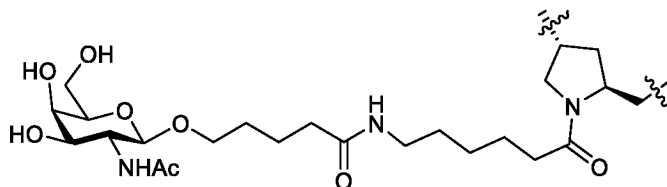
(например, сахара ДНК), например, его 5'-атом углерода соединен с другим звеном (например, 3'-атомом сахара), и его 3'-атом углерода соединен с другим звеном (например, 5'-атомом углерода сахара) независимо, например, посредством связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (Sp или Rp)));

L012: $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2-$. Если L012 присутствует в середине олигонуклеотида, то каждый из его двух концов независимо связан с межнуклеотидной связью (например, фосфатной связью (O или PO) или фосфотиоатной связью (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (Sp или Rp)));

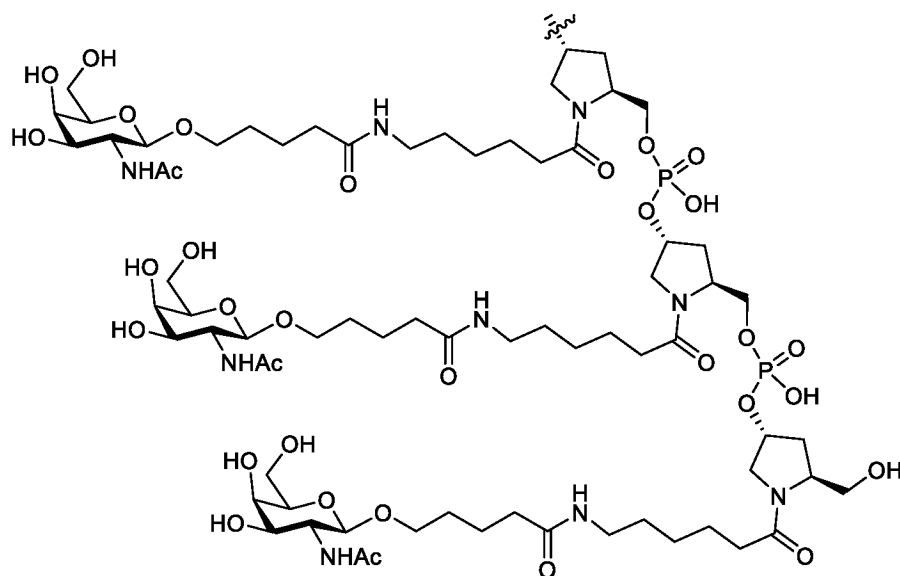


L022: OH , где L022 соединен с остальной частью молекулы посредством фосфата, если не указано иное;

L023: $\text{HO}-(\text{CH}_2)_6-$, где CH_2 соединен с остальной частью молекулы посредством фосфата, если не указано иное. Например, в WV-42644 (где O в OnRnRnRnRnSSSSSSSSSSSSSSSSSSSSnRnSSSSSSnRnSSnR указывает фосфатную связь, соединяющую L023 с остальной частью молекулы).

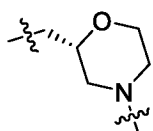


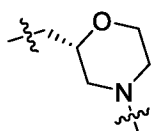
L025: $-\text{CH}_2-$, где сайт соединения $-\text{CH}_2-$ используется как сайт соединения C5 сахара (например, сахара ДНК) и соединен с другим звеном (например, 3'-атомом сахара), а сайт соединения на кольце используется как сайт соединения C3 и соединен с другим звеном (например, 5'-атомом углерода сахара), каждый из которых соединен независимо, например, посредством связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (Sp или Rp))). Если L025 находится на 5'-конце без каких-либо модификаций, то его сайт соединения $-\text{CH}_2-$ связан с $-\text{OH}$. Например, L025L025L025- в различных олигонуклеотидах имеет структуру

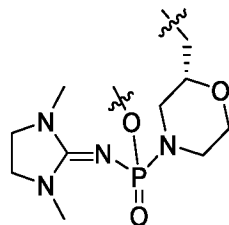


(может существовать в

различных солевых формах) и соединен с 5'-атомом углерода олигонуклеотидной цепи посредством указанной связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (*Sr* или *Rp*)));



L016: , где L016 соединен с остальной частью молекулы посредством фосфата, если не указано иное; L016 используется с p001 с образованием L016n001,



который характеризуется структурой

1.2.2. Значения длины двухнитевых олигонуклеотидов

Как понятно специалистам в данной области техники, ds-олигонуклеотиды могут иметь различную длину, чтобы обеспечивать требуемые свойства и/или виды активности для различных путей применения. Многие технологии для оценки, выбора и/или оптимизации длины ds-олигонуклеотидов доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением. Как показано в данном документе, в определенных вариантах осуществления длина представленных dsRNAi-олигонуклеотидов является подходящей для гибридизации с их мишенями и обеспечения снижения уровней их мишеней и/или кодируемого ими продукта. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид является достаточно длинным, чтобы распознавать нуклеиновую кислоту-мишень (например, мРНК-мишень). В определенных вариантах осуществления ds-

олигонуклеотид является достаточно длинным, чтобы различать нуклеиновую кислоту-мишень и другие нуклеиновые кислоты (например, нуклеиновую кислоту, имеющую последовательность оснований, которая не является последовательностью-мишенью) для снижения нецелевых эффектов. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид является достаточно коротким, чтобы снизить сложность его изготовления или получения и снизить стоимость продукта.

В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований ds-олигонуклеотида составляет приблизительно 10-500 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 10-500 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 10-50 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 15-50 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет от приблизительно 15 до приблизительно 30 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет от приблизительно 10 до приблизительно 25 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет от приблизительно 15 до приблизительно 22 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 18 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 19 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 20 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 21 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 22 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 23 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 24 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления длина последовательности оснований составляет приблизительно 25 нуклеиновых оснований. В определенных вариантах осуществления

каждое нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный А, Т, С, G, U или необязательно замещенный таутомер А, Т, С, G или U.

2.2.3. Межнуклеотидные связи

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды содержат модификации основания, модификации сахара и/или модификации межнуклеотидных связей. В соответствии с настоящим изобретением можно использовать различные межнуклеотидные связи для связывания звеньев, содержащих нуклеиновые основания, например нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды содержат как одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей, так и одну или несколько природных фосфатных связей. Как широко известно специалистам в данной области техники, природные фосфатные связи широко встречаются в молекулах природных ДНК и РНК; они имеют структуру $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})\text{O}-$, соединяют сахара в нуклеозидов в ДНК и РНК и могут находиться в различных солевых формах, например, при физиологическом рН (приблизительно 7,4) природные фосфатные связи преимущественно существуют в солевых формах, при этом анион представляет собой $-\text{OP}(\text{O})(\text{O}^-)\text{O}-$. Модифицированная межнуклеотидная связь или неприродная фосфатная связь представляет собой межнуклеотидную связь, которая не является природной фосфатной связью или ее солевой формой. Модифицированные межнуклеотидные связи, в зависимости от их структур, также могут находиться в своих солевых формах. Например, как понятно специалистам в данной области техники, фосфотиоатные межнуклеотидные связи, которые имеют структуру $-\text{OP}(\text{O})(\text{SH})\text{O}-$, могут находиться в различных солевых формах, например, при физиологическом рН (приблизительно 7,4), при этом анион представляет собой $-\text{OP}(\text{O})(\text{S}^-)\text{O}-$.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит межнуклеотидную связь, которая представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь, например фосфотиоатную, фосфодитиоатную, метилфосфонатную, фосфоамидатную, тиофосфатную, 3'-тиофосфатную или 5'-тиофосфатную.

В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой хиральную межнуклеотидную связь, которая содержит хиральный атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную связь. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь представляет собой

нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь характеризуется контролируемой хиральностью с точки зрения ее хирального атома фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь является стереохимически чистой с точки зрения ее хирального атома фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова содержит или состоит из положений межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью и конфигураций атома фосфора в составе связи (*Rp* или *Sp*), а также положений ахиральных межнуклеотидных связей (например, природных фосфатных связей).

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь содержит Р-модификацию, где Р-модификация представляет собой модификацию по атому фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фрагмент, который не содержит фосфор, но служит для связывания двух сахаров или двух фрагментов, каждый из которых независимо содержит нуклеиновое основание, например, как в пептидной нуклеиновой кислоте (PNA).

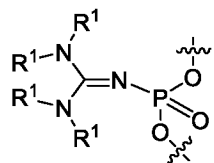
В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит модифицированную межнуклеотидную связь, например, связи, имеющие структуру формулы **I**, **I-a**, **I-b** или **I-c** и описанные в данном документе и/или в WO 2018/022473, WO 2018/098264, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом межнуклеотидные связи (например, формулы **I**, **I-a**, **I-b**, **I-c** и т. д.) из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой хиральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды содержат одну или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой положительно заряженную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная

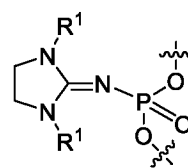
связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды, содержащие одну или несколько нейтральных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, имеет структуру формулы **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** и т. д. или ее солевой формы, как описано в данном документе и/или в US 9394333, US 9744183, US 9605019, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO2019/032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных, (например, формулы **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** и т. д. или их подходящая солевая форма) из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, может улучшать доставку и/или виды активности (например, активность редактирования аденозина).

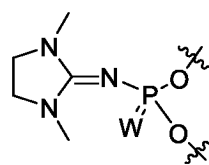
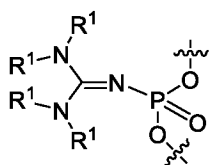
В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь (например, межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,) содержит необязательно замещенный триазолил. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь (например, межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,) содержит необязательно замещенный алкинил. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит триазольный или алкиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления триазольный фрагмент, например триазолильная группа, является необязательно замещенным. В определенных вариантах осуществления триазольный фрагмент, например триазолильная группа, является замещенным. В определенных вариантах осуществления триазольный фрагмент является незамещенным. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит необязательно замещенный циклический гуанидиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь характеризуется



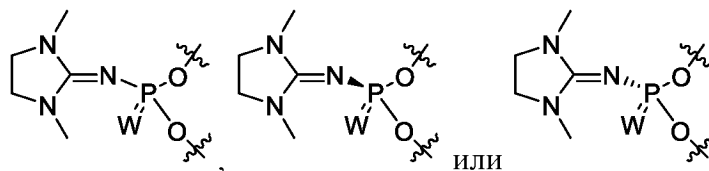
структурой и необязательно характеризуется контролируемой хиральностью, где R^1 представляет собой $-L-R'$, где L представляет собой L^B , как описано в данном документе, и R' является таким, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый R^1 независимо представляет собой R' . В определенных вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой R . В определенных вариантах осуществления два R^1 представляют собой R и взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления два R^1 при двух разных атомах азота представляют собой R и взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления R^1 независимо представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления R^1 представляет собой метил. В определенных вариантах осуществления два R' при одном и том же атоме азота представляют собой R и взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления модифицированная



межнуклеотидная связь характеризуется структурой и необязательно характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах



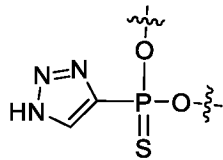
осуществления представляет собой . В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит необязательно замещенный циклический гуанидиновый фрагмент и характеризуется



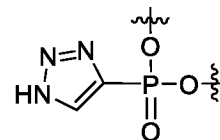
структурой , или , где W представляет собой O или S . В определенных вариантах осуществления W представляет собой O . В определенных вариантах осуществления W представляет собой S . В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой стереохимией.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от

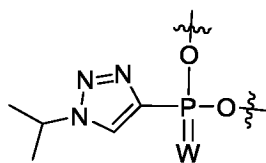
отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, содержащую триазольный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая триазольный фрагмент (например, необязательно замещенную триазолильную группу), характеризуется структурой



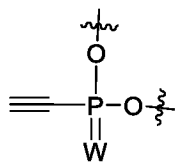
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь,



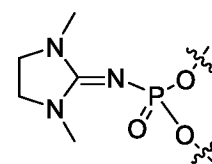
содержащая триазольный фрагмент, характеризуется структурой . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая триазольный



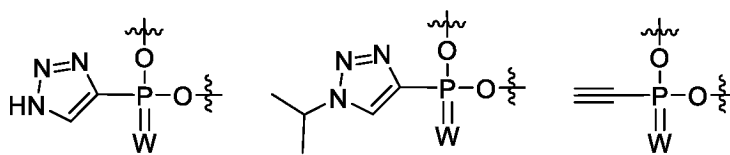
фрагмент, имеет формулу , где W представляет собой O или S. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая алкиновый фрагмент (например, необязательно замещенную алкинильную группу), имеет формулу



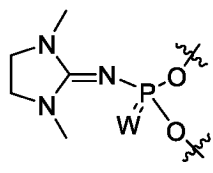
, где W представляет собой O или S. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, нейтральная межнуклеотидная связь, содержит циклический гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая



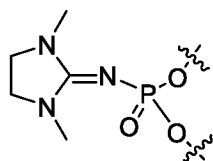
циклический гуанидиновый фрагмент, характеризуется структурой . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой или содержит



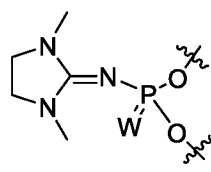
структуру, выбранную из , , или



, где W представляет собой O или S. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, нейтральная межнуклеотидная связь, содержит циклический гуанидиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая циклический гуанидиновый фрагмент, характеризуется структурой

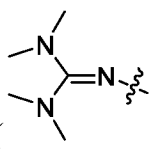


. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь

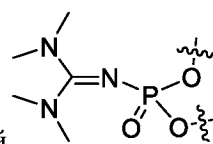


представляет собой или содержит структуру , где W представляет собой O или S.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь содержит группу



Tmg (). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь



содержит группу Tmg и характеризуется структурой ("межнуклеотидная связь Tmg"). В определенных вариантах осуществления нейтральные межнуклеотидные связи включают межнуклеотидные связи в составе PNA и PMO, а также межнуклеотидные связи Tmg.

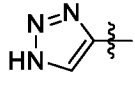
В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, имеет структуру формулы I, I-a, I-b, I-c, I-n-1, I-n-2, I-n-3, I-n-4, II, II-a-1, II-a-2, II-b-1, II-b-2, II-c-1, II-c-2, II-d-1, II-d-2 и т. д. или ее солевой формы. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 3-20-членную гетероциклическую или гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 3-20-членную

гетероциклическую или гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления такая гетероциклическая или гетероарильная группа представлена 5-членным кольцом. В определенных вариантах осуществления такая гетероциклическая или гетероарильная группа представлена 6-членным кольцом.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-6-членную гетероарильную группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-членную гетероарильную группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления гетероарильная группа непосредственно соединена с атомом фосфора в составе связи.

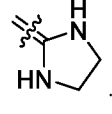
В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-6-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере два гетероатома представляют собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно

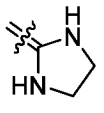
заряженной, содержит необязательно замещенную триазолильную группу. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

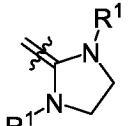
содержит незамещенную триазолильную группу, например . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

содержит замещенную триазолильную группу, например .

В определенных вариантах осуществления гетероциклильная группа непосредственно соединена с атомом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления гетероциклильная группа соединена с атомом фосфора в составе связи с помощью линкера, например =N⁻, если гетероциклильная группа является частью гуанидинового фрагмента, который непосредственно соединен с атомом фосфора в составе связи посредством своего =N⁻. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от

отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную группу . В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от

отрицательно заряженной, содержит замещенную группу . В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

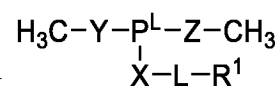
содержит группу , где каждый R¹ независимо представляет собой -L-R. В определенных вариантах осуществления каждый R¹ независимо представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил. В определенных вариантах осуществления каждый R¹ независимо представляет собой метил.

В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит триазольный или алкиновый фрагмент, каждый из которых является необязательно замещенным. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит триазольный фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит незамещенный триазольный фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит замещенный триазольный фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит алкильный

фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит необязательно замещенную алкинильную группу. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит незамещенную алкинильную группу. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит замещенную алкинильную группу. В определенных вариантах осуществления алкинильная группа непосредственно соединена с атомом фосфора в составе связи.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит разные типы межнуклеотидных фосфорных связей. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид с контролируемой хиральностью содержит по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере одну модифицированную (неприродную) межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере один фосфотиоат. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь и по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь, по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды содержат одну или несколько, например 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 или больше межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, не является отрицательно заряженной в том смысле, что при заданном рН в водном растворе менее 50%, 40%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% или 1% межнуклеотидных связей находится в форме отрицательно заряженной соли. В определенных вариантах осуществления рН составляет приблизительно рН 7,4. В определенных вариантах осуществления рН составляет приблизительно 4-9. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет менее 10%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет менее 5%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет менее 1%. В

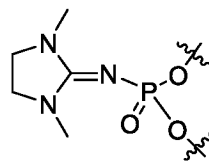
определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, в том смысле, что нейтральная форма межнуклеотидной связи характеризуется значением рКа, которое в воде составляет более приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 7 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 6 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 5 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 4 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 3 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 2 или меньше. В определенных вариантах осуществления значение рКа не составляет 1 или меньше. В определенных вариантах осуществления рКа нейтральной формы межнуклеотидной связи может быть представлена с помощью рКа нейтральной формы соединения, характеризующегося структурой CH_3 -межнуклеотидная связь- CH_3 . Например, рКа нейтральной формы межнуклеотидной связи, характеризующейся структурой формулы I, может быть представлена с помощью



рКа нейтральной формы соединения, характеризующегося структурой

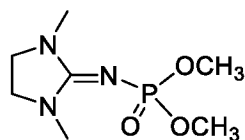
(где каждый из X, Y, Z независимо представляет собой $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{N}(\text{R}')-$; L представляет

собой L^{B} , и R^1 представляет собой $-\text{L}-\text{R}'$), рКа



может быть представлена с

помощью рКа



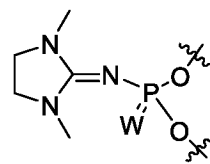
В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой положительно заряженную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит гуанидиновый фрагмент. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит гетероарильный основной фрагмент. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит триазольный фрагмент. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит

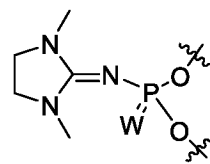
алкинильный фрагмент.

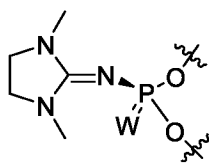
В определенных вариантах осуществления нейтральная или межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой любой нейтральной или межнуклеотидной связи, отличной от отрицательно заряженной, описанной в любом из: US 9394333, US 9744183, US 9605019, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO2019/032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612,2607, WO2019032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом каждая нейтральная или межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, из каждого из них включена в данный документ посредством ссылки.

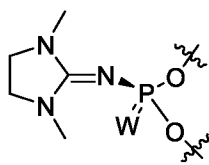
В определенных вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил. В определенных вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой -CH₃. В определенных вариантах осуществления каждый R^s представляет собой -H.

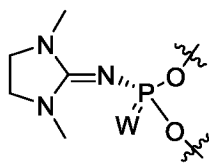
В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от

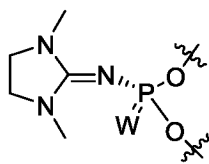


отрицательно заряженной, характеризуется структурой . В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

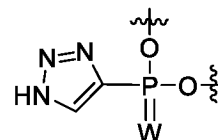


характеризуется структурой . В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется



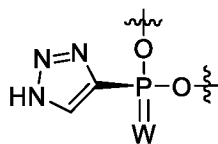
структурой . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная

связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой



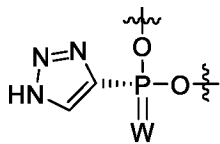
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно

заряженной, характеризуется структурой



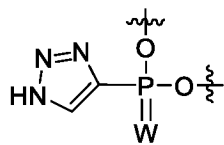
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

характеризуется структурой

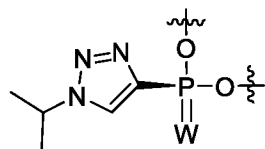


. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется

структурой

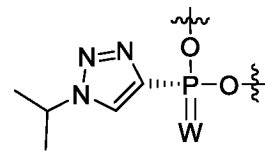


. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой



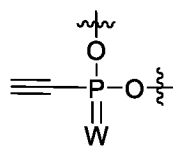
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь,

отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой



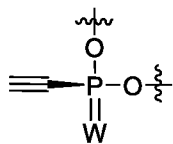
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно

заряженной, характеризуется структурой



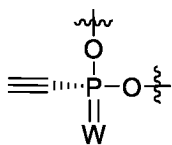
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,

характеризуется структурой



. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется

структурой



. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой O. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, описанную выше.

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды содержат 1 или больше межнуклеотидных связей формулы **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** или **II-d-2**, которые описаны в US 9394333, US 9744183, US 9605019, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO2019/032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612,2607, WO 2019032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом каждая формула **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** или **II-d-2** или их солевые формы независимо включены в данный документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит нейтральную межнуклеотидную связь и межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит нейтральную межнуклеотидную связь и межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, которая не представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит нейтральную межнуклеотидную связь и фосфотиоатную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, содержащий одну или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, и одну или несколько фосфотиоатных межнуклеотидных связей, где каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь в олигонуклеотиде независимо представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, содержащий одну или несколько нейтральных межнуклеотидных связей и одну или несколько фосфотиоатных межнуклеотидных связей, где каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь в ds-олигонуклеотиде независимо представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит по меньшей мере 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше фосфотиоатных межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, не характеризуется

контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления нейтральная межнуклеотидная связь не характеризуется контролируемой хиральностью.

Не вдаваясь в какую-либо конкретную теорию, в настоящем изобретении отмечают, что нейтральная межнуклеотидная связь может быть более гидрофобной, чем фосфотиоатная межнуклеотидная связь (PS), которая может быть более гидрофобной, чем природная фосфатная связь (PO). Как правило, в отличие от PS или PO, нейтральная межнуклеотидная связь несет меньший заряд. Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, в настоящем изобретении отмечается, что включение одной или нескольких нейтральных межнуклеотидных связей в состав ds-олигонуклеотида может приводить к увеличению способности ds-олигонуклеотидов поглощаться клеткой и/или ускользать от эндосом. Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, в настоящем изобретении отмечается, что включение одной или нескольких нейтральных межнуклеотидных связей можно использовать для модулирования температуры плавления дуплексов, образующихся между ds-олигонуклеотидом и его целевой нуклеиновой кислотой.

Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, в настоящем изобретении отмечают, что включение одной или нескольких межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, например нейтральных межнуклеотидных связей, в состав ds-олигонуклеотида может быть способно приводить к повышению способности ds-олигонуклеотида опосредовать функцию, такую как редактирование аденозина-мишени.

Как понятно специалистам в данной области техники, межнуклеотидные связи, такие как природные фосфатные связи и связи формул **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** или их солевые формы, как правило, соединяют два нуклеозида (которые могут быть либо природными, либо модифицированными), как описано в 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, WO2019032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом формулы **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** или их солевые формы из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки. Типичное соединение, как в природных ДНК и РНК, является таким, что межнуклеотидная связь образует связи с двумя сахарами (которые могут быть либо немодифицированными, либо

модифицированными, как описано в данном документе). Во многих вариантах осуществления, как показано в качестве примера в данном документе, межнуклеотидная связь образует связи посредством своих атомов кислорода или гетероатомов (например, Y и Z в различных формулах) с одной необязательно модифицированной рибозой или дезоксирибозой при ее 5'-атоме углерода и другой необязательно модифицированной рибозой или дезоксирибозой при ее 3'-атоме углерода. В определенных вариантах осуществления каждое нуклеозидное звено, соединенное межнуклеотидной связью, независимо содержит нуклеиновое основание, которое независимо представляет собой необязательно замещенный A, T, C, G или U, или замещенный таутомер A, T, C, G или U, или нуклеиновое основание, содержащее необязательно замещенное гетероциклическое и/или гетероарильное кольцо с по меньшей мере одним атомом азота.

В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-Y-P^L(-X-R^L)-Z-$ или его солевую форму, где:

P^L представляет собой P, P(=W), P \rightarrow B(-L^L-R^L)₃ или P^N;

W представляет собой O, N(-L^L-R^L), S или Se;

P^N представляет собой P=N-C(-L^L-R') (=L^N-R') или P=N-L^L-R^L;

L^N представляет собой =N-L^{L1}-, =CH-L^{L1}-, где CH является необязательно замещенным, или =N⁺(R')(Q⁻)-L^{L1}-;

Q⁻ представляет собой анион;

каждый из X, Y и Z независимо представляет собой -O-, -S-, -L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-, -L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L- или L^L;

каждый R^L независимо представляет собой -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, углевод или один или несколько дополнительных химических фрагментов, необязательно присоединенных с помощью линкера;

каждый из L^{L1} и L^L независимо представляет собой L;

-Su^{II}- представляет собой -Su-;

каждый L независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C₁₋₃₀алифатической группы и C₁₋₃₀гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из C₁-алкилена, C₁₋₆алкенилена, $-C\equiv C-$, двухвалентной C₁-C₆гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, -C(R')₂-, -Su-, -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')-,

$-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$,
 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}')-$,
 $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{NR}')-$,
 $-\text{P}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}')\text{O}-$,
 $-\text{OP}(\text{O})(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{R}')\text{O}-$,
 $-\text{OP}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]\text{O}-$ и $-\text{[C}(\text{R}')_2\text{C}(\text{R}')_2\text{O}]_n-$, где n равняется 1-50, и один или
несколько атомов азота или углерода необязательно и независимо заменены на Cu^{L} ;
каждый $-\text{Cu}-$ независимо представляет собой необязательно замещенное
двухвалентное 3-30-членное моноциклическое, бициклическое или
полициклическое кольцо, содержащее 0-10 гетероатомов;
каждый Cu^{L} независимо представляет собой необязательно замещенное
трехвалентное или четырехвалентное 3-30-членное моноциклическое,
бициклическое или полициклическое кольцо, содержащее 0-10 гетероатомов;
каждый R' независимо представляет собой $-\text{R}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}$ или
 $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$;
каждый R независимо представляет собой $-\text{H}$ или необязательно замещенную
группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической
группы, содержащей 1-10 гетероатомов, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы,
 C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, 5-30-
членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-30-членного
гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, или
две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной
связи, или
две или больше групп R при одном и том же атоме необязательно и независимо взяты
вместе с этим атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного
моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего в
дополнение к указанному атому 0-10 гетероатомов; или
две или больше групп R при двух или больше атомах необязательно и независимо
взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно
замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или
полициклического кольца, содержащего в дополнение к промежуточным атомам 0-
10 гетероатомов.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется
структурой $-\text{O}-\text{P}^{\text{L}}(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где каждая переменная независимо является такой, как
описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная

вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)[-N(-L^L-R^L)-R^L]-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)(-NH-L^L-R^L)-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)[-N(R^R)_2]-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)(-NHR^R)-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)(-NH-SO_2R)-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)[-N=C(-L^L-R^R)_2]-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)[-N=C[N(R^R)_2]_2]-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)(-N=C(R^R)_2)-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=W)(-N(R^R)_2)-O-$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой O . В некоторых вариантах осуществления W представляет собой S . В некоторых вариантах осуществления такая межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления такая межнуклеотидная связь представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления P в такой межнуклеотидной связи соединен с N в сахаре.

В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой фосфорилгуанидиновую межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой тиофосфорилгуанидиновую межнуклеотидную связь.

В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на фрагмент, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-SO_2-$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-SO_2N(R^R)-$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или

содержит $-C(O)-$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-C(O)O-$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-C(O)N(R')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=W)(R')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=O)(R')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=S)(R')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(R')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=W)(OR')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=O)(OR')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(=S)(OR')$. В некоторых вариантах осуществления L или L^L представляет собой или содержит $-P(OR')$.

В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')SO_2R^L$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')C(O)R^L$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')P(=O)(R')R^L$.

В некоторых вариантах осуществления связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь, характеризуется структурой или содержит $-P(=W)(-N=C(R'')_2)-$, $-P(=W)(-N(R')SO_2R'')$, $-P(=W)(-N(R')C(O)R'')$, $-P(=W)(-N(R'')_2)-$, $-P(=W)(-N(R')P(O)(R'')_2)-$, $-OP(=W)(-N=C(R'')_2)O-$, $-OP(=W)(-N(R')SO_2R'')O-$, $-OP(=W)(-N(R')C(O)R'')O-$, $-OP(=W)(-N(R'')_2)O-$, $-OP(=W)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, $-P(=W)(-N=C(R'')_2)O-$, $-P(=W)(-N(R')SO_2R'')O-$, $-P(=W)(-N(R')C(O)R'')O-$, $-P(=W)(-N(R'')_2)O-$ или $-P(=W)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$ или их солевую форму, где:

W представляет собой O или S;

каждый R'' независимо представляет собой R' , $-OR'$, $-P(=W)(R')_2$ или $-N(R')_2$;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-C(O)N(R)_2$, $-C(O)OR$ или $-S(O)_2R$;

каждый R независимо представляет собой H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, 5-30-членного гетероарила, содержащего 1-10 гетероатомов, и 3-30-членного гетероциклила, содержащего 1-10 гетероатомов, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или

две или больше групп R при одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с этим атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего в дополнение к указанному атому 0-10 гетероатомов; или

две или больше групп R при двух или больше атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего в дополнение к промежуточным атомам 0-10 гетероатомов.

В некоторых вариантах осуществления W представляет собой O. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N=C(R'')_2)-$, $-P(=O)(-N(R')SO_2R'')-$, $-P(=O)(-N(R')C(O)R'')-$, $-P(=O)(-N(R'')_2)-$, $-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)-$, $-OP(=O)(-N=C(R'')_2)O-$, $-OP(=O)(-N(R')SO_2R'')O-$, $-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O-$, $-OP(=O)(-N(R'')_2)O-$, $-OP(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, $-P(=O)(-N=C(R'')_2)O-$, $-P(=O)(-N(R')SO_2R'')O-$, $-P(=O)(-N(R')C(O)R'')O-$, $-P(=O)(-N(R'')_2)O-$ или $-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N=C(R'')_2)-$, $-P(=O)(-N(R'')_2)-$, $-OP(=O)(-N=C(R'')_2)O-$, $-OP(=O)(-N(R'')_2)O-$, $-P(=O)(-N=C(R'')_2)O-$ или $-P(=O)(-N(R'')_2)O-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N=C(R'')_2)O-$ или $-OP(=O)(-N(R'')_2)O-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N=C(R'')_2)O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N(R')SO_2R'')O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой n001.

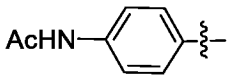
В некоторых вариантах осуществления W представляет собой S. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-N=C(R'')_2)-$, $-P(=S)(-N(R')SO_2R'')-$, $-P(=S)(-N(R')C(O)R'')-$, $-P(=S)(-N(R'')_2)-$, $-P(=S)(-N(R')P(O)(R'')_2)-$, $-OP(=S)(-N=C(R'')_2)O-$, $-OP(=S)(-N(R')SO_2R'')O-$, $-OP(=S)(-N(R')C(O)R'')O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой n001.

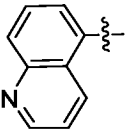
$-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'')\text{O}-$, $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)\text{O}-$, $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{P}(\text{O})(\text{R}'')_2)\text{O}-$,
 $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)\text{O}-$, $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$, $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'')\text{O}-$,
 $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)\text{O}-$ или $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{P}(\text{O})(\text{R}'')_2)\text{O}-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)-$ $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)-$, $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$, $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$,
 $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$ или $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$ или $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$ или их солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}=\text{C}(\text{R}'')_2)-\text{O}-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'')\text{O}-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой
 $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{P}(\text{O})(\text{R}'')_2)\text{O}-$ или его солевой формы. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой *n001.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{P}(=\text{O})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{P}(=\text{O})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{P}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{OP}(=\text{O})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-\text{OP}(=\text{S})(-\text{N}(\text{R}')\text{SO}_2\text{R}'')\text{O}-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' , например, в $-\text{N}(\text{R}')-$, представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R'' , например, в $-\text{SO}_2\text{R}''$, представляет собой R' , как описано в данном документе. В некоторых

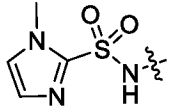
вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-NHSO_2R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHSO_2R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-NHSO_2R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHSO_2R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-NHSO_2R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-NHSO_2R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')SO_2R^L$, где каждый из R' и R^L независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой R'' . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой R' . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')SO_2R''$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')SO_2R'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHSO_2R'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R'' , например, в $-SO_2R''$, представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, арила, гетероциклила и гетероарила. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный

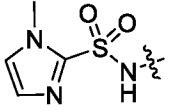
метил. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NH_2SO_2CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CF_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой n-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-(CH_2)_6NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенную линейную C_{2-20} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный линейный C_{2-20} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C_{2-20} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенную 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-} или C_{20} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный 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-} или C_{20} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный линейный 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-} или C_{20} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный 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-} или C_{20} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой p-метилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-диметиламинофенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления

R представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R

представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бензил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой

необязательно замещенный 1,3-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1-метил-2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-N(CH_3)$. В некоторых вариантах осуществления R'', например, в $-SO_2R''$, представляет собой $-OR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2R)O-$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный линейный алкил, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный алкил, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH_3)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH_2CH_3)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH_2CH_2OCH_3)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH_2Ph)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH_2CHF_2)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2(4\text{-метилфенил}))O-$. В

некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-X-R^L)O-$, где $-X-R^L$

представляет собой . В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2CH(CH_3)_2)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(=O)(-NH SO_2N(CH_3)_2)O-$.

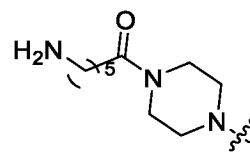
В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N(R')C(O)R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-N(R')C(O)R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N(R')C(O)R'')$, где R'' является таким, как описано в данном

документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-N(R')C(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N(R')C(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-N(R')C(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' , например, в $-N(R')$, представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-6} -алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой C_{1-6} -алкил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R'' , например, в $-C(O)R''$, представляет собой R' , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-NHC(O)R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHC(O)R'')$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-NHC(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHC(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-NHC(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-NHC(O)R'')O-$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')COR^L$, где R^L является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')COR''$, где R'' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')COR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHCOR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} -алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} -алкил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный

гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R", например, в $-C(O)R''$, представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C₁₋₆алифатической группы, арила, гетероциклила и гетероарила. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHC(O)CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CF_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_2CHF_2$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_2CH_2OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀алифатическую группу (например, C₁₋₆, C₂₋₆, C₃₋₆, C₁₋₁₀, C₂₋₁₀, C₃₋₁₀, C₂₋₂₀, C₃₋₂₀, C₁₀₋₂₀, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₂₀алкил (например, C₁₋₆, C₂₋₆, C₃₋₆, C₁₋₁₀, C₂₋₁₀, C₃₋₁₀, C₂₋₂₀, C₃₋₂₀, C₁₀₋₂₀, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную линейную C₂₋₂₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный линейный C₂₋₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C₂₋₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный линейный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет

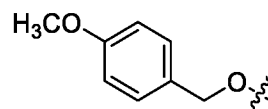
собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой p-метилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бензил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1,3-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1-метил-2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2)_5NH_2$. В некоторых

вариантах осуществления R^L представляет собой



. В некоторых

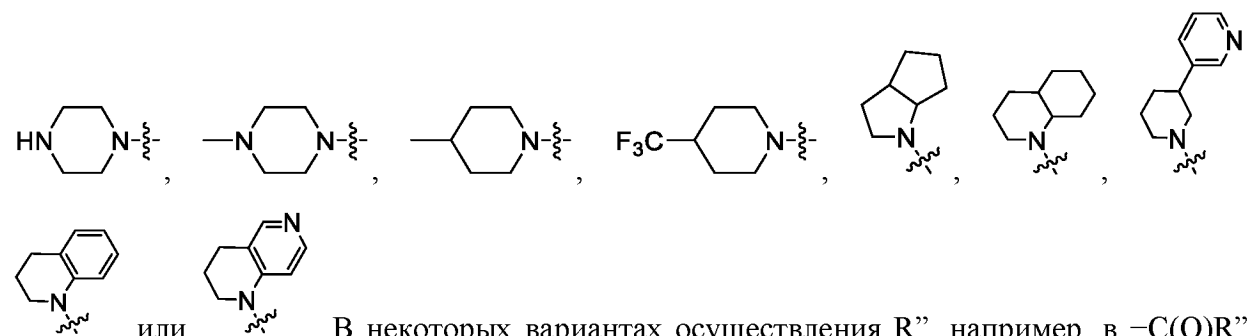
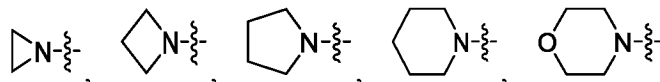
вариантах осуществления R^L представляет собой



. В некоторых

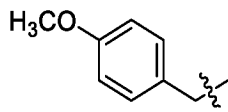
вариантах осуществления R'' представляет собой $-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-N(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')CON(R^L)_2$, где каждый из R' и R^L независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHCON(R^L)_2$, где R^L является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два R' или два R^L взяты вместе с атомом азота, к которому они присоединены, с образованием кольца, как описано в данном документе,

например необязательно замещенного



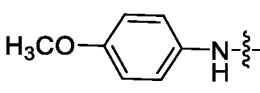
или . В некоторых вариантах осуществления R'' , например, в $-C(O)R''$, представляет собой $-OR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления

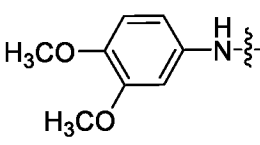
$-X-R^L$ представляет собой $-N(R')C(O)OR^L$, где каждый из R' и R^L независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R

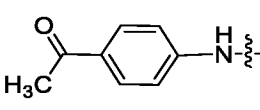


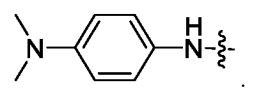
представляет собой $-NHC(O)OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHC(O)N(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(O)(NHC(O)CH_3)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(O)(NHC(O)OCH_3)O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(O)(NHC(O)(p\text{-метилфенил}))O-$. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой $-OP(O)(NHC(O)N(CH_3)_2)O-$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')R^L$, где каждый из R' и R^L независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')R^L$, где каждый из R' и R^L независимо не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHR^L$, где R^L является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный арил или гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный арил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')_2$, где каждый R' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-NHR$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой R^L , где R^L является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')_2$, где каждый R' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-NHR'$, где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-NHR$, где R является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')_2$, где каждый R' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления ни один из R' в $-N(R')_2$ не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')_2$, где каждый R' независимо

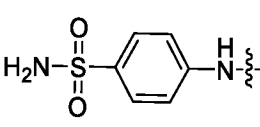
представляет собой C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-L-R'$, где каждый из L и R' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-L-R$, где каждый из L и R независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-N(R')-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-C(O)-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-O-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-SO_2-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-SO_2-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-C(O)-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-Cy-OP(O)(R'')_2$. В некоторых вариантах осуществления $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенную двухвалентную арильную группу. В некоторых вариантах осуществления $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенный фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-Cy-$ представляет собой необязательно замещенный 1,4-фенилен. В некоторых вариантах осуществления $-Cy-$ представляет собой 1,4-фенилен. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(i-Pr)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L

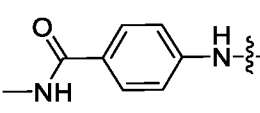
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

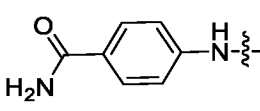
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

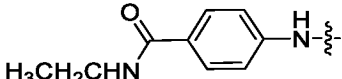
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

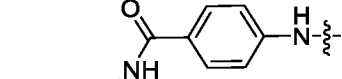
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

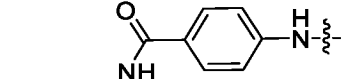
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

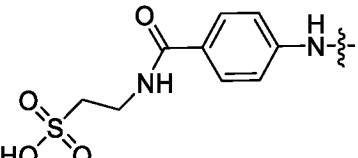
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

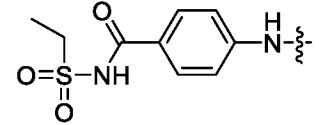
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

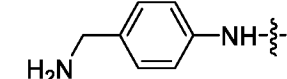
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

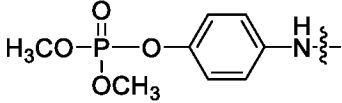
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

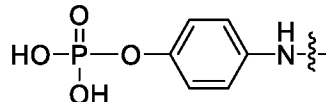
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

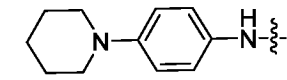
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

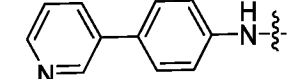
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

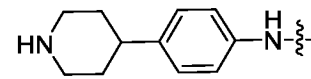
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

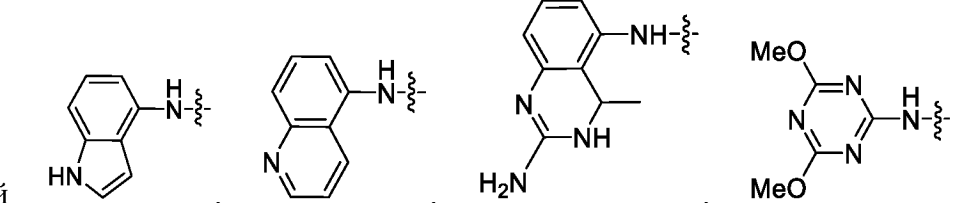
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

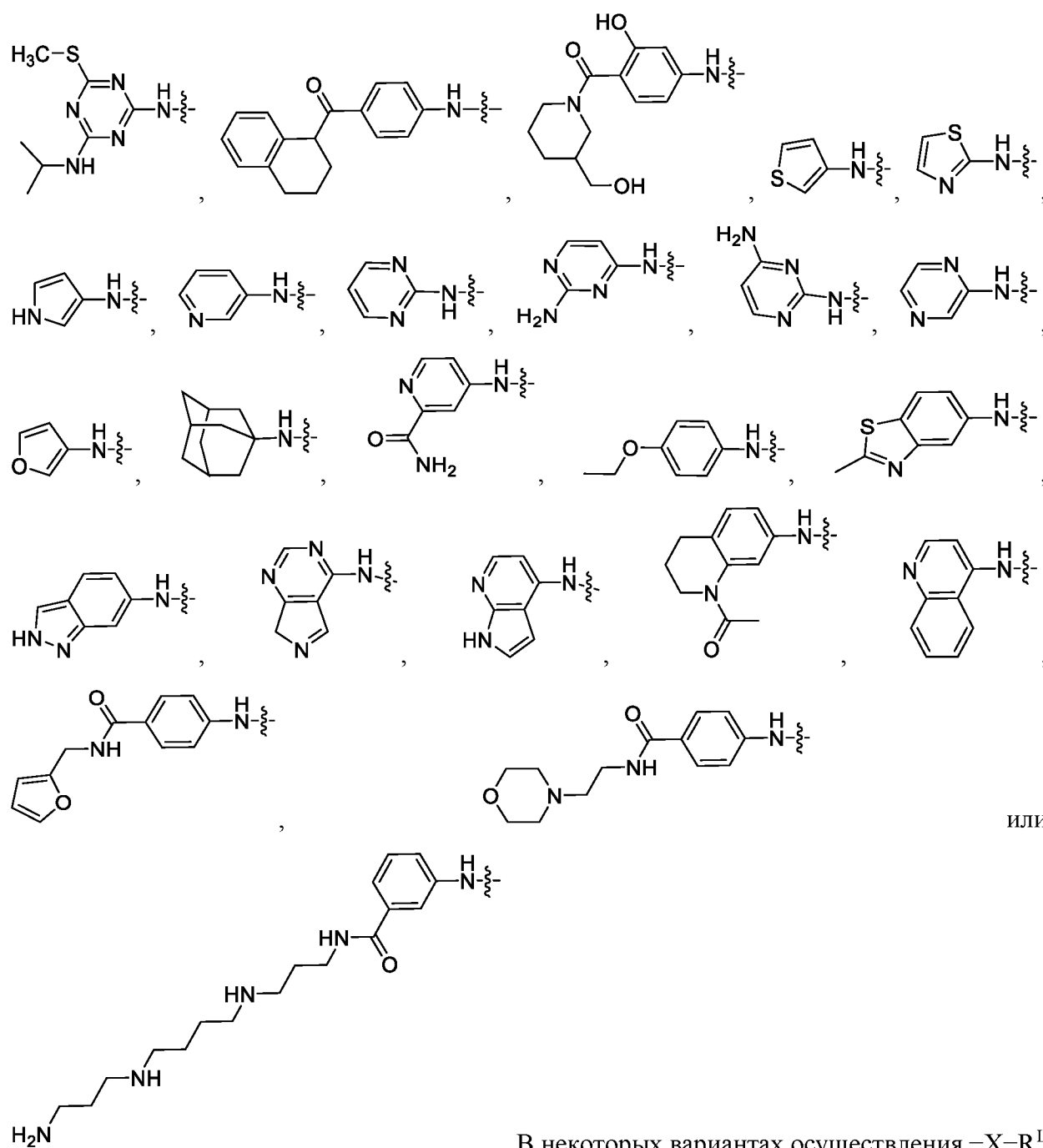
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^L

представляет собой  , , , ,



ИЛИ

В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-R^L$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой R^L . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-O-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-R'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-SO_2-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-N(R')-C(O)-Cy-C(O)-N(R')-SO_2-R'$. В некоторых вариантах

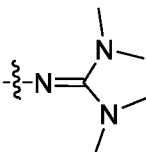
18-, 19- или 20-членную) гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10). В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ является моноциклическим. В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ является бициклическим. В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ является полициклическим. В некоторых вариантах осуществления каждое моноциклическое звено в $-Su-$ независимо является 3-10-членным (например, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9- или 10-членным) и независимо является насыщенным, частично насыщенным или ароматическим. В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ представляет собой необязательно замещенную 3-20-членную (например, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, 15-, 16-, 17-, 18-, 19- или 20-членную) моноциклическую, бициклическую или полициклическую алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления $-Su-$ представляет собой необязательно замещенную 3-20-членную (например, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, 15-, 16-, 17-, 18-, 19- или 20-членную) моноциклическую, бициклическую или полициклическую гетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10).

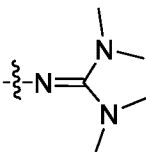
В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-N(R')P(O)(R'')_2)-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-N(R')P(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' , например, в $-N(R')-$, представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R'' , например, в $-P(O)(R'')_2$, представляет собой R' , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой

$-P(=O)(-NHP(O)(R'')_2)-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHP(O)(R'')_2)-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=O)(-NHP(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-P(=S)(-NHP(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=O)(-NHP(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-OP(=S)(-NHP(O)(R'')_2)O-$, где каждый R'' независимо является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления вариант R'', например, в $-P(O)(R'')_2$, представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C₁-алифатической группы, арила, гетероцикла и гетероарила. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁-алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁-алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁-алкенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁-алкинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CF_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_2CHF_2$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_2CH_2OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀алифатическую группу (например, C₁₋₆, C₂₋₆, C₃₋₆, C₁₋₁₀, C₂₋₁₀, C₃₋₁₀, C₂₋₂₀, C₃₋₂₀, C₁₀₋₂₀, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₂₀алкил (например, C₁₋₆, C₂₋₆, C₃₋₆, C₁₋₁₀, C₂₋₁₀, C₃₋₁₀, C₂₋₂₀, C₃₋₂₀, C₁₀₋₂₀, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную линейную C₂₋₂₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой

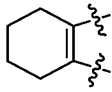
необязательно замещенный линейный C₂₋₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C₂₋₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный линейный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой линейный C₁₋, C₂₋, C₃₋, C₄₋, C₅₋, C₆₋, C₇₋, C₈₋, C₉₋, C₁₀₋, C₁₁₋, C₁₂₋, C₁₃₋, C₁₄₋, C₁₅₋, C₁₆₋, C₁₇₋, C₁₈₋, C₁₉₋ или C₂₀алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R'' независимо представляет собой R, как описано в данном документе, например, в некоторых вариантах осуществления каждый R'' представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой необязательно замещенный арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой п-метилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бензил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1,3-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1-метил-2-(1,3)-диазолил. В некоторых вариантах осуществления вариант R'' представляет собой -N(R')₂. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой -N(CH₃)₂. В некоторых вариантах осуществления вариант R'', например, в -P(O)(R'')₂, представляет собой -OR', где R' является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой -OCH₃. В некоторых вариантах осуществления каждый R'' представляет собой -OR', как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления каждый R'' представляет собой -OCH₃. В некоторых вариантах осуществления каждый R'' представляет собой -OH. В некоторых вариантах осуществления связь представляет собой -OP(O)(NHP(O)(OH)₂)O-. В некоторых вариантах

собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$

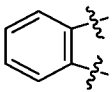


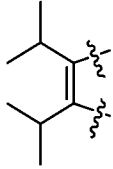
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления две группы, выбранные из R', R^L, R^{L1}, R^{L2} и т. д. (в некоторых вариантах осуществления при одном и том же атоме (например, $-N(R')$ ₂, или $-NR'R^L$, или $-N(R^L)$ ₂, где R' и R^L независимо могут представлять собой R, описанный в данном документе) и т. д.), или при разных атомах (например, двух R' в $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ или $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$; также могут быть две другие переменные, которые могут представлять собой R, например R^L, R^{L1}, R^{L2} и т. д.), независимо представляют собой R и взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием кольца, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два из R, R', R^L, R^{L1} или R^{L2} при одном и том же атоме, например, в $-N(R')$ ₂, $-N(R^L)$ ₂, $-NR'R^L$, $-NR'R^{L1}$, $-NR'R^{L2}$, $-CR'R^{L1}R^{L2}$ и т. д., взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления два R', R^L, R^{L1} или R^{L2} при двух разных атомах, например, двух R' в $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$, $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ и т. д., взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 3-20-членное (например, 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-членное и т. д.) моноциклическое, бициклическое или трициклическое кольцо, содержащее 0-5 дополнительных гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является моноциклическим, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 5-10-членное моноциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является бициклическим. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является полициклическим. В некоторых вариантах осуществления две группы, которые представляют собой или могут представлять собой R (например, два R' в $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$ или $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$, два R' в $-N=C(NR'R^L)(CR'R^{L1}R^{L2})$, $-N=C(NR'R^{L1})(NR'R^{L2})$ и т. д.), взяты вместе с образованием необязательно замещенной двухвалентной углеводородной цепи, например необязательно замещенной C₁₋₂₀алифатической цепи, необязательно замещенного $-(CH_2)_n-$, где n равняется 1-20 (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20). В некоторых вариантах осуществления углеводородная цепь является насыщенной. В

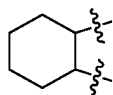
некоторых вариантах осуществления углеводородная цепь является частично ненасыщенной. В некоторых вариантах осуществления углеводородная цепь является ненасыщенной. В некоторых вариантах осуществления две группы, которые представляют собой или могут представлять собой R (например, два \mathbf{R}' в $-\text{N}=\text{C}(\text{NR}'\text{R}^{\text{L1}})(\text{CR}'\text{R}^{\text{L1}}\text{R}^{\text{L2}})$ или $-\text{N}=\text{C}(\text{NR}'\text{R}^{\text{L1}})(\text{NR}'\text{R}^{\text{L2}})$, два \mathbf{R}' в $-\text{N}=\text{C}(\text{NR}'\text{R}^{\text{L1}})(\text{CR}'\text{R}^{\text{L1}}\text{R}^{\text{L2}})$, $-\text{N}=\text{C}(\text{NR}'\text{R}^{\text{L1}})(\text{NR}'\text{R}^{\text{L2}})$ и т. д.), взяты вместе с образованием необязательно замещенной двухвалентной гетероалифатической цепи, например необязательно замещенной C_{1-20} гетероалифатической цепи, содержащей 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления гетероалифатическая цепь является насыщенной. В некоторых вариантах осуществления гетероалифатическая цепь является частично ненасыщенной. В некоторых вариантах осуществления гетероалифатическая цепь является ненасыщенной. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_4-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_5-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-(\text{CH}_2)_6-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный $-\text{CH}=\text{CH}-$. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой

необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления цепь

представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах

осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный . В некоторых

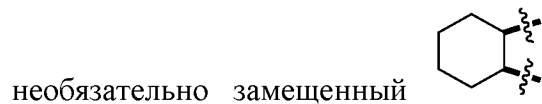
вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный



. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой необязательно



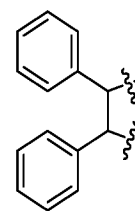
. В некоторых вариантах осуществления цепь представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления цепь



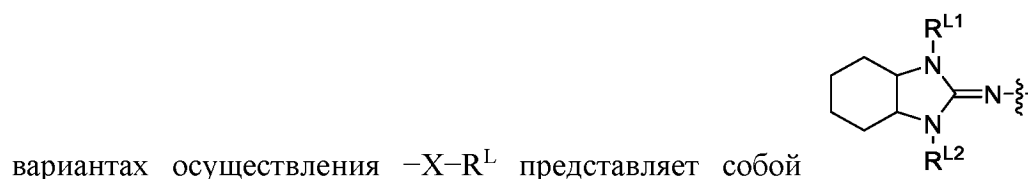
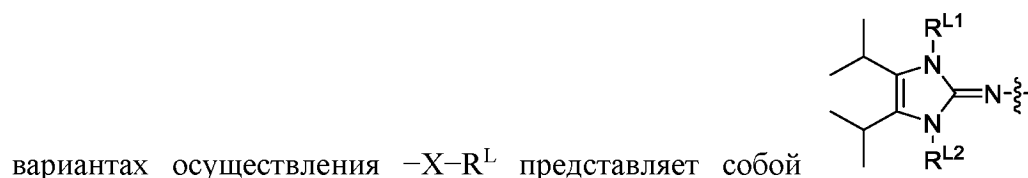
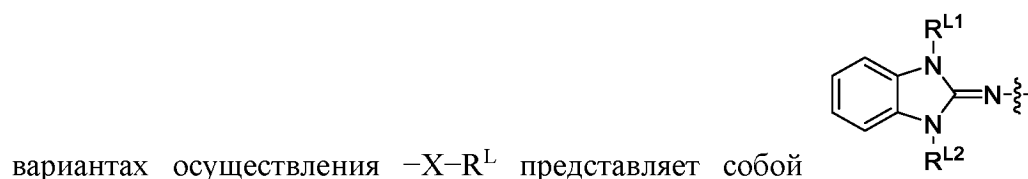
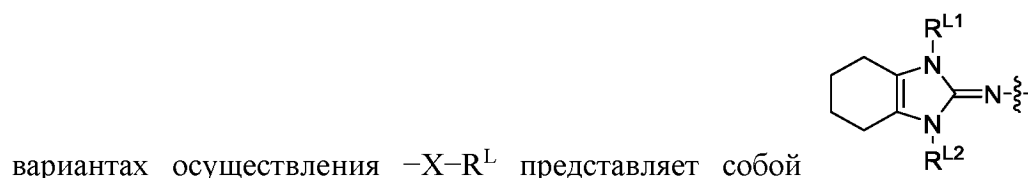
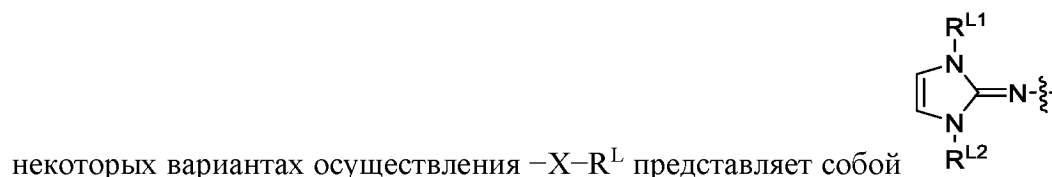
. В некоторых вариантах



осуществления цепь представляет собой необязательно замещенный . В

некоторых вариантах осуществления два из R, R', R^L, R^{L1}, R^{L2} и т. д. при разных атомах

взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе. Например, в

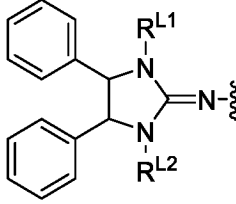


вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой  . В некоторых


вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой  . В некоторых


вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой  . В некоторых

вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой  . В некоторых

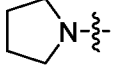
вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой  . В некоторых

вариантах осуществления $-N(R')_2$, $-N(R)_2$, $-N(R^L)_2$, $-NR'R^L$, $-NR'R^{L1}$, $-NR'R^{L2}$, $-NR^{L1}R^{L2}$ и т. д. представляют собой образованное кольцо. В некоторых вариантах осуществления

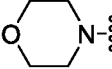
кольцо представляет собой необязательно замещенный  . В некоторых вариантах

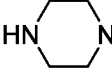
осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный  . В

некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно

замещенный  . В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой

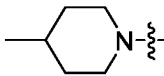
необязательно замещенный  . В некоторых вариантах осуществления кольцо

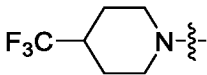
представляет собой необязательно замещенный  . В некоторых вариантах

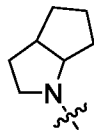
осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный  . В

некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно

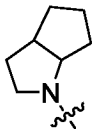
замещенный . В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет

собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления

кольцо представляет собой необязательно замещенный . В некоторых

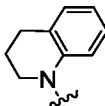
вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный .

В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно

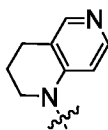
замещенный . В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой

необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления кольцо

представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах

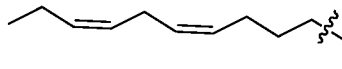
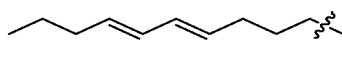
осуществления кольцо представляет собой необязательно замещенный . В

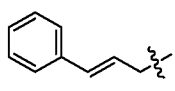
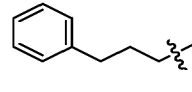
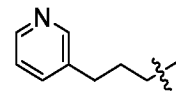
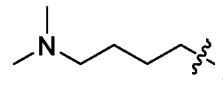
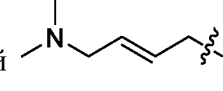
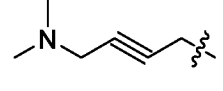
некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой необязательно

замещенный .

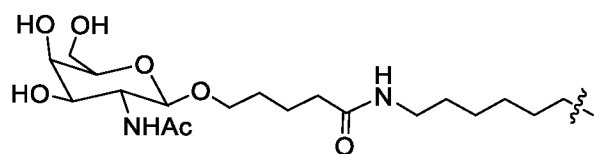
В некоторых вариантах осуществления R^{L1} и R^{L2} являются одинаковыми. В некоторых вариантах осуществления R^{L1} и R^{L2} являются разными. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{L1} и R^{L2} независимо представляет собой R^L , описанный в данном документе, например, ниже.

В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенную C_{1-30} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный C_{1-30} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^L является линейным. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный линейный C_{1-30} алкил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В

некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой *n*-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой *n*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой трет-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой (E)- $\text{CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой (Z)- $\text{CH}_2\text{-CH=CH-CH}_2\text{-CH}_3$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{C}\equiv\text{CC}\equiv\text{C}(\text{CH}_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{C}\equiv\text{C}-$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный арил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой фенил, замещенный одним или несколькими галогенами. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой фенил, необязательно замещенный галогеном, $-\text{N}(\text{R}')$ или $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{R}'$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой фенил, необязательно замещенный $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{F}$, $-\text{N}(\text{Me})_2$ или $-\text{NHCOCH}_3$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-\text{L}^L-\text{R}'$, где L^L представляет собой необязательно замещенную насыщенную, частично ненасыщенную или ненасыщенную C_{1-20} углеводородную цепь. В некоторых вариантах осуществления такая углеводородная цепь является линейной. В некоторых вариантах осуществления такая углеводородная цепь является незамещенной. В некоторых вариантах осуществления L^L представляет собой (E)- $\text{CH}_2\text{-CH=CH}-$. В некоторых вариантах осуществления L^L представляет собой $-\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{C-CH}_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^L представляет собой $-(\text{CH}_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления L^L представляет собой $-(\text{CH}_2)_4-$. В некоторых вариантах осуществления L^L представляет собой $-(\text{CH}_2)_n-$, где *n* равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный арил, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный гетероарил, описанный в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой 2'-пиридирил. В некоторых вариантах

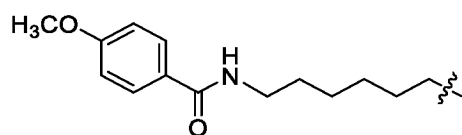
осуществления R' представляет собой 3'-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-L^L-N(R')_2$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой C_{1-6} алифатическую группу, описанную в данном документе. В некоторых вариантах осуществления $-N(R')_2$ представляет собой $-N(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления $-N(R')_2$ представляет собой $-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2)_n-N(R')_2$, где n равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-N(R')_2$, где n равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2)_n-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-R'$, где n равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2CH_3$, где n равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2OH$, где n равняется 1-30 (например, 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 или 30 и т. д.). В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой или содержит углеводный фрагмент, например GalNAc. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой

$-L^L-GalNAc$. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой

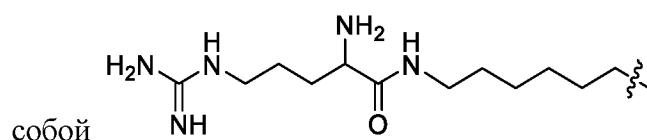


. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев в L^L независимо заменены на $-Su-$ (например, необязательно замещенный 1,4-фенилен, 3-30-членное двухвалентное необязательно замещенное моноциклическое, бициклическое или полициклическое циклоалифатическое кольцо и т. д.), $-O-$, $-N(R')$ (например, $-NH-$), $-C(O)-$, $-C(O)N(R')$ (например, $-C(O)NH-$), $-C(NR')$ (например, $-C(NH)-$), $-N(R')C(O)(N(R'))$ (например, $-NHC(O)NH-$), $-N(R')C(NR')(N(R'))$ (например, $-NHC(NH)NH-$), $-(CH_2CH_2O)_n-$ и т. д.

Например, в некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой

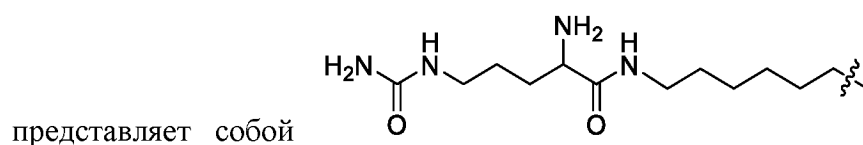


. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет



собой

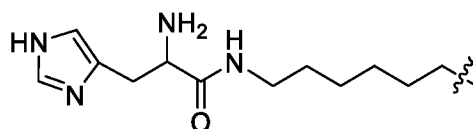
. В некоторых вариантах осуществления R^L



представляет собой

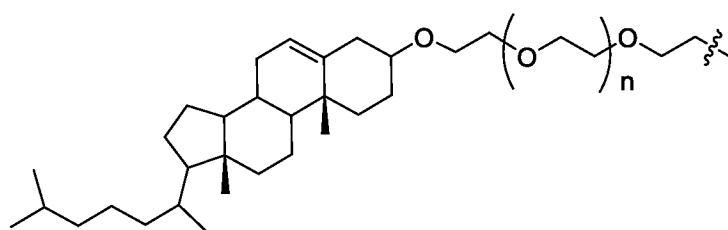
. В некоторых вариантах

осуществления R^L представляет собой
вариантах осуществления R^L представляет собой



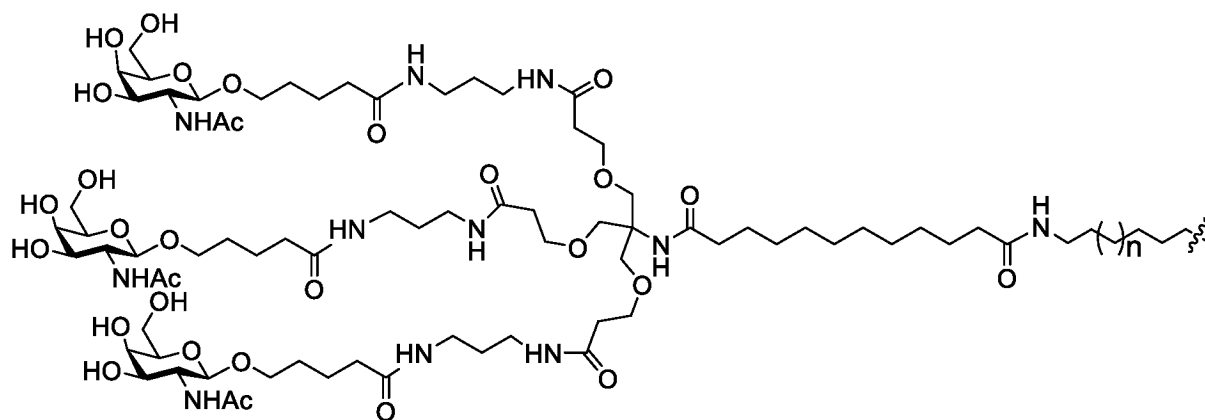
. В некоторых



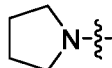
вариантах осуществления R^L представляет собой

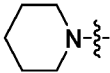
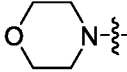
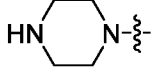
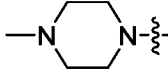
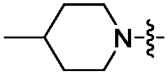
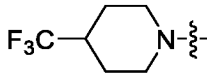
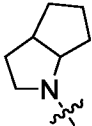
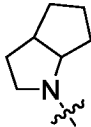
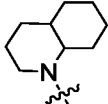
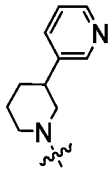
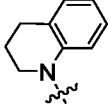
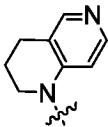
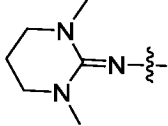


, где n равняется 0-20. В некоторых

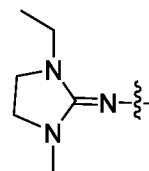
вариантах осуществления R^L представляет собой или содержит один или несколько дополнительных химических фрагментов (например, углеводных фрагментов, фрагментов GalNAc и т. д.), необязательно замещенных, присоединенных с помощью линкера (который может быть двухвалентным или многовалентным). Например, в некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой



где n равняется 0-20. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой $H_2N-CH_2-(CH_2)_n-N(CH_2)_2$, где n равняется 0-20. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой R' , как описано в данном документе. Как описано в данном документе, многие переменные независимо могут представлять собой R' . В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R , как описано в данном документе. Как описано в данном документе, различные переменные независимо могут представлять собой R . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероциклил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-20} гетероциклил, содержащий 1-5 гетероатомов, например, один из которых представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный .

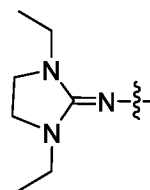
необязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой обязательно замещенный . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В

некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой



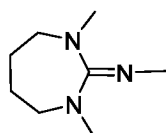
. В некоторых

вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой



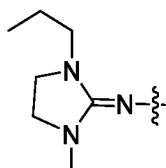
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



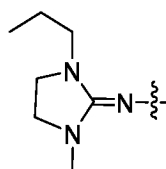
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



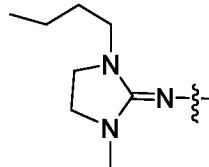
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



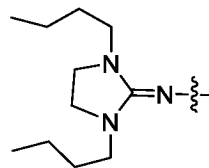
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



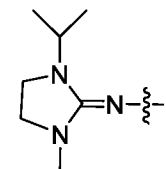
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



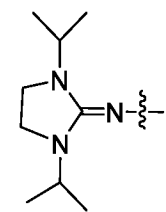
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой

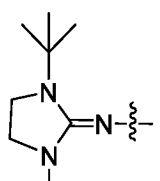


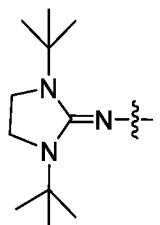
. В некоторых вариантах

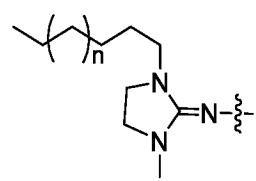
осуществления $-X-R^L$ представляет собой

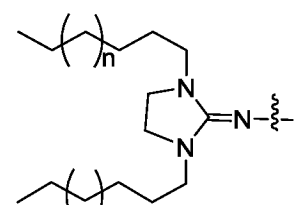


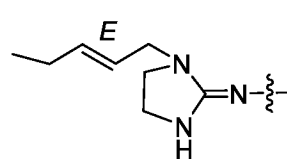
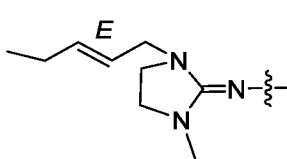
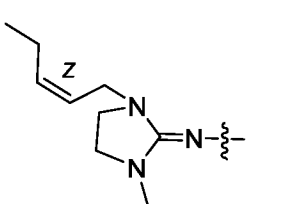
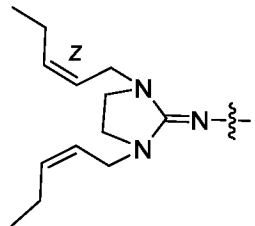
. В некоторых вариантах

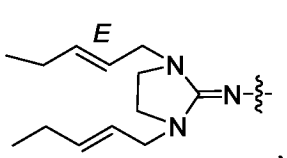
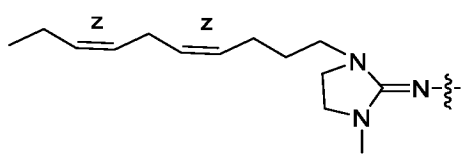
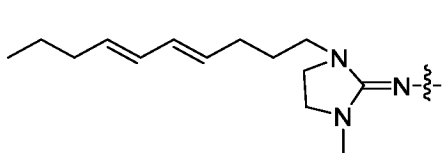
осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

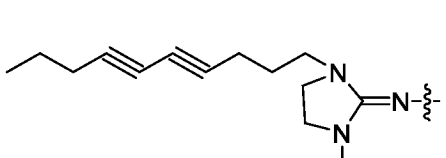
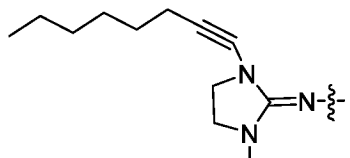
осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой , где n равняется 1-20. В

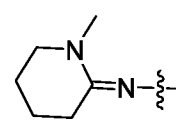
некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой , где n равняется 1-20. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ выбран из

, , , ,

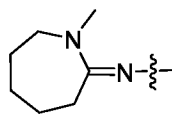
, , ,

 и . В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой R'' , как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L представляет собой R , как описано в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления R'' или R^L представляет собой или содержит дополнительный химический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R'' или R^L представляет собой или содержит дополнительный химический фрагмент, где дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит углеводный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R'' или R^L представляет собой или содержит $GalNAc$. В некоторых вариантах осуществления R^L или R'' заменен на дополнительный химический фрагмент или используется для соединения с ним.

В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-S-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-L^L-N(-L^L-R^L)-L^L-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-N(-L^L-R^L)-L^L-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-L^L-N(-L^L-R^L)-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-N(-L^L-R^L)-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-L^L-N=C(-L^L-R^L)-L^L-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-N=C(-L^L-R^L)-L^L-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-L^L-N=C(-L^L-R^L)-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой $-N=C(-L^L-R^L)-$. В некоторых вариантах осуществления X представляет собой L^L . В некоторых вариантах осуществления X представляет собой ковалентную связь.

В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления Y представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-O-$. В некоторых вариантах осуществления Z представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R

представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил.

Как описано в данном документе, различные переменные в структурах в настоящем изобретении могут представлять собой или содержать R. Подходящие варианты осуществления R подробно описаны в настоящем изобретении. Как понятно специалистам в данной области техники, варианты осуществления R, описанные для переменной, которая может представлять собой R, также могут быть применимы к другой переменной, которая может представлять собой R. Подобным образом, варианты осуществления, описанные для компонента/фрагмента (например, L) переменной, также могут быть применимы к другим переменным, которые могут представлять собой или содержать компонент/фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой R'. В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-N(R')_2$.

В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-SH$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-OH$.

В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N(R')_2$. В некоторых вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой $-OP(=O)(-N=C((N(R')_2)_2)-O-$. В некоторых вариантах осуществления группа R' одного $N(R')_2$ представляет собой R, группа R' другого $N(R')_2$ представляет собой R, и две группы R взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного кольца, например 5-членного кольца, как в п001. В некоторых вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой R, где каждый R независимо представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу.

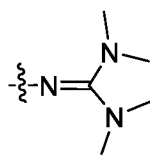
В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N=C(-L^L-R')_2$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N=C(-L^{L1}-L^{L2}-L^{L3}-R')_2$, где каждый из L^{L1} , L^{L2} и L^{L3} независимо представляет собой L'', где каждый L'' независимо представляет собой ковалентную связь или двухвалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-10} алифатической группы и C_{1-10} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алкилена, C_{1-6} алкенилена, $-C\equiv C-$, двухвалентной C_{1-}

С₆гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, $-P(OR')[B(R')_3]-$, $-OP(O)(OR')O-$, $-OP(O)(SR')O-$, $-OP(O)(R')O-$, $-OP(O)(NR')O-$, $-OP(OR')O-$, $-OP(SR')O-$, $-OP(NR')O-$, $-OP(R')O-$ или $-OP(OR')[B(R')_3]O-$, и при этом один или несколько атомов азота или углерода необязательно и независимо заменены на Cy^L . В некоторых вариантах осуществления L^{L2} представляет собой $-Cy-$. В некоторых вариантах осуществления L^{L1} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{L3} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой $-N=C(-L^{L1}-Cy-L^{L3}-R')$. В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой [OB] . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой [OB] . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой [OB] . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой [OB] . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой [OB] .

В некоторых вариантах осуществления, используемых в настоящем изобретении, L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы и C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алкилена, C_{1-6} алкенилена, $-C\equiv C-$, двухвалентной C_{1-6} гетероалифатической группы, содержащей 1-5 гетероатомов, $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$, $-C(O)O-$, $-P(O)(OR')-$, $-P(O)(SR')-$, $-P(O)(R')-$, $-P(O)(NR')-$, $-P(S)(OR')-$, $-P(S)(SR')-$, $-P(S)(R')-$, $-P(S)(NR')-$, $-P(R')-$, $-P(OR')-$, $-P(SR')-$, $-P(NR')-$, $-P(OR')[B(R')_3]-$, $-OP(O)(OR')O-$, $-OP(O)(SR')O-$, $-OP(O)(R')O-$, $-OP(O)(NR')O-$, $-OP(OR')O-$, $-OP(SR')O-$, $-OP(NR')O-$, $-OP(R')O-$ или $-OP(OR')[B(R')_3]O-$, и при этом один или несколько атомов азота или углерода необязательно и независимо заменены на Cy^L . В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы и C_{1-30} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, где одно или несколько

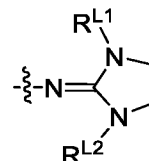
метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{C}(\text{R}')_2-$, $-\text{C}_y-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{S})-$, $-\text{C}(\text{NR}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{R}')\text{O}-$ или $-\text{OP}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]\text{O}-$, и при этом один или несколько атомов азота или углерода необязательно и независимо заменены на C_y^{L} . В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-10} алифатической группы и C_{1-10} гетероалифатической группы, содержащей 1-10 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{C}(\text{R}')_2-$, $-\text{C}_y-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{S})-$, $-\text{C}(\text{NR}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{O})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{S})(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{R}')-$, $-\text{P}(\text{OR}')-$, $-\text{P}(\text{SR}')-$, $-\text{P}(\text{NR}')-$, $-\text{P}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{R}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{O})(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{OR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{SR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{NR}')\text{O}-$, $-\text{OP}(\text{R}')\text{O}-$ или $-\text{OP}(\text{OR}')[\text{B}(\text{R}')_3]\text{O}-$, и при этом один или несколько атомов азота или углерода необязательно и независимо заменены на C_y^{L} . В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев необязательно и независимо заменены на необязательно замещенную группу, выбранную из $-\text{C}\equiv\text{C}-$, $-\text{C}(\text{R}')_2-$, $-\text{C}_y-$, $-\text{O}-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}-\text{S}-$, $-\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{S})-$, $-\text{C}(\text{NR}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{N}(\text{R}')\text{C}(\text{O})\text{O}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}')-$, $-\text{C}(\text{O})\text{S}-$ или $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$.

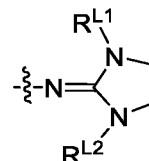
В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой фосфорилгуанидиновую межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ представляет собой $-\text{N}=\text{C}[\text{N}(\text{R}')_2]_2$. В некоторых вариантах осуществления каждый R' независимо представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах



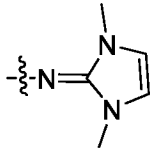
осуществления $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ представляет собой $\text{N}=\text{C}[\text{N}(\text{R}')_2]_2$. В некоторых вариантах осуществления один R' при атоме азота взят с R' при другом атоме азота с образованием

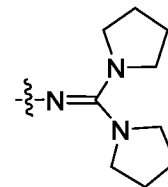
кольца, как описано в данном документе.

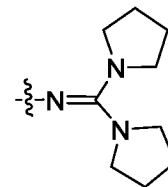


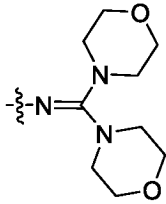
В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой , где R^1 и R^2 независимо представляют собой R' . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$

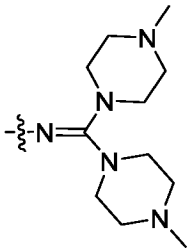
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$

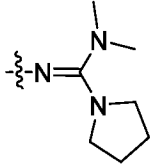
представляет собой . В некоторых вариантах осуществления два R' при одном и том же атоме азота взяты вместе с образованием кольца, как описано в данном документе.

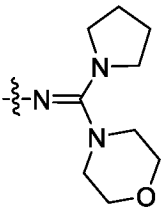


В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В

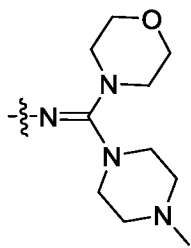
некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых

вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых

вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

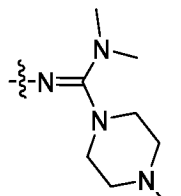
осуществления $-X-R^L$ представляет собой . В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



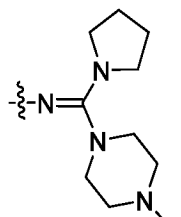
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



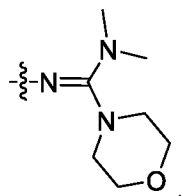
. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой



. В некоторых вариантах

осуществления $-X-R^L$ представляет собой

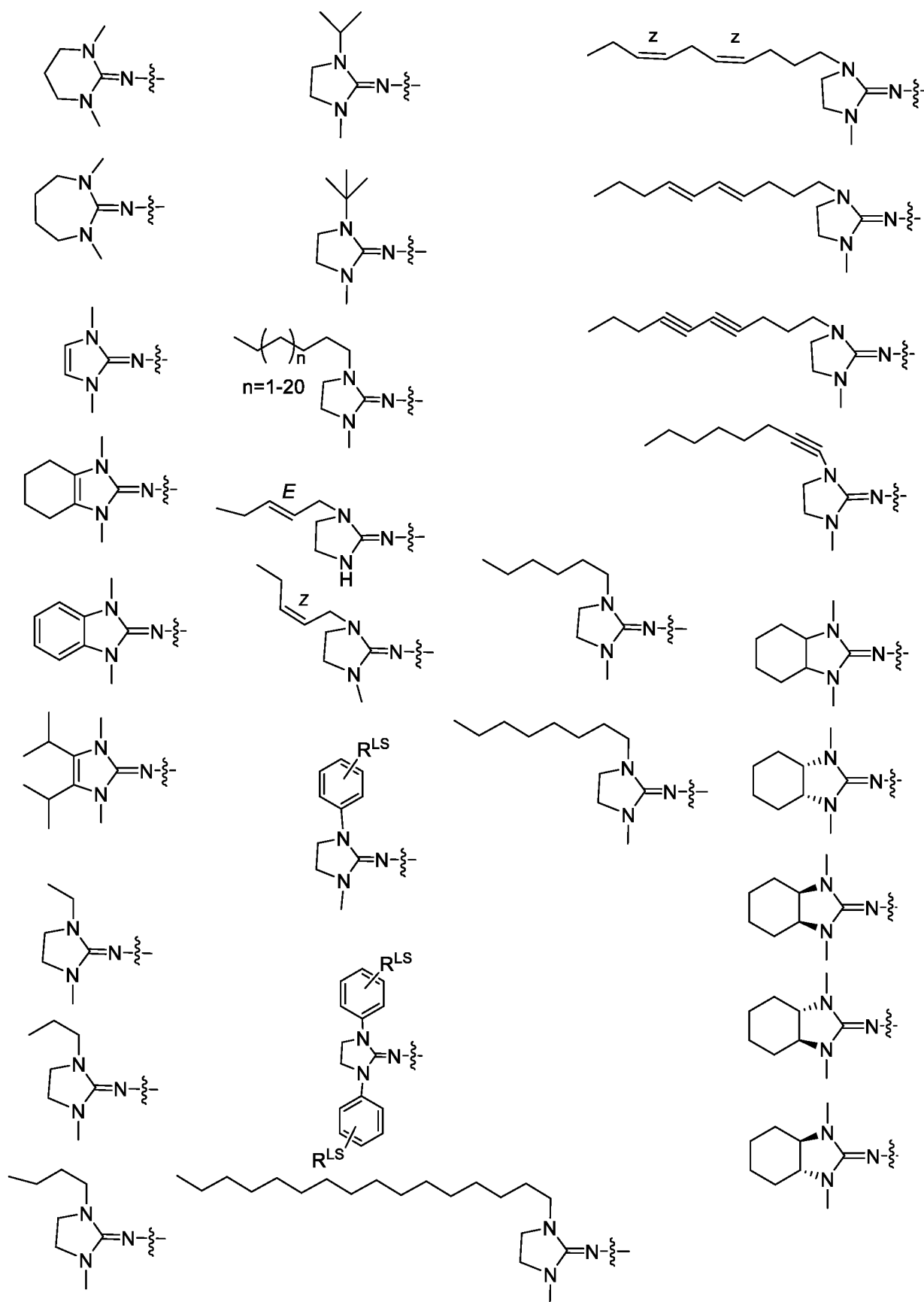


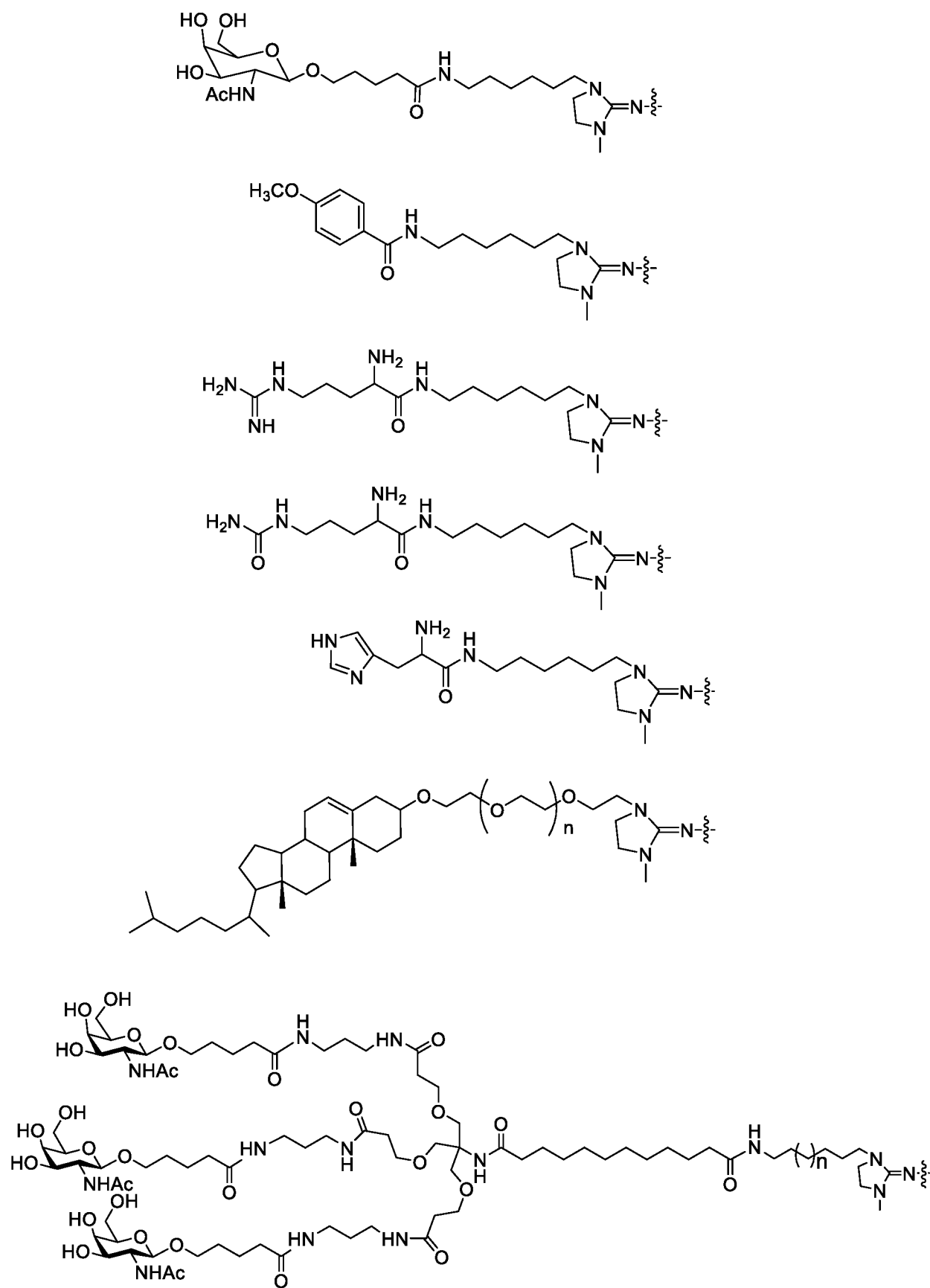
В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ представляет собой R, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R не представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления $-X-R^L$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления X является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления R^L является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой $-Y-P^L(-X-R^L)-Z-$, где $-X-R^L$ выбран из таблиц ниже, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-P(O)(-X-R^L)-$, где $-X-R^L$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-P(S)(-X-R^L)-$, где $-X-R^L$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-P(-X-R^L)-$, где $-X-R^L$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит

$-\text{O}-\text{P}(\text{O})(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-\text{O}-\text{P}(\text{S})(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой или содержит $-\text{O}-\text{P}(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой $-\text{O}-\text{P}(\text{S})(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления связь характеризуется структурой $-\text{O}-\text{P}(-\text{X}-\text{R}^{\text{L}})-\text{O}-$, где $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$ выбран из таблиц ниже. В некоторых вариантах осуществления в таблицах ниже, n равняется 0-20 или является таким, как описано в данном документе.

Таблица L-1. Некоторые применимые фрагменты соединены с атомом фосфора в составе связи (например, $-\text{X}-\text{R}^{\text{L}}$).





, где каждый R^{LS} независимо представляет собой R^{S} . В некоторых вариантах осуществления каждый R^{LS} независимо представляет собой $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{F}$, $-\text{N}(\text{Me})_2$ или $-\text{NHCOCH}_3$.

Таблица L-2. Некоторые применимые фрагменты соединены с атомом фосфора в составе

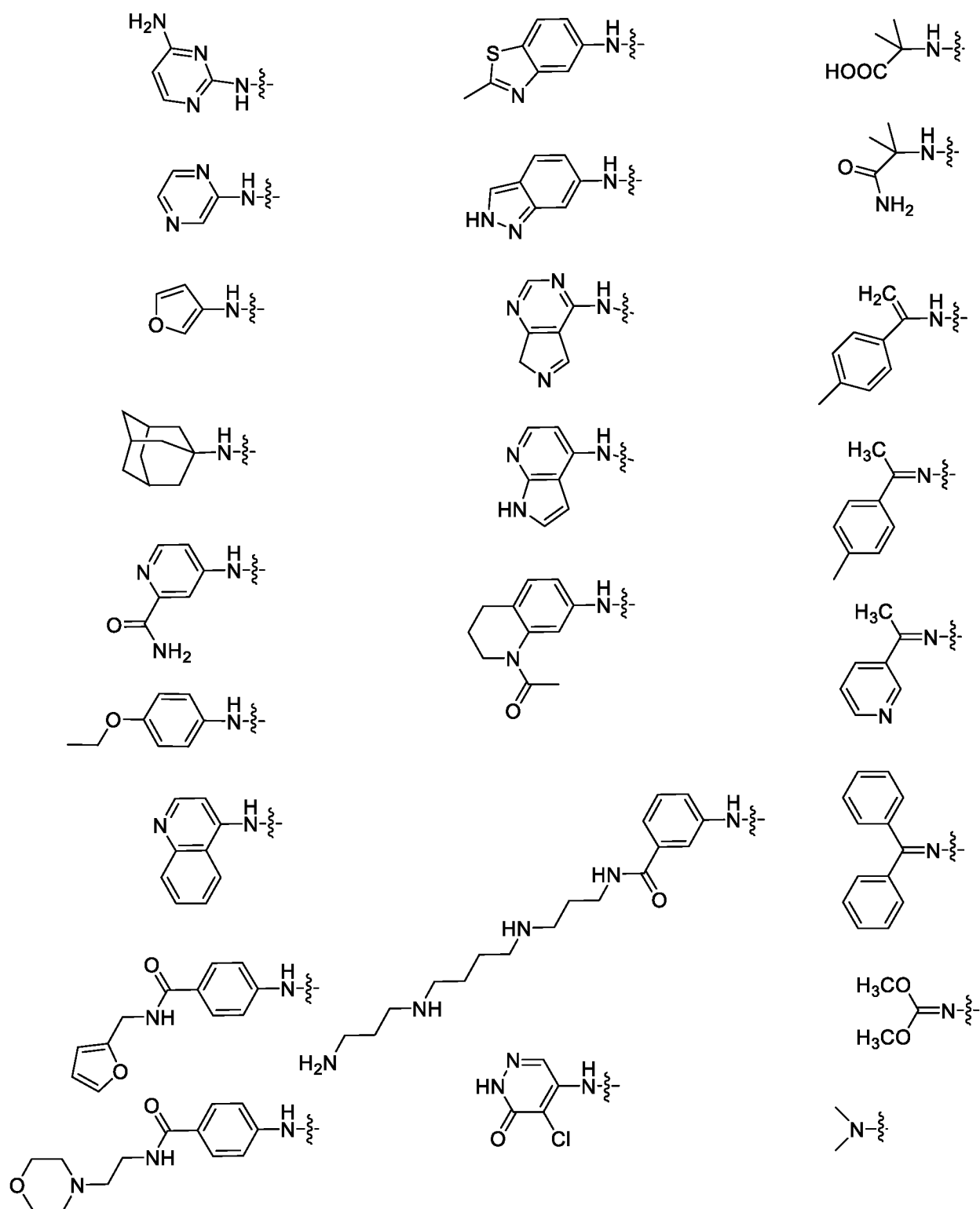
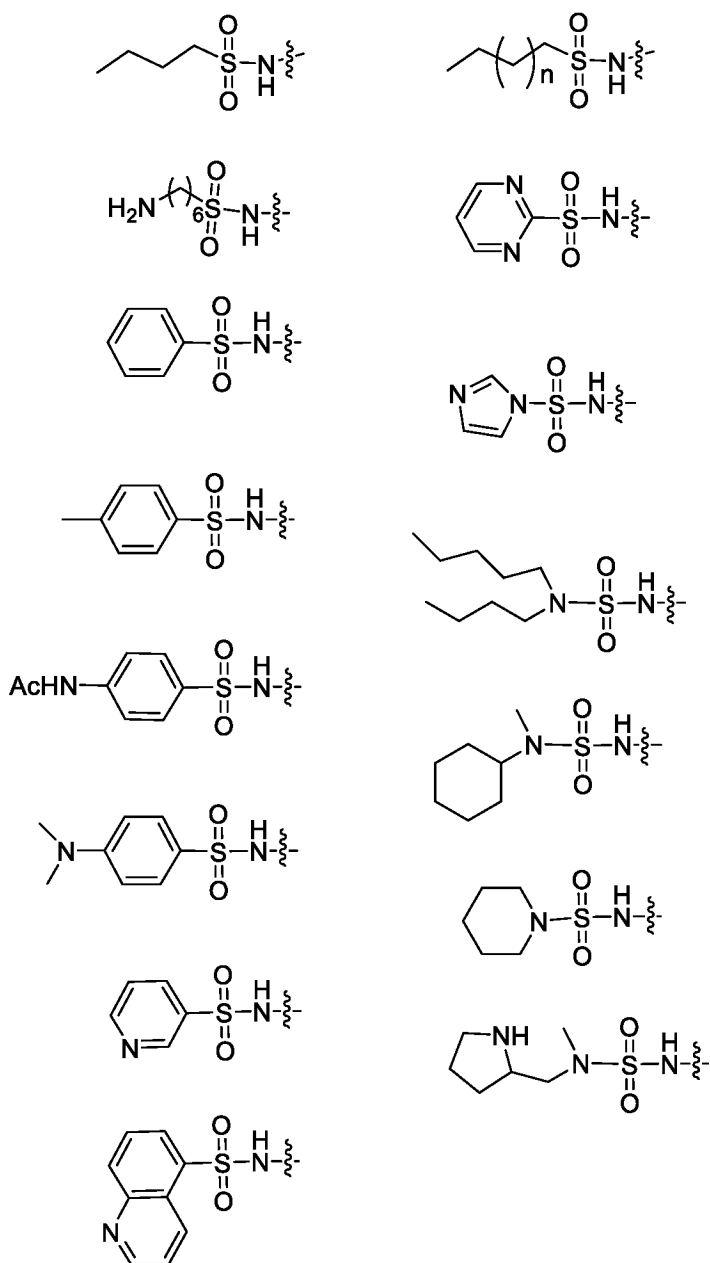


Таблица L-6. Некоторые применимые фрагменты соединены с атомом фосфора в составе связи (например, $-X-R^L$).



В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь, характеризуется структурой $-L^{L1}-Cu^{II}-L^{L2}-$. В некоторых вариантах осуществления L^{L1} соединен с 3'-атомом углерода сахара. В некоторых вариантах осуществления L^{L2} соединен с 5'-атомом углерода сахара. В некоторых вариантах осуществления L^{L1} представляет собой $-O-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^{L2} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{L2} представляет собой $-N(R')$. В некоторых вариантах осуществления L^{L2} представляет собой $-NH-$. В некоторых вариантах осуществления L^{L2} связан с 5'-атомом углерода сахара, при этом 5'-атом углерода замещен $=O$. В некоторых вариантах осуществления Cu^{II} представляет собой необязательно замещенное 3-10-членное

насыщенное, частично ненасыщенное или ароматическое кольцо с 0-5 гетероатомами. В некоторых вариантах осуществления Cy^{II} представляет собой необязательно замещенное триазольное кольцо. В некоторых вариантах осуществления Cy^{II} представляет собой



В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется структурой $-OP(=W)(-N(R'))_2-O-$.

В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R . В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой H . В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-C(O)R$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-C(O)OR$. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-S(O)_2R$.

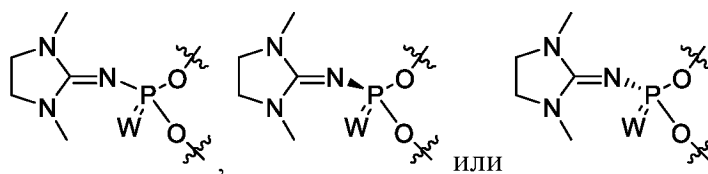
В некоторых вариантах осуществления R'' представляет собой $-NHR'$. В некоторых вариантах осуществления $-N(R')_2$ представляет собой $-NHR'$.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в данном документе, R представляет собой H . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенный этил.

В некоторых вариантах осуществления, описанных в данном документе, межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь.

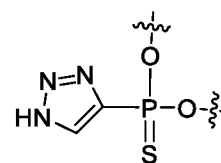
В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь (например, межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,) содержит необязательно замещенный триазолил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой или содержит необязательно замещенный триазолил. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь (например, межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,) содержит необязательно замещенный алкинил. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой необязательно замещенный алкинил. В некоторых вариантах осуществления R' содержит необязательно замещенную тройную связь. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит триазольный или алкиновый

фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой или содержит необязательно замещенный триазольный или алкиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления триазольный фрагмент, например триазиольная группа, является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления триазольный фрагмент, например, триазиольная группа, является необязательно замещенным. В некоторых вариантах осуществления триазольный фрагмент является незамещенным. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит необязательно замещенный гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь содержит необязательно замещенный циклический гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R' , R^L или $-X-R^L$ представляет собой или содержит необязательно замещенный гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R' , R^L или $-X-R^L$ представляет собой или содержит необязательно замещенный циклический гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления R' , R^L или $-X-R^L$ содержит необязательно замещенный циклический гуанидиновый фрагмент, и межнуклеотидная

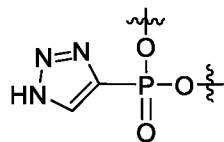


связь характеризуется структурой , или , где W представляет собой O или S . В некоторых вариантах осуществления W представляет собой O . В некоторых вариантах осуществления W представляет собой S . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой стереохимией.

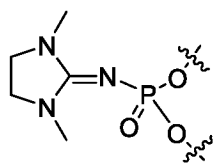
В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, содержащую триазольный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или межнуклеотидная связь, не являющаяся отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную триазиольную группу. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая триазольный фрагмент (например, необязательно



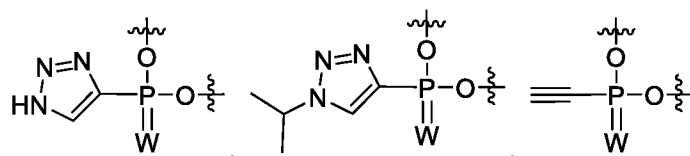
замещенную триазиольную группу), характеризуется структурой . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая триазольный



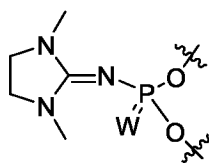
фрагмент, характеризуется структурой . В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, например межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, нейтральная межнуклеотидная связь, содержит циклический гуанидиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, содержащая циклический гуанидиновый фрагмент, характеризуется структурой



. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой

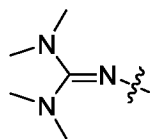


или содержит структуру, выбранную из

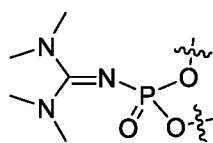


или , где W представляет собой O или S.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь содержит группу Tmg (



). В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь содержит



группу Tmg и характеризуется структурой ("межнуклеотидная связь Tmg").

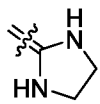
В некоторых вариантах осуществления нейтральные межнуклеотидные связи включают межнуклеотидные связи PNA и PМО, а также межнуклеотидную связь Tmg.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 3-20-членную гетероциклическую или гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 3-20-членную гетероциклическую или гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления такая гетероциклическая или гетероарильная группа представлена 5-членным кольцом. В

некоторых вариантах осуществления такая гетероциклическая или гетероарильная группа представлена 6-членным кольцом.

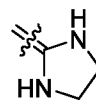
В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероарильную группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-6-членную гетероарильную группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-членную гетероарильную группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа непосредственно соединена с атомом фосфора в составе связи. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-20-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-6-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную 5-членную гетероциклическую группу, содержащую 1-4 гетероатома, где по меньшей мере один гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере два гетероатома представляют собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления гетероциклическая группа непосредственно соединена с атомом фосфора в составе связи. В некоторых вариантах осуществления гетероциклическая группа соединена с атомом фосфора в составе связи посредством линкера, например $=N^-$, если гетероциклическая группа является частью гуанидинового фрагмента, который непосредственно соединен с атомом фосфора в составе связи посредством своего $=N^-$. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная

связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит необязательно замещенную группу



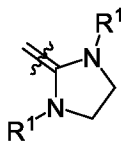
. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от

отрицательно заряженной, содержит замещенную группу



. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, содержит

группу



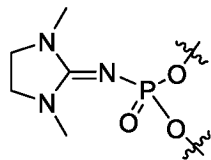
. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 независимо представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления каждый R^1 независимо представляет собой метил.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, например нейтральная межнуклеотидная связь, не характеризуется контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью, и атом фосфора в составе этой связи находится в R_p -конфигурации. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью, и атом фосфора в составе этой связи находится в S_p -конфигурации.

В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь не содержит атомов фосфора в составе связи. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-C(O)-(O)-$ или $-C(O)-N(R^2)-$, где R^2 является таким, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-C(O)-(O)-$. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь характеризуется структурой $-C(O)-N(R^2)-$, где R^2 является таким, как описано в данном документе. В различных вариантах осуществления $-C(O)-$ соединен с азотом. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой или содержит $-C(O)-O-$, который является частью карбаматного фрагмента. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой или содержит $-C(O)-O-$, который является частью мочевинового фрагмента.

В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит 1-20, 1-15, 1-10, 1-5 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше межнуклеотидных связей, отличных от

отрицательно заряженных. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит 1-20, 1-15, 1-10, 1-5 или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше нейтральных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления каждая из межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, и/или нейтральных межнуклеотидных связей необязательно и независимо характеризуется контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, в олигонуклеотиде независимо представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления каждая нейтральная межнуклеотидная связь в олигонуклеотиде независимо представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере одна межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной,/нейтральная межнуклеотидная связь характеризуется



структурой. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, где атом фосфора в составе этой связи находится в Rp-конфигурации, и по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, где атом фосфора в составе этой связи находится в Sp-конфигурации.

Во многих вариантах осуществления, как подробно продемонстрировано, олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат две или больше разных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фосфотиоатную межнуклеотидную связь и межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фосфотиоатную межнуклеотидную связь, межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, и природную фосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой n001, n003, n004, n006, n008 или n009, n013, n020, n021, n025, n026, n029, n031, n037, n046, n047, n048, n054 или n055. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой n001. В некоторых вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь независимо характеризуется контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах

осуществления каждая хиральная модифицированная межнуклеотидная связь независимо характеризуется контролируемой хиральностью. В некоторых вариантах осуществления одна или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, не характеризуются контролируемой хиральностью.

Типичное соединение, как в природных ДНК и РНК, является таким, что межнуклеотидная связь образует связи с двумя сахарами (которые могут быть либо немодифицированными, либо модифицированными, как описано в данном документе). Во многих вариантах осуществления, как проиллюстрировано в данном документе, межнуклеотидная связь образует связи посредством своих атомов кислорода или гетероатомов с одной необязательно модифицированной рибозой или дезоксирибозой по ее 5'-атому углерода и другой необязательно модифицированной рибозой или дезоксирибозой по ее 3'-атому углерода. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидные связи соединяют сахара, которые не представляют собой рибозные сахара, например сахара, содержащие атомы N в кольце, и ациклические сахара, описанные в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления каждое нуклеозидное звено, присоединенное межнуклеотидной связью, независимо содержит нуклеиновое основание, которое независимо представляет собой необязательно замещенный A, T, C, G или U или необязательно замещенный таутомер A, T, C, G или U.

В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит модифицированную межнуклеотидную связь (например, модифицированную межнуклеотидную связь, характеризующуюся структурой формулы **I**, **I-a**, **I-b** или **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** и т. д. или их солевой формы), описанную в 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 и/или WO 2019/032612, при этом межнуклеотидные связи (например, связи формулы **I**, **I-a**, **I-b**, или **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** и т. д.) из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления представленные олигонуклеотиды содержат одну или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой

положительно заряженную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения представлены олигонуклеотиды, содержащие одну или несколько нейтральных межнуклеотидных связей. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь (например, одна из формулы **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** и т. д.) является такой, как описано в 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 и/или WO 2019/032612. В некоторых вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или нейтральная межнуклеотидная связь представляет собой одну из формулы **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** и т. д., описанных в WO 2018/223056, WO 2019/032607, WO 2019/075357, WO 2019/032607, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или WO 2019/032612, при этом такие межнуклеотидные связи из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

Как описано в данном документе, различные переменные могут представлять собой R, например R', R^L и т. д. Различные варианты осуществления R описаны в настоящем изобретении (например, при описании переменных, которые могут представлять собой R). Такие варианты осуществления, как правило, применимы для всех переменных, которые могут представлять собой R. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₃₀алифатическую группу (например, 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 или 30). В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₁₀алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В

некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гексил.

В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную 3-30-членную (например, 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- или 30-членную) циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления циклоалифатическая группа является моноциклической, бициклической или полициклической, где каждое моноциклическое звено независимо является насыщенным или частично насыщенным. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклогексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный адамантил.

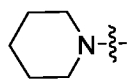
В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₃₀гетероалифатическую группу (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30), содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₂₀алифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₁₀алифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆алифатическую группу, содержащую 1-3 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероалкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆гетероалкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 3-30-членную (например, 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- или 30-членную) гетероциклоалифатическую группу,

содержащую 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гетероциклоалкил. В некоторых вариантах осуществления гетероциклоалифатическая группа является моноциклической, бициклической или полициклической, где каждое моноциклическое звено независимо является насыщенным или частично насыщенным.

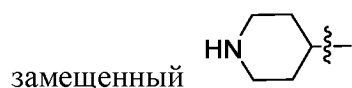
В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C₆₋₃₀арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой C₆₋₁₄арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный бициклический арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный полициклический арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C₆₋₃₀арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой C₆₋₃₀арилгетероалифатическую группу, содержащую 1-10 гетероатомов.

В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-30-членный (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- или 30-членный) гетероарил, содержащий 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-20-членный гетероарил, содержащий 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-10-членный гетероарил, содержащий 1-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероарил, содержащий 1-5 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероарил, содержащий 1-3 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероарил, содержащий 1-2 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероарил, содержащий один гетероатом. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероарил, содержащий 1-5 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероарил, содержащий 1-4 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероарил, содержащий 1-3 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой

необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий 1-5 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий 1-4 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий 1-3 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий 1-2 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-членный гетероцикл, содержащий один гетероатом. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероцикл, содержащий 1-5 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероцикл, содержащий 1-4 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероцикл, содержащий 1-3 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероцикл, содержащий 1-2 гетероатома. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 6-членный гетероцикл, содержащий один гетероатом. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный моноциклический гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный бициклический гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный полициклический гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный насыщенный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный частично ненасыщенный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный



. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно



. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой



В некоторых вариантах осуществления две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи. В некоторых вариантах осуществления две или больше групп R при одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с этим атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического,

бициклического или полициклического кольца, содержащего в дополнение к указанному атому 0-10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления две или больше групп R при двух или больше атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, в дополнение к промежуточным атомам, 0-10 гетероатомов.

Различные переменные могут содержать необязательно замещенное кольцо или могут быть взяты вместе с их промежуточным(промежуточными) атомом(атомами) с образованием кольца. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-30-членным (например, 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- или 30-членным). В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-20-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-15-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-10-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-8-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-7-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 3-6-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 4-20-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 5-20-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является моноциклическим. В некоторых вариантах осуществления кольцо является бициклическим. В некоторых вариантах осуществления кольцо является полициклическим. В некоторых вариантах осуществления каждое моноциклическое кольцо или каждое моноциклическое кольцевое звено в бициклическом или полициклическом кольцах независимо является насыщенным, частично насыщенным или ароматическим. В некоторых вариантах осуществления каждое моноциклическое кольцо или каждое моноциклическое кольцевое звено в бициклическом или полициклическом кольцах независимо является 3-10-членным и содержит 0-5 гетероатомов.

В некоторых вариантах осуществления каждый гетероатом независимо выбран из кислорода, азота, серы, кремния и фосфора. В некоторых вариантах осуществления каждый гетероатом независимо выбран из кислорода, азота, серы и фосфора. В некоторых вариантах осуществления каждый гетероатом независимо выбран из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления гетероатом находится в окисленной форме.

Как понятно специалистам в данной области техники, многие другие типы межнуклеотидных связей могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением, например, описанные в патентах США № 3687808; 4469863; 4476301; 5177195; 5023243; 5034506; 5166315; 5185444; 5188897; 5214134; 5216141; 5235033;

5264423; 5264564; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405938; 5405939; 5434257; 5453496; 5455233; 5466677; 5466677; 5470967; 5476925; 5489677; 5519126; 5536821; 5541307; 5541316; 5550111; 5561225; 5563253; 5571799; 5587361; 5596086; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5625050; 5633360; 564562; 5663312; 5677437; 5677439; 6160109; 6239265; 6028188; 6124445; 6169170; 6172209; 6277603; 6326199; 6346614; 6444423; 6531590; 6534639; 6608035; 6683167; 6858715; 6867294; 6878805; 7015315; 7041816; 7273933; 7321029 или RE39464. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой таковую, описанную в US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, WO 2017192664, WO 2017015575, WO2017062862, WO 2018067973, WO 2017160741, WO 2017192679, WO 2017210647, WO 2018098264, PCT/US18/35687, PCT/US18/38835 или PCT/US18/51398, при этом нуклеиновые основания, сахара, межнуклеотидные связи, хиральные вспомогательные средства/реагенты и технологии для синтеза олигонуклеотидов (реагенты, условия, циклы и т. д.) из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в ds-олигонуклеотиде независимо выбрана из природной фосфатной связи, фосфотиоатной связи и межнуклеотидной связи, отличной от отрицательно заряженной, (например, p001). В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в ds-олигонуклеотиде независимо выбрана из природной фосфатной связи, фосфотиоатной связи и нейтральной межнуклеотидной связи (например, n001).

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько нуклеотидов, которые независимо содержат модификацию по атому фосфора, склонную к "самовысвобождению" при определенных условиях. Иными словами, при определенных условиях конкретная модификация по атому фосфора разрабатывается таким образом, чтобы она самостоятельно отщеплялась от ds-олигонуклеотида с получением, например, природной фосфатной связи. В определенных вариантах осуществления такая модификация по атому фосфора характеризуется структурой $-O-L-R^1$, где L представляет собой L^B , как описано в данном документе, и R^1 представляет собой R' , как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления модификация по атому фосфора характеризуется структурой $-S-L-R^1$, где каждый L и R^1 независимо является таким, как описано в настоящем изобретении. Конкретные примеры таких групп с модификацией по атому фосфора можно найти в US 9982257. В определенных вариантах осуществления самовысвобождающаяся группа содержит морфолиновую группу. В определенных вариантах осуществления для самовысвобождающейся группы характерна

способность доставлять к межнуклеотидному фосфорному линкеру определенное средство, при этом данное средство облегчает дополнительную модификацию по атому фосфора, такую как, например, десульфирование. В определенных вариантах осуществления средство представляет собой воду, а дополнительная модификация представляет собой гидролиз с образованием природной фосфатной связи.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит одну или несколько межнуклеотидных связей, которые улучшают одно или несколько фармацевтических свойств и/или видов активности олигонуклеотида. В уровне техники документально подтверждено, что определенные олигонуклеотиды быстро разрушаются под действием нуклеаз и демонстрируют слабое поглощение клетками через цитоплазматическую клеточную мембрану (Poijarvi-Virta et al., *Curr. Med. Chem.* (2006), 13(28);3441-65; Wagner et al., *Med. Res. Rev.* (2000), 20(6):417-51; Peyrottes et al., *Mini Rev. Med. Chem.* (2004), 4(4):395-408; Gosselin et al., (1996), 43(1):196-208; Bologna et al., (2002), *Antisense & Nucleic Acid Drug Development* 12:33-41). В работе Vives et al. (*Nucleic Acids Research* (1999), 27(20):4071-76) сообщается, что проолигонуклеотиды с трет-бутил-SATE демонстрировали заметное увеличение проникновения в клетки по сравнению с исходным олигонуклеотидом при определенных условиях.

Ds-олигонуклеотиды могут содержать различное количество природных фосфатных связей. В определенных вариантах осуществления 5% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 10% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 15% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 20% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 25% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 30% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 35% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления 40% или больше межнуклеотидных связей в представленных ds-олигонуклеотидах представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды

содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше природных фосфатных связей. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды содержат 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше природных фосфатных связей. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 2. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 3. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 4. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 5. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 6. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 7. В определенных вариантах осуществления количество природных фосфатных связей составляет 8. В определенных вариантах осуществления некоторые или все природные фосфатные связи являются последовательными.

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что по меньшей мере в некоторых случаях *Sp*-межнуклеотидные связи, в частности на 5'- и/или 3'-конце, могут улучшать стабильность ds-олигонуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение демонстрирует, что, среди прочего, природные фосфатные связи и/или *Rp*-межнуклеотидные связи могут улучшать удаление ds-олигонуклеотидов из системы. Среднему специалисту в данной области техники понятно, что различные анализы, известные в данной области техники, могут быть использованы для оценки таких свойств в соответствии с настоящим изобретением.

В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь в ds-олигонуклеотиде или его части (например, домене, субдомене и т. д.) независимо характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления каждая из них независимо представляет собой *Sp* или *Rp*. В определенных вариантах осуществления высокий уровень имеет *Sp*, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь в ds-олигонуклеотиде или его части характеризуется контролируемой хиральностью и представляет собой *Sp*. В определенных вариантах осуществления одна или несколько, например приблизительно 1-5 (например, приблизительно 1, 2, 3, 4 или 5), из них представляют собой *Rp*.

В определенных вариантах осуществления, как проиллюстрировано в определенных примерах, ds-олигонуклеотид или его часть содержит одну или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, каждая из которых необязательно и независимо характеризуется контролируемой хиральностью. В

определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, независимо представляет собой $n001$. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления каждая хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью и представляет собой Rp . В определенных вариантах осуществления хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью и представляет собой Sr . В определенных вариантах осуществления каждая хиральная межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления количество межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, в ds -олигонуклеотиде или его части составляет приблизительно 1-10 или приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 1. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 2. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 3. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 4. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 5. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 6. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 7. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 8. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 9. В определенных вариантах осуществления оно составляет приблизительно 10. В определенных вариантах осуществления две или больше межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, являются последовательными. В определенных вариантах осуществления никакие две межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных, не являются последовательными. В определенных вариантах осуществления все межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных, в ds -олигонуклеотиде или его части являются последовательными (например, 3 последовательные межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных,). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, или две или больше

(например, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4 и т. д.) последовательные межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных, находятся на 3'-конце ds-олигонуклеотида или его части. В определенных вариантах осуществления последние две, или три, или четыре межнуклеотидные связи ds-олигонуклеотида или его части содержат по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, которая не является межнуклеотидной связью, отличной от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления последние две, или три, или четыре межнуклеотидные связи ds-олигонуклеотида или его части содержат по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, которая не является p001. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, связывающая первые два нуклеозида ds-олигонуклеотида или его части, представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, связывающая последние два нуклеозида ds-олигонуклеотида или его части, представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, связывающая первые два нуклеозида ds-олигонуклеотида или его части, представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления она представляет собой Sp. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь, связывающая последние два нуклеозида ds-олигонуклеотида или его части, представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления она представляет собой Sp.

В определенных вариантах осуществления одна или несколько хиральных межнуклеотидных связей характеризуются контролируемой хиральностью и одна или несколько хиральных межнуклеотидных связей не характеризуются контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь независимо характеризуется контролируемой хиральностью, и одна или несколько межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, не характеризуются контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь независимо характеризуется контролируемой хиральностью, и каждая межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь между первыми двумя нуклеозидами ds-олигонуклеотида представляет собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь между последними двумя нуклеозидами независимо представляет

собой межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной. В определенных вариантах осуществления они обе независимо представляют собой межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, независимо представляет собой нейтральную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь, отличная от отрицательно заряженной, независимо представляет собой $n001$.

В определенных вариантах осуществления контролируемый уровень ds-олигонуклеотидов в композиции составляют требуемые ds-олигонуклеотиды. В определенных вариантах осуществления из всех ds-олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общей последовательностью оснований (например, требуемой последовательностью для какой-либо цели), или из всех ds-олигонуклеотидов в композиции уровень требуемых ds-олигонуклеотидов (которые могут существовать в различных формах (например, солевых формах) и обычно отличаются только межнуклеотидными связями без контролируемой хиральности (различные формы одного и того же стереоизомера могут считаться одинаковыми для этой цели)) составляет приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% или по меньшей мере 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 50%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 60%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 70%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 75%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 80%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 85%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS составляет приблизительно 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 99,5%, а nc представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, описанное в настоящем изобретении (например, 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 или больше). В определенных вариантах осуществления уровень составляет

или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS составляет 95% - 100%.

Для достижения требуемых свойств и/или видов активности ds-олигонуклеотида можно использовать различные типы межнуклеотидных связей в комбинации с другими структурными элементами, например сахарами. Например, в настоящем изобретении при разработке ds-олигонуклеотидов обычно используются модифицированные межнуклеотидные связи и модифицированные сахара, необязательно с природными фосфатными связями и природными сахарами. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, содержащий один или несколько модифицированных сахаров. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, содержащий один или несколько модифицированных сахаров и одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей, одна или несколько из которых представляют собой природные фосфатные связи.

2.3. Композиции на основе двухнитевых олигонуклеотидов

Среди прочего, в настоящем изобретении представлены различные композиции на основе ds-олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции на основе ds-олигонуклеотидов из ds-олигонуклеотидов, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов, например композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, содержит совокупность ds-олигонуклеотидов, описанных в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов, например композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов, например композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, не характеризуется контролируемой хиральностью (является стереослучайной).

Атом фосфора в составе связи в природных фосфатных связях является ахиральным. Атом фосфора в составе связи во многих модифицированных межнуклеотидных связях, например, фосфотиоатных межнуклеотидных связях, является хиральным. В определенных вариантах осуществления во время получения композиции на основе ds-олигонуклеотидов (например, при традиционном фосфорамидитном синтезе ds-олигонуклеотидов) конфигурации хирального атома фосфора в составе связи целенаправленно не конструируют или не контролируют, при этом получают композиции на основе ds-олигонуклеотидов без контролируемой хиральности (стереослучайные) (по сути рацемические препараты), которые являются сложными, случайными смесями различных стереоизомеров (диастереоизомеров) — для ds-олигонуклеотидов с числом хиральных

межнуклеотидных связей, равным n (при этом атом фосфора в составе связи является хиральным), как правило, 2^n стереоизомеров (например, если n равняется 10, $2^{10} = 1032$; если n равняется 20, $2^{20} = 1048576$). Эти стереоизомеры обладают одинаковым составом, но различаются с точки зрения паттерна стереохимии их атомов фосфора в составе связи.

В определенных вариантах осуществления композиции на основе стереослучайных ds-олигонуклеотидов обладают свойствами и/или формами активности, достаточными для определенных целей и/или путей применения. В определенных вариантах осуществления композиции на основе стереослучайных ds-олигонуклеотидов могут быть более дешевыми, более легкими и/или более простыми в получении, чем композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью. Однако стереоизомеры в стереослучайных композициях могут обладать разными свойствами, формами активности, и/или токсичности, что приводит к непостоянным терапевтическим эффектам и/или непредусмотренным побочным эффектам стереослучайных композиций, особенно по сравнению с определенными композициями на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащими ds-олигонуклеотиды одинакового состава.

2.3.1. Композиции на основе двухнитевых олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает технологии конструирования и получения композиций на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит контролируемый/предварительно определенный (не случайный, как в стереослучайных композициях) уровень совокупности ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды характеризуются одинаковой стереохимической структурой атома фосфора в составе связи по одной или нескольким хиральным межнуклеотидным связям (межнуклеотидным связям с контролируемой хиральностью). В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются одинаковым паттерном хиральных центров остова (стереохимией атома фосфора в составе связи). В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова является таким, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общим составом. В определенных вариантах осуществления они являются структурно идентичными.

Например, в определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов, содержащая совокупность ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются

- 1) общей последовательностью оснований и
- 2) одинаковой стереохимической структурой атома фосфора в составе связи независимо при одной или нескольких (например, приблизительно 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 или 25 или больше) хиральных межнуклеотидных связях ("межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью"); где уровень ds-олигонуклеотидов из совокупности в композиции является неслучайным (например, контролируемым/предварительно определенным, как описано в данном документе).

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов, содержащая совокупность ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются

- 1) общей последовательностью оснований и
- 2) одинаковой стереохимической структурой атома фосфора в составе связи независимо при одной или нескольких (например, приблизительно 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 или 25 или больше) хиральных межнуклеотидных связях ("межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью"); где композиция является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе ds-олигонуклеотидов, характеризующихся общей последовательностью оснований с олигонуклеотидами из совокупности.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов, содержащая совокупность ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются

- 1) общей последовательностью оснований и
- 2) одинаковой стереохимией атома фосфора в составе связи независимо при одной или нескольких (например, приблизительно 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 или 25 или больше) хиральных межнуклеотидных связях ("межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью"); где приблизительно 1% - 100%, (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех ds-олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общей

последовательностью оснований, представляют собой ds-олигонуклеотиды из совокупности.

В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень ds-олигонуклеотидов из совокупности составляет или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS составляет 90% - 100%, а nc представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления nc равняется 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 10%.

В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 20%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 30%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 40%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 50%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 60%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 65%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 70%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 75%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 80%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления процентная доля/уровень составляет по меньшей мере 95%.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общим паттерном связей в остове. В определенных вариантах осуществления каждый ds-олигонуклеотид из совокупности независимо содержит межнуклеотидную связь с конкретным составом (например, $-O-P(O)(SH)-O-$) или ее солевую форму (например, $-O-P(O)(SNa)-O-$) независимо в каждом месте присоединения межнуклеотидной связи. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидные связи в каждом месте присоединения межнуклеотидной связи находятся в одинаковой форме. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидные связи в каждом месте присоединения межнуклеотидной связи находятся в разных формах.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общим составом. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности находятся в одинаковой форме, полученной из общего

состава. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности находятся в двух или больше формах, полученных из общего состава. В определенных вариантах осуществления каждый из ds-олигонуклеотидов из совокупности независимо представляет собой конкретный олигонуклеотид или его фармацевтически приемлемую соль или ds-олигонуклеотид, имеющий такой же состав, как конкретный ds-олигонуклеотид, или его фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления приблизительно 1% - 100% (например, приблизительно 5% - 100%, 10% - 100%, 20% - 100%, 30% - 100%, 40% - 100%, 50% - 100%, 60% - 100%, 70% - 100%, 80-100%, 90-100%, 95-100%, 50% - 90%, или приблизительно 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, или по меньшей мере 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%) от всех ds-олигонуклеотидов в композиции, которые характеризуются общим составом, представляют собой ds-олигонуклеотиды из совокупности. В определенных вариантах осуществления процентная доля или уровень составляет или составляет по меньшей мере $(DS)^{nc}$, где DS составляет 90% - 100%, а nc представляет собой количество межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления nc равняется 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 10%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 20%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 30%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 40%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 50%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 60%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 65%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 70%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 75%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 80%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления уровень составляет по меньшей мере 95%.

В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь независимо представляет собой межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащая

совокупность ds-олигонуклеотидов конкретного типа ds-олигонуклеотидов, характеризующегося

- a) общей последовательностью оснований;
- b) общим паттерном связей в остове;

с) общим паттерном хиральных центров остова; где композиция является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих такую же общую последовательность оснований, ds-олигонуклеотидами конкретного типа олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащая совокупность ds-олигонуклеотидов конкретного типа ds-олигонуклеотидов, характеризующегося

- a) общей последовательностью оснований;
- b) общим паттерном связей в остове;

с) общим паттерном хиральных центров остова; где ds-олигонуклеотиды из совокупности содержат по меньшей мере одну межнуклеотидную связь, содержащую общий атом фосфора в составе связи в *Sp*-конфигурации; где композиция является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих такую же общую последовательность оснований, ds-олигонуклеотидами конкретного типа ds-олигонуклеотидов.

Общие паттерны хиральных центров остова, как понятно специалистам в данной области техники, содержат по меньшей мере один *Rp* или по меньшей мере один *Sp*. Определенные паттерны хиральных центров остова проиллюстрированы, например, в таблице 1.

В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих такую же общую последовательность оснований и общий паттерн связей в остове ds-олигонуклеотидами конкретного типа ds-олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности, например, конкретный тип ds-олигонуклеотидов, характеризуются общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общим паттерном модификаций сахаров. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общим паттерном модификаций оснований. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды

из совокупности характеризуются общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности имеют одинаковый состав. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности являются идентичными. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды из совокупности представляют собой одинаковые ds-олигонуклеотиды (как поймут специалисты в данной области техники, каждый из таких ds-олигонуклеотидов независимо может существовать в одной из различных форм ds-олигонуклеотида и может представлять собой одинаковые или разные формы ds-олигонуклеотида). В определенных вариантах осуществления каждый из ds-олигонуклеотидов из совокупности независимо представляет собой одинаковый ds-олигонуклеотид или его фармацевтически приемлемую соль.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, например, на основе многих олигонуклеотидов из таблицы 1, в столбце "Стереохимические особенности/связь" которых содержится S и/или R. В определенных вариантах осуществления каждый из ds-олигонуклеотидов из совокупности независимо представляет собой конкретный ds-олигонуклеотид из таблицы 1, в столбце "Стереохимические особенности/связь" которого содержится S и/или R, необязательно в различных формах. В определенных вариантах осуществления каждый из ds-олигонуклеотидов из совокупности независимо представляет собой конкретный ds-олигонуклеотид из таблицы 1, в столбце "Стереохимические особенности/связь" которого содержится S и/или R, или его фармацевтически приемлемую соль.

В определенных вариантах осуществления уровень совокупности ds-олигонуклеотидов в композиции может быть определен как произведение диастереомерной чистоты каждой межнуклеотидной связи с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотидах. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота межнуклеотидной связи, соединяющей два нуклеозида в ds-олигонуклеотиде (или нуклеиновой кислоте), представлена диастереомерной чистотой межнуклеотидной связи димера, соединяющего те же два нуклеозида, где димер получают в сопоставимых условиях, в некоторых случаях в условиях идентичного синтетического цикла.

В определенных вариантах осуществления все хиральные межнуклеотидные связи независимо характеризуются контролируемой хиральностью, и композиция представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов с полностью контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления не все хиральные межнуклеотидные связи представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой

хиральностью, и композиция представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов с частично контролируемой хиральностью.

Ds-олигонуклеотиды могут содержать различные паттерны хиральных центров остова (паттерны стереохимических особенностей хирального атома фосфора в составе связи) или состоять из них. Определенные применимые паттерны хиральных центров остова описаны в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления совокупность ds-олигонуклеотидов характеризуется общим паттерном хиральных центров остова, который представляет собой или содержит паттерн, описанный в настоящем изобретении (например, как в разделе "Стереохимическая структура и паттерны хиральных центров остова", паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида с контролируемой хиральностью в таблице 1 и т. д.).

В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью представляет собой композицию на основе хирально чистых ds-олигонуклеотидов (или стереомерно чистых, стереохимически чистых), где композиция на основе ds-олигонуклеотидов содержит совокупность ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды независимо представляют собой один и тот же стереоизомер (включая то, что каждый хиральный элемент ds-олигонуклеотидов, в том числе каждый хиральный атом фосфора в составе связи, независимо является задаваемым (стереомерно задаваемым)). Композиция на основе хирально чистых ds-олигонуклеотидов (или стереомерно чистых, стереохимически чистых), содержащая стереоизомер ds-олигонуклеотида, не содержит других стереоизомеров (как понятно специалистам в данной области, при этом один или несколько непредусмотренных стереоизомеров могут существовать в виде примесей, например, появляющихся при получении, хранении и т. д.).

2.3.2 Стереохимия и паттерны хиральных центров остова

В отличие от природных фосфатных связей атом фосфора в составе связи в хиральных модифицированных межнуклеотидных связях, например фосфотиоатных межнуклеотидных связях, является хиральным. Среди всего прочего в настоящем изобретении представлены технологии (например, олигонуклеотиды, композиции, способы и т. д.), включающие контроль стереохимии хирального атома фосфора в составе связи в хиральных межнуклеотидных связях. В определенных вариантах осуществления, продемонстрированных в данном документе, контроль стереохимии может обеспечивать улучшение свойств и/или видов активности, включая обеспечение требуемой стабильности, сниженной токсичности, улучшенного снижения содержания нуклеиновых кислот-мишеней и т. д. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены применимые паттерны хиральных центров остова для олигонуклеотидов

и/или их областей, при этом паттерн представляет собой комбинацию стереохимической структуры каждого хирального атома фосфора в составе связи (Rp или Sp) из хиральных атомов фосфора в составе связи, а также указание каждого ахирального атома фосфора в составе связи (Op , если таковые имеются) и т. д. в направлении от $5'$ до $3'$. В определенных вариантах осуществления паттерны хиральных центров остова могут контролировать паттерны расщепления целевых нуклеиновых кислот при приведении их в контакт с представленными ds-олигонуклеотидами или композициями на их основе в системе расщепления (например, при анализе *in vitro*, в клетках, тканях, органах, организмах, субъектах и т. д.). В определенных вариантах осуществления паттерны хиральных центров остова увеличивают эффективность расщепления и/или селективность в отношении целевых нуклеиновых кислот при приведении их в контакт с представленными ds-олигонуклеотидами или композициями на их основе в системе расщепления.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой любой $(Np)n(Op)m$, где Np представляет собой Rp или Sp , Op представляет собой ахиральный атом фосфора в составе связи (например, как в случае атома фосфора в составе природных фосфатных связей), и каждый из n и m независимо является таким, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Sp)n(Op)m$, где каждая переменная независимо является такой, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Rp)n(Op)m$, где каждая переменная независимо является такой, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления n равняется 1. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Sp)(Op)m$, где m равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Rp)(Op)m$, где m равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова $5'$ -крыла представляет собой или содержит $(Np)n(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова $5'$ -крыла представляет собой или содержит $(Sp)n(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова $5'$ -крыла представляет собой или содержит $(Rp)n(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова $5'$ -крыла представляет собой или содержит $(Sp)(Op)m$. В определенных

вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 5'-крыла представляет собой или содержит $(Rp)(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 5'-крыла представляет собой $(Sp)(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 5'-крыла представляет собой $(Rp)(Op)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 5'-крыла представляет собой $(Sp)(Op)m$, где Sp представляет собой конфигурацию атома фосфора в составе связи в первой межнуклеотидной связи олигонуклеотида с 5'-конца. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 5'-крыла представляет собой $(Rp)(Op)m$, где Rp представляет собой конфигурацию атома фосфора в составе связи в первой межнуклеотидной связи олигонуклеотида с 5'-конца. В определенных вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, m равняется 2; в определенных вариантах осуществления m равняется 3; в определенных вариантах осуществления m равняется 4; в определенных вариантах осуществления m равняется 5; в определенных вариантах осуществления m равняется 6.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Op)m(Np)n$, где Np представляет собой Rp или Sp , Op представляет собой ахиральный атом фосфора в составе связи (например, как в случае атома фосфора в составе природных фосфатных связей), и каждый из n и m независимо является таким, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Op)m(Sp)n$, где каждая переменная независимо является такой, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Op)m(Rp)n$, где каждая переменная независимо является такой, как определено и описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления n равняется 1. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Op)m(Sp)$, где m равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова олигонуклеотида или его области содержит или представляет собой $(Op)m(Rp)$, где m равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой или содержит $(Op)m(Np)n$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой или содержит $(Op)m(Sp)n$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой или содержит $(Op)m(Rp)n$.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой или содержит $(Op)m(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой или содержит $(Op)m(Rp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой $(Op)m(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой $(Op)m(Rp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой $(Op)m(Sp)$, где Sp представляет собой конфигурацию атома фосфора в составе связи в последней межнуклеотидной связи ds-олигонуклеотида с 5'-конца. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова 3'-крыла представляет собой $(Op)m(Rp)$, где Rp представляет собой конфигурацию атома фосфора в составе связи в последней межнуклеотидной связи олигонуклеотида с 5'-конца. В определенных вариантах осуществления, описанных в настоящем изобретении, m равняется 2; в определенных вариантах осуществления m равняется 3; в определенных вариантах осуществления m равняется 4; в определенных вариантах осуществления m равняется 5; в определенных вариантах осуществления m равняется 6.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Sp)m(Rp/Op)n$ или $(Rp/Op)n(Sp)m$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Sp)m(Rp)n$ или $(Rp)n(Sp)m$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Sp)m(Op)n$ или $(Op)n(Sp)m$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Np)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Np)t$, где y равняется 1-50, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Np)t[(Rp)n(Sp)m]y$ или $[(Rp)n(Sp)m]y(Np)t$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-n-олигонуклеотида или его области (например, кора)

содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, где k равняется 1-50, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $[(Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид содержит область кора. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид содержит область кора, где каждый сахар в области кора не содержит 2'-OR¹, где R¹ является таким, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит область кора, где каждый сахар в области кора независимо представляет собой природный сахар ДНК. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $(Rp)(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $(Op)(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $(Np)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Np)t$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $(Np)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Np)t$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $(Np)t[(Rp)n(Sp)m]y$ или $[(Rp)n(Sp)m]y(Np)t$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $[(Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит или представляет собой $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y$ или $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$. В

определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $[(Rp)n(Sp)m]y$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора содержит $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора представляет собой $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора представляет собой $[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора представляет собой $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора представляет собой $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова кора представляет собой $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$. В определенных вариантах осуществления каждый n равняется 1. В определенных вариантах осуществления каждый t равняется 1. В определенных вариантах осуществления t равняется 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления каждый из t и n равняется 1. В определенных вариантах осуществления каждый m равняется 2 или больше. В определенных вариантах осуществления k равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 2-10.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова содержит или представляет собой $(Sp)m(Rp)n$, $(Rp)n(Sp)m$, $(Np)t(Rp)n(Sp)m$, $(Sp)t(Rp)n(Sp)m$, $(Np)t[(Rp)n(Sp)m]2$, $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]2$, $(Np)t(Op)n(Sp)m$, $(Sp)t(Op)n(Sp)m$, $(Np)t[(Op)n(Sp)m]2$ или $(Sp)t[(Op)n(Sp)m]2$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)m(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)1-5(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)2-5(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)2(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)3(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)4(Op/Rp)n(Sp)m$. В определенных вариантах осуществления паттерн представляет собой $(Np)t(Op/Rp)n(Sp)5(Op/Rp)n(Sp)m$.

В определенных вариантах осуществления Np представляет собой Sp . В определенных вариантах осуществления (Op/Rp) представляет собой Op . В определенных вариантах

осуществления (Op/Rp) представляет собой Rp. В определенных вариантах осуществления Nr представляет собой Sp, и (Op/Rp) представляет собой Rp. В определенных вариантах осуществления Nr представляет собой Sp, и (Op/Rp) представляет собой Op. В определенных вариантах осуществления Nr представляет собой Sp, и по меньшей мере один (Op/Rp) представляет собой Rp, и по меньшей мере один (Op/Rp) представляет собой Op. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова содержит или представляет собой $(Rp)_n(Sp)_m$, $(Rp)_n(Sp)_m(Np)_t$ или $(Sp)_t(Rp)_n(Sp)_m$, где $m > 2$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова содержит или представляет собой $(Rp)_n(Sp)_m$, $(Rp)_n(Sp)_m(Np)_t$ или $(Sp)_t(Rp)_n(Sp)_m$, где n равняется 1, по меньшей мере один $t > 1$, и по меньшей мере один $m > 2$.

В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, содержащие области кора, паттерны хиральных центров остова которых начинаются с Rp, могут обеспечивать высокие значения определенных видов активности и/или улучшенные свойства. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, содержащие области кора, паттерны хиральных центров остова которых заканчиваются на Rp, могут обеспечивать высокие значения определенных видов активности и/или улучшенные свойства. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, содержащие области кора, паттерны хиральных центров остова которых начинаются с Rp, обеспечивают высокие значения определенных видов активности (например, расщепления мишени) без значительного влияния на их свойства, например стабильность. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, содержащие области кора, паттерны хиральных центров остова которых заканчиваются на Rp, обеспечивают высокие значения определенных видов активности (например, расщепления мишени) без значительного влияния на их свойства, например стабильность. В определенных вариантах осуществления паттерны хиральных центров остова начинаются с Rp и заканчиваются на Sp. В определенных вариантах осуществления паттерны хиральных центров остова начинаются с Rp и заканчиваются на Rp. В определенных вариантах осуществления паттерны хиральных центров остова начинаются с Sp и заканчиваются на Rp.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова RNAi-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Op)[(Rp/Op)_n(Sp)_m]_y(Rp)_k(Op)$, $(Op)[(Rp/Op)_n(Sp)_m]_y(Op)$, $(Op)(Sp)_t[(Rp/Op)_n(Sp)_m]_y(Op)$ или $(Op)(Sp)_t[(Rp/Op)_n(Sp)_m]_y(Rp)_k(Op)$, где k равняется 1-50, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова RNAi-олигонуклеотида содержит или представляет собой $(Op)[(Rp/Op)_n(Sp)_m]_y(Rp)_k(Op)$,

$(Op)[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)$, $(Op)(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)$ или
 $(Op)(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)$, где каждый из f , g , h и j независимо представляет собой 1-50, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении, и олигонуклеотид содержит область кора, паттерн хиральных центров остова которой содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, описанные в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)[(Rp)n(Sp)m]y(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Op)(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)$. В определенных вариантах осуществления каждый n равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 2-10.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова $RNAi$ -олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$ или $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, где каждый из f , g , h и j независимо

представляет собой 1-50, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова RNAi-олигонуклеотида содержит или представляет собой $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$ или $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, и олигонуклеотид содержит область кора, паттерн хиральных центров остова которой содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, описанные в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова RNAi-олигонуклеотида представляет собой $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$, $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$ или $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, и олигонуклеотид содержит область кора, паттерн хиральных центров остова которой содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ или $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, описанные в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Np)j$.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн

хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова представляет собой или содержит $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Np)j$.

В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один Np представляет собой Sp . В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один Np представляет собой Rp . В определенных вариантах осуществления крайний с 5'-конца Np представляет собой Sp . В определенных вариантах осуществления крайний с 3'-конца Np представляет собой Sp . В определенных вариантах осуществления каждый Np представляет собой Sp . В определенных вариантах осуществления $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$ представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Sp)$.

В определенных вариантах осуществления $(Np)f(Op)g[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$ представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой или содержит $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$ представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой или содержит $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой $(Sp)(Op)g[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$.

В определенных вариантах осуществления $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Op)h(Np)j$ представляет собой $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой или содержит $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$ представляет собой $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Sp)$.

В определенных вариантах осуществления $(Np)f(Op)g(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$ представляет собой

$(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой или содержит $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида представляет собой $(Sp)(Op)g(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)(Op)h(Sp)$. В определенных вариантах осуществления каждый n равняется 1. В определенных вариантах осуществления f равняется 1. В определенных вариантах осуществления g равняется 1. В определенных вариантах осуществления g равняется более 1. В определенных вариантах осуществления g равняется 2. В определенных вариантах осуществления g равняется 3. В определенных вариантах осуществления g равняется 4. В определенных вариантах осуществления g равняется 5. В определенных вариантах осуществления g равняется 6. В определенных вариантах осуществления g равняется 7. В определенных вариантах осуществления g равняется 8. В определенных вариантах осуществления g равняется 9. В определенных вариантах осуществления g равняется 10. В определенных вариантах осуществления h равняется 1. В определенных вариантах осуществления h равняется более 1. В определенных вариантах осуществления h равняется 2. В определенных вариантах осуществления h равняется 3. В определенных вариантах осуществления h равняется 4. В определенных вариантах осуществления h равняется 5. В определенных вариантах осуществления h равняется 6. В определенных вариантах осуществления h равняется 7. В определенных вариантах осуществления h равняется 8. В определенных вариантах осуществления h равняется 9. В определенных вариантах осуществления h равняется 10. В определенных вариантах осуществления j равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 2-10.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова RNAi-олигонуклеотида или его области (например, кора) содержит или представляет собой $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]yRp$, $[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h$, $(Sp)t[(Rp/Op)n(Sp)m]y(Rp)k(Op)h(Np)j$, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления в представленном паттерне хиральных центров остова по меньшей мере один (Rp/Op) представляет собой Rp . В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один (Rp/Op) представляет собой Op . В определенных вариантах осуществления каждый (Rp/Op) представляет собой Rp . В определенных вариантах осуществления каждый (Rp/Op) представляет собой Op . В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один из $[(Rp)n(Sp)m]y$ или

$[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой $RpSp$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один из $[(Rp)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой или содержит $RpSpSp$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один из $[(Rp)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой $RpSp$, и по меньшей мере один из $[(Rp)n(Sp)m]y$ или $[(Rp/Op)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой или содержит $RpSpSp$. Например, в определенных вариантах осуществления $[(Rp)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой $(RpSp)[(Rp)n(Sp)m]_{(y-1)}$; в определенных вариантах осуществления $[(Rp)n(Sp)m]y$ в паттерне представляет собой $(RpSp)[RpSpSp(Sp)_{(m-2)}][(Rp)n(Sp)m]_{(y-2)}$. В определенных вариантах осуществления $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$ представляет собой $(Sp)t(RpSp)[(Rp)n(Sp)m]_{(y-1)}(Rp)$. В определенных вариантах осуществления $(Sp)t[(Rp)n(Sp)m]y(Rp)$ представляет собой $(Sp)t(RpSp)[RpSpSp(Sp)_{(m-2)}][(Rp)n(Sp)m]_{(y-2)}(Rp)$. В определенных вариантах осуществления каждый $[(Rp/Op)n(Sp)m]$ независимо представляет собой $[Rp(Sp)m]$. В определенных вариантах осуществления первый Sp в $(Sp)t$ представляет собой стереохимическую структура атома фосфора в составе связи в первой межнуклеотидной связи ds-олигонуклеотида от 5' до 3'. В определенных вариантах осуществления первый Sp в $(Sp)t$ представляет собой стереохимическую структуру атома фосфора в составе связи в первой межнуклеотидной связи области от 5' до 3', например кора. В определенных вариантах осуществления последний Np (Np) j представляет собой стереохимическую структуру атома фосфора в составе связи в последней межнуклеотидной связи олигонуклеотида от 5' до 3'. В определенных вариантах осуществления последний Np представляет собой Sp .

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, 5'-крыла) представляет собой или содержит $Sp(Op)_3$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, 5'-крыла) представляет собой или содержит $Rp(Op)_3$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, 3'-крыла) представляет собой или содержит $(Op)_3Sp$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, 3'-крыла) представляет собой или содержит $(Op)_3Rp$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, кора) представляет собой или содержит $Rp(Sp)_4Rp(Sp)_4Rp$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, кора) представляет собой или содержит $(Sp)_5Rp(Sp)_4Rp$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова ds-олигонуклеотида или области (например, кора) представляет собой или содержит

осуществления m равняется 2-5. В определенных вариантах осуществления m равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления в паттерне хиральных центров остова каждый m независимо равняется 2 или больше. В определенных вариантах осуществления каждый m независимо равняется 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления каждый m независимо равняется 2-3, 2-5, 2-6 или 2-10. В определенных вариантах осуществления m равняется 2. В определенных вариантах осуществления m равняется 3. В определенных вариантах осуществления m равняется 4. В определенных вариантах осуществления m равняется 5. В определенных вариантах осуществления m равняется 6. В определенных вариантах осуществления m равняется 7. В определенных вариантах осуществления m равняется 8. В определенных вариантах осуществления m равняется 9. В определенных вариантах осуществления m равняется 10. В определенных вариантах осуществления, где имеется два или больше вариантов m , они могут быть одинаковыми или разными, и каждый из них независимо является таким, как описано в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления u равняется 1-25. В определенных вариантах осуществления u равняется 1-20. В определенных вариантах осуществления u равняется 1-15. В определенных вариантах осуществления u равняется 1-10. В определенных вариантах осуществления u равняется 1-5. В определенных вариантах осуществления u равняется 2-20. В определенных вариантах осуществления u равняется 2-15. В определенных вариантах осуществления u равняется 2-10. В определенных вариантах осуществления u равняется 2-5. В определенных вариантах осуществления u равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления u равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления u равняется 1. В определенных вариантах осуществления u равняется 2. В определенных вариантах осуществления u равняется 3. В определенных вариантах осуществления u равняется 4. В определенных вариантах осуществления u равняется 5. В определенных вариантах осуществления u равняется 6. В определенных вариантах осуществления u равняется 7. В определенных вариантах осуществления u равняется 8. В определенных вариантах осуществления u равняется 9. В определенных вариантах осуществления u равняется 10.

В определенных вариантах осуществления t равняется 1-25. В определенных вариантах осуществления t равняется 1-20. В определенных вариантах осуществления t равняется 1-15. В определенных вариантах осуществления t равняется 1-10. В определенных вариантах осуществления t равняется 1-5. В определенных вариантах осуществления t равняется 2-20. В определенных вариантах осуществления t равняется 2-15. В определенных вариантах

осуществления t равняется 2-10. В определенных вариантах осуществления t равняется 2-5. В определенных вариантах осуществления t равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления каждый t независимо представляет собой 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В определенных вариантах осуществления t равняется 2 или больше. В определенных вариантах осуществления t равняется 1. В определенных вариантах осуществления t равняется 2. В определенных вариантах осуществления t равняется 3. В определенных вариантах осуществления t равняется 4. В определенных вариантах осуществления t равняется 5. В определенных вариантах осуществления t равняется 6. В определенных вариантах осуществления t равняется 7. В определенных вариантах осуществления t равняется 8. В определенных вариантах осуществления t равняется 9. В определенных вариантах осуществления t равняется 10. В определенных вариантах осуществления, где имеется два или больше вариантов t , они могут быть одинаковыми или разными, и каждый из них независимо является таким, как описано в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления n равняется 1-25. В определенных вариантах осуществления n равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления n равняется 1. В определенных вариантах осуществления n равняется 2. В определенных вариантах осуществления n равняется 3. В определенных вариантах осуществления n равняется 4. В определенных вариантах осуществления n равняется 5. В определенных вариантах осуществления n равняется 6. В определенных вариантах осуществления n равняется 7. В определенных вариантах осуществления n равняется 8. В определенных вариантах осуществления n равняется 9. В определенных вариантах осуществления n равняется 10. В определенных вариантах осуществления, где имеется два или больше вариантов n , они могут быть одинаковыми или разными, и каждый из них независимо является таким, как описано в настоящем изобретении. В определенных вариантах осуществления в паттерне хиральных центров остова по меньшей мере один вариант n равняется 1; в некоторых случаях каждый n равняется 1.

В определенных вариантах осуществления k равняется 1-25. В определенных вариантах осуществления k равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления k равняется 1. В определенных вариантах осуществления k равняется 2. В определенных вариантах осуществления k равняется 3. В определенных вариантах осуществления k равняется 4. В определенных вариантах осуществления k равняется 5. В определенных вариантах осуществления k равняется 6. В определенных вариантах осуществления k равняется 7. В определенных

вариантах осуществления h равняется 7. В определенных вариантах осуществления h равняется 8. В определенных вариантах осуществления h равняется 9. В определенных вариантах осуществления h равняется 10.

В определенных вариантах осуществления j равняется 1-25. В определенных вариантах осуществления j равняется 1-10. В определенных вариантах осуществления j равняется 1-5. В определенных вариантах осуществления j равняется 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25. В определенных вариантах осуществления j равняется 1. В определенных вариантах осуществления j равняется 2. В определенных вариантах осуществления j равняется 3. В определенных вариантах осуществления j равняется 4. В определенных вариантах осуществления j равняется 5. В определенных вариантах осуществления j равняется 6. В определенных вариантах осуществления j равняется 7. В определенных вариантах осуществления j равняется 8. В определенных вариантах осуществления j равняется 9. В определенных вариантах осуществления j равняется 10.

В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один n равняется 1, и по меньшей мере один m составляет не менее 2. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один n равняется 1, по меньшей мере один t составляет не менее 2, и по меньшей мере один m составляет не менее 3. В определенных вариантах осуществления каждый n равняется 1. В определенных вариантах осуществления t равняется 1. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $t > 1$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $t > 2$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $t > 3$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $t > 4$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $m > 1$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $m > 2$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $m > 3$. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере один $m > 4$. В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова содержит одну или несколько ахиральных природных фосфатных связей. В определенных вариантах осуществления сумма m , t и n (или m и n , если t в паттерне отсутствует) составляет не менее 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 5. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 6. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 7. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 8. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 9. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 10. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 11. В определенных вариантах

осуществления сумма составляет 12. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 13. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 14. В определенных вариантах осуществления сумма составляет 15.

В определенных вариантах осуществления ряд атомов фосфора в составе связи в межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью представляет собой Sr . В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью содержат Sr -атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% от всех хиральных межнуклеотидных связей представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие Sr -атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% от всех межнуклеотидных связей представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие Sr -атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 20%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 30%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 40%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 50%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 60%.

В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 65%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 70%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 75%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 80%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 межнуклеотидных связей представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие Sr -атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 5 межнуклеотидных связей представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие Sr -атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 6 межнуклеотидных связей представляют собой межнуклеотидные связи

хиральностью, содержащие *Rp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления 3 и не более чем 3 межнуклеотидные связи в *ds*-олигонуклеотиде представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие *Rp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления 4 и не более чем 4 межнуклеотидные связи в *ds*-олигонуклеотиде представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие *Rp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления 5 и не более чем 5 межнуклеотидные связи в *ds*-олигонуклеотиде представляют собой межнуклеотидные связи с контролируемой хиральностью, содержащие *Rp*-атом фосфора в составе связи.

В определенных вариантах осуществления все, по сути все или большинство межнуклеотидных связей в *ds*-олигонуклеотиде находятся в *Sr*-конфигурации (например, приблизительно 50% - 100%, 55% - 100%, 60% - 100%, 65% - 100%, 70% - 100%, 75% - 100%, 80% - 100%, 85% - 100%, 90% - 100%, 55% - 95%, 60% - 95%, 65% - 95% или приблизительно 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или больше от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в олигонуклеотиде) за исключением одной или меньшинства межнуклеотидных связей (например, 1, 2, 3, 4 или 5 и/или менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в олигонуклеотиде), находящихся в *Rp*-конфигурации. В определенных вариантах осуществления все, по сути все или большинство межнуклеотидных связей в коре находятся в *Sr*-конфигурации (например, приблизительно 50% - 100%, 55% - 100%, 60% - 100%, 65% - 100%, 70% - 100%, 75% - 100%, 80% - 100%, 85% - 100%, 90% - 100%, 55% - 95%, 60% - 95%, 65% - 95% или приблизительно 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или больше от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в коре) за исключением одной или меньшинства межнуклеотидных связей (например, 1, 2, 3, 4 или 5 и/или менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в коре), находящихся в *Rp*-конфигурации. В определенных вариантах осуществления все, по сути все или большинство межнуклеотидных связей в коре представляют собой фосфотиоат в *Sr*-конфигурации (например, приблизительно 50% - 100%, 55% - 100%, 60% - 100%, 65% - 100%, 70% - 100%, 75% - 100%, 80% - 100%, 85% - 100%, 90% - 100%, 55% - 95%,

60% - 95%, 65% - 95% или приблизительно 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% или больше от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в коре) за исключением одной или меньшинства межнуклеотидных связей (например, 1, 2, 3, 4 или 5 и/или менее 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% или 5% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, или от всех хиральных межнуклеотидных связей, или от всех межнуклеотидных связей в коре), представляющих собой фосфотиоат в *Rp*-конфигурации. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в коре представляет собой фосфотиоат в *Sr*-конфигурации за исключением одного фосфотиоата в *Rp*-конфигурации. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в коре представляет собой фосфотиоат в *Sr*-конфигурации за исключением одного фосфотиоата в *Rp*-конфигурации.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит одну или несколько *Rp*-межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит одну и не более чем одну *Rp*-межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит две или больше *Rp*-межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит три или больше *Rp*-межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит четыре или больше *Rp*-межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит пять или больше *Rp*-межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления приблизительно 5% - 50% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 5% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 10% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 15% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 20% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 25% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 30% - 40% от всех

межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*. В определенных вариантах осуществления приблизительно 35% - 40% от всех межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью в ds-олигонуклеотиде представляют собой *Rp*.

В определенных вариантах осуществления вместо *Rp*-межнуклеотидных связей, аналогично может быть использована природная фосфатная связь необязательно с модификацией, например модификацией сахара (например, 5'-модификацией, такой как R^{5s} , описанный в данном документе). В определенных вариантах осуществления модификация улучшает стабильность природной фосфатной связи.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, характеризующийся паттерном хиральных центров остова, описанным в данном документе. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды в композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью характеризуются общим паттерном хиральных центров остова, описанным в данном документе.

В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 25% межнуклеотидных связей dsRNAi-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 30% межнуклеотидных связей ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 40% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 50% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 60% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 65% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 70% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *Sp*-атом фосфора в составе связи. В

определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 75% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *S*_p-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 80% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *S*_p-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 85% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *S*_p-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 90% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *S*_p-атом фосфора в составе связи. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере приблизительно 95% межнуклеотидных связей представленного ds-олигонуклеотида характеризуются контролируемой хиральностью и содержат *S*_p-атом фосфора в составе связи.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, например композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, где композиция содержит неслучайный или контролируемый уровень совокупности олигонуклеотидов, где олигонуклеотиды из совокупности характеризуются общей последовательностью оснований и характеризуются одинаковой конфигурацией атома фосфора в составе связи независимо при 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 или 25 или больше хиральных межнуклеотидных связях.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат 2-30 межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления представленные композиции на основе ds-олигонуклеотидов содержат 5-30 межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления представленные композиции на основе ds-олигонуклеотидов содержат 10-30 межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет приблизительно 5% - 100%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96, 96%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет

приблизительно 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 96,5%, 98% или 99%.

В определенных вариантах осуществления паттерн хиральных центров остова в олигонуклеотиде dsRNAi содержит паттерн $i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$, $i^o-i^s-i^s-i^s-i^o$, $i^o-i^s-i^s-i^s-i^o-i^s$, $i^s-i^o-i^s-i^o$, $i^s-i^o-i^s-i^o$, $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$, $i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^o$, $i^s-i^o-i^s-i^s-i^s-i^o$, $i^s-i^s-i^o-i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^o-i^s-i^o-i^s-i^s-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$, $i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s-i^s$ или $i^r-i^r-i^r$, где i^s представляет собой межнуклеотидную связь в *Sr*-конфигурации; i^o представляет собой ахиральную межнуклеотидную связь; и i^r представляет собой межнуклеотидную связь в *Rp*-конфигурации.

В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь в *Sr*-конфигурации (содержащая *Sr*-атом фосфора в составе связи) представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления ахиральная межнуклеотидная связь представляет собой природную фосфатную связь. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь в *Rp*-конфигурации (содержащая *Rp*-атом фосфора в составе связи) представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в *Sr*-конфигурации представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая ахиральная межнуклеотидная связь представляет собой природную фосфатную связь. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в *Rp*-конфигурации представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь в *Sr*-конфигурации представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь, каждая ахиральная межнуклеотидная связь представляет собой природную фосфатную связь, и каждая межнуклеотидная связь в *Rp*-конфигурации представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

В определенных вариантах осуществления каждый из dsRNAi-олигонуклеотидов в композициях на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит разные типы межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере одну модифицированную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере две модифицированные межнуклеотидные связи. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере три модифицированные межнуклеотидные связи. В определенных вариантах осуществления

dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере четыре модифицированные межнуклеотидные связи. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере пять модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную триэфирную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфотиоатную триэфирную межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 последовательных модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления RNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 последовательных фосфотиоатных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну природную фосфатную связь и по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 последовательных фосфотиоатных триэфирных межнуклеотидных связей.

В определенных вариантах осуществления каждый из олигонуклеотидов в композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью содержит по меньшей мере две межнуклеотидные связи, которые характеризуются отличной стереохимической структурой и/или отличными Р-модификациями относительно друг друга. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере две межнуклеотидные связи характеризуются отличной стереохимической структурой относительно друг друга, и каждый из ds-олигонуклеотидов содержит паттерн хиральных центров остова, содержащий чередующуюся стереохимическую структуру атома фосфора в составе связи.

В определенных вариантах осуществления связь содержит хиральное вспомогательное средство, которое, например, применяется для контроля стереоселективности реакции,

например реакции сочетания в цикле ds-олигонуклеотидного синтеза. В определенных вариантах осуществления фосфотиоаттриэфирная связь не содержит хирального вспомогательного средства. В определенных вариантах осуществления фосфотиоаттриэфирную связь намеренно сохраняют до начала и/или во время введения композиции на основе олигонуклеотидов субъекту.

В определенных вариантах осуществления чистоту, в частности стереохимическую чистоту и в частности диастереомерную чистоту, многих ds-олигонуклеотидов и композиций на их основе, где все другие хиральные центры в ds-олигонуклеотидах за исключением хиральных центров в атомах фосфора в составе связи были стерически заданы (например, хиральные центры в атомах углерода в сахарах, которые были заданы, например, в фосфорамидитах для синтеза ds-олигонуклеотидов), можно контролировать посредством стереоселективности (как понятно специалистам в данной области, диастереоселективности во многих случаях синтеза ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотид содержит более одного хирального центра) по хиральному атому фосфора в составе связи на стадиях сочетания при образовании хиральных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления стадия сочетания характеризуется стереоселективностью (диастереоселективностью при наличии других хиральных центров), составляющей 60% по атому фосфора в составе связи. После такой стадии сочетания можно указать, что вновь образованная межнуклеотидная связь характеризуется 60% стереохимической чистотой (в случае ds-олигонуклеотидов, как правило, диастереомерной чистотой ввиду наличия других хиральных центров). В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 60%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 70%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 80%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 91%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 92%. В определенных вариантах

осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 93%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 94%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 96%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 97%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 98%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 99%. В определенных вариантах осуществления каждая стадия сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей по меньшей мере 99,5%. В определенных вариантах осуществления стадия сочетания характеризуется стереоселективностью, составляющей практически 100%. В определенных вариантах осуществления стадия сочетания характеризуется стереоселективностью, составляющей практически 100%, в том смысле, что каждый обнаруживаемый продукт, полученный на стадии сочетания, при анализе с помощью аналитического метода (например, ЯМР, HPLC и т. д.) характеризуется заданной стереоселективностью. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью, как правило, образуется при стереоселективности, составляющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99,5% или практически 100% (в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 90%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 95%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 96%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 97%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 98%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 99%). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью характеризуется стереохимической чистотой (как правило, диастереомерной чистотой в случае олигонуклеотидов с несколькими хиральными центрами), составляющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99,5% или практически 100% (в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 90%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 95%; в определенных

вариантах осуществления по меньшей мере 96%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 97%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 98%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 99%) по хиральному атому фосфора в составе этой связи. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью независимо характеризуется стереохимической чистотой (как правило, диастереомерной чистотой в случае олигонуклеотидов с несколькими хиральными центрами), составляющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99,5% или практически 100% (в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 90%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 95%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 96%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 97%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 98%; в определенных вариантах осуществления по меньшей мере 99%) по хиральному атому фосфора в составе этой связи. В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности, как правило, образуется при стереоселективности, составляющей менее 60%, 70%, 80%, 85, или 90% (в определенных вариантах осуществления менее 60%; в определенных вариантах осуществления менее 70%; в определенных вариантах осуществления менее 80%; в определенных вариантах осуществления менее 85%; в определенных вариантах осуществления менее 90%). В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности независимо образуется при стереоселективности, составляющей менее 60%, 70%, 80%, 85% или 90% (в определенных вариантах осуществления менее 60%; в определенных вариантах осуществления менее 70%; в определенных вариантах осуществления менее 80%; в определенных вариантах осуществления менее 85%; в определенных вариантах осуществления менее 90%). В определенных вариантах осуществления межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности характеризуется стереохимической чистотой (как правило, диастереомерной чистотой в случае олигонуклеотидов с несколькими хиральными центрами), составляющей менее 60%, 70%, 80%, 85% или 90% (в определенных вариантах осуществления менее 60%; в определенных вариантах осуществления менее 70%; в определенных вариантах осуществления менее 80%; в определенных вариантах осуществления менее 85%; в определенных вариантах осуществления менее 90%) по хиральному атому фосфора в составе этой связи. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности независимо характеризуется стереохимической чистотой (как правило, диастереомерной чистотой в случае олигонуклеотидов с несколькими

хиральными центрами), составляющей менее 60%, 70%, 80%, 85% или 90% (в определенных вариантах осуществления менее 60%; в определенных вариантах осуществления менее 70%; в определенных вариантах осуществления менее 80%; в определенных вариантах осуществления менее 85%; в определенных вариантах осуществления менее 90%) по хиральному атому фосфора в составе этой связи.

В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 реакций сочетания мономера (как понятно специалистам в данной области, в определенных вариантах осуществления фосфорамидита для синтеза олигонуклеотидов) независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее чем приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90% [в случае синтеза олигонуклеотидов, как правило, диастереоселективностью с точки зрения образованного хирального(хиральных) центра(центров) в атоме фосфора в составе связи]. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере одна реакция сочетания характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере две реакции сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере три реакции сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере четыре реакции сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере пять реакций сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления каждая реакция сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления каждая межнуклеотидная связь без контролируемой хиральности независимо образуется при стереоселективности, составляющей менее приблизительно 60%, 70%, 80%, 85% или 90%. В определенных вариантах осуществления стереоселективность составляет менее приблизительно 60%. В определенных вариантах осуществления стереоселективность составляет менее приблизительно 70%. В определенных вариантах осуществления стереоселективность составляет менее приблизительно 80%. В определенных вариантах осуществления стереоселективность составляет менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 реакций сочетания независимо

характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере одна реакция сочетания характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере две реакции сочетания характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере три реакции сочетания характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере четыре реакции сочетания характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере пять реакций сочетания характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления каждая реакция сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 реакций сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 85%. В определенных вариантах осуществления каждая реакция сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 85%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 реакций сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 80%. В определенных вариантах осуществления каждая реакция сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 80%. В определенных вариантах осуществления по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 реакций сочетания независимо характеризуются стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 70%. В определенных вариантах осуществления каждая реакция сочетания независимо характеризуется стереоселективностью, составляющей менее приблизительно 70%.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды и композиции по настоящему изобретению характеризуются высокой чистотой. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды и композиции по настоящему изобретению характеризуются высокой стереохимической чистотой. В определенных вариантах осуществления стереохимическая чистота, например диастереомерная чистота, составляет приблизительно 60% - 100%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет приблизительно 60% - 100%. В определенных вариантах осуществления

процентная доля составляет по меньшей мере 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 60%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 70%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 80%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 91%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 92%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 93%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 94%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 96%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 97%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 98%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 99%. В определенных вариантах осуществления диастереомерная чистота составляет по меньшей мере 99,5%.

В определенных вариантах осуществления соединения по настоящему изобретению (например, олигонуклеотиды, хиральные вспомогательные средства и т. д.) содержат несколько хиральных элементов (например, несколько хиральных центров в атомах углерода и/или фосфора (например, атом фосфора в составе связи в хиральных межнуклеотидных связях)). В определенных вариантах осуществления каждый из по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше хиральных элементов представленного соединения (например, ds-олигонуклеотида) независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый из по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше хиральных центров в атоме углерода представленного соединения независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый из по меньшей мере 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше хиральных центров в атоме

фосфора представленного соединения независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый хиральный элемент независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый хиральный центр независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый хиральный центр в атоме углерода независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый хиральный центр в атоме фосфора независимо характеризуется диастереомерной чистотой, описанной в данном документе. В определенных вариантах осуществления каждый хиральный центр в атоме фосфора независимо характеризуется диастереомерной чистотой, составляющей по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 93%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% или больше.

Как понятно среднему специалисту в данной области, в определенных вариантах осуществления диастереоселективность реакции сочетания или диастереомерную чистоту хирального центра в атоме фосфора можно оценить по диастереоселективности образования димера или диастереомерной чистоты димера, полученного в тех же или сопоставимых условиях, где димер имеет те же 5'- и 3'-нуклеозиды и межнуклеотидную связь.

Различные технологии можно использовать для идентификации или подтверждения стереохимии хиральных элементов (например, конфигурации хирального атома фосфора в составе связи) и/или паттернов хиральных центров остова, и/или для оценки стереоселективности (например, диастереоселективности стадий сочетания при олигонуклеотидном синтезе) и/или стереохимической чистоты (например, диастереомерной чистоты межнуклеотидных связей, соединений (например, олигонуклеотидов) и т. д.). Примеры технологий включают ЯМР [например, 1D (одномерную) и/или 2D (двухмерную) ^1H - ^{31}P HETCOR (гетероядерную корреляционную спектроскопию)], HPLC, RP-HPLC, масс-спектрометрию, LC-MS и расщепление межнуклеотидных связей с помощью стереоспецифических нуклеаз и т. д., которые можно использовать по отдельности или в комбинации. Примеры применимых нуклеаз включают бензоназу, нуклеазу микрококков и svPDE (фосфодиэстеразу змеиного яда), которые являются специфическими для определенных межнуклеотидных связей с атомом фосфора R_p в составе связи (например, фосфотиоатной связи R_p); и нуклеазу P1, нуклеазу бобов мунг и нуклеазу S1, которые являются специфическими для межнуклеотидных связей с атомом фосфора S_p в составе связи (например, фосфотиоатной связи S_p). Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, в настоящем изобретении отмечают, что по меньшей мере

в некоторых случаях на расщепление олигонуклеотидов под действием конкретной нуклеазы могут влиять структурные элементы, например химические модификации (например, 2'-модификации сахаров), последовательности оснований или стереохимические особенности окружения. Например, наблюдалось, что в некоторых случаях бензоназа и нуклеаза микрококков, которые являются специфическими для межнуклеотидных связей с атомом фосфора R_p в составе связи, были неспособны расщеплять отдельную фосфотиоатную межнуклеотидную связь R_p , фланкированную фосфотиоатными межнуклеотидными связями S_p .

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, характеризующиеся общей последовательностью оснований, общим паттерном связей в остове и общим паттерном хиральных центров остова, характеризуется общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций оснований. В определенных вариантах осуществления композиции на основе ds-олигонуклеотидов, характеризующиеся общей последовательностью оснований, общим паттерном связей в остове и общим паттерном хиральных центров остова, характеризуется общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, характеризующиеся общей последовательностью оснований, общим паттерном связей в остове и общим паттерном хиральных центров остова, имеют идентичные структуры.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе ds-олигонуклеотидов, содержащая совокупность олигонуклеотидов, способных направлять нокдаун, опосредованный RNAi, где ds-олигонуклеотиды из совокупности относятся к конкретному типу ds-олигонуклеотидов, при этом композиция характеризуется контролируемой хиральностью в том смысле, что она является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих такую же последовательность оснований, ds-олигонуклеотидами конкретного типа ds-олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, имеющие общую последовательность оснований, общий паттерн связей в остове и общий паттерн хиральных центров остова, характеризуются общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций оснований. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды, имеющие общую последовательность оснований, общий паттерн связей в остове и общий паттерн хиральных центров остова, характеризуются общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-

олигонуклеотиды, имеющие общую последовательность оснований, общий паттерн связей в остове и общий паттерн хиральных центров остова, имеют идентичные структуры.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, содержащие совокупность олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены композиции на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащие dsRNAi-олигонуклеотиды. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, последовательность оснований которого представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, последовательность оснований которого содержит последовательность оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, последовательность оснований которого содержит 15 смежных оснований из последовательности оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, который имеет последовательность оснований, содержащую 15 смежных оснований с 0-3 ошибками спаривания относительно последовательности оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, где dsRNAi-олигонуклеотиды содержат по меньшей мере одну хиральную межнуклеотидную связь, которая не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь без контролируемой хиральности, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит последовательность оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном

документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый T может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, содержащая хиральную межнуклеотидную связь без контролируемой хиральности, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида представляет собой последовательность оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый T может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен RNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь без контролируемой хиральности, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит 15 смежных оснований из последовательности оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый T может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь без контролируемой хиральности, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотидов содержит 15 смежных оснований с 0-3 ошибками спаривания относительно последовательности оснований, которая представляет собой последовательность RNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый T может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит последовательность оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый T может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, содержащая хиральную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, где последовательность оснований RNAi-олигонуклеотида представляет собой последовательность оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе,

или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен dsRNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, где последовательность оснований dsRNAi-олигонуклеотида содержит 15 смежных оснований из последовательности оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен RNAi-олигонуклеотид, содержащий хиральную межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью, где последовательность оснований RNAi-олигонуклеотидов содержит 15 смежных оснований с 0-3 ошибками спаривания относительно последовательности оснований, которая представляет собой последовательность dsRNAi, раскрытую в данном документе, или ее часть (например, различные последовательности оснований из таблицы 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот) или является комплементарной им.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций по атому фосфора в остове и общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций сахаров. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций оснований. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов характеризуются общим паттерном модификаций нуклеозидов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов характеризуются одинаковым составом. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов являются идентичными. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды такого же типа ds-олигонуклеотидов представляют собой одинаковые ds-олигонуклеотиды (как поймут специалисты в данной области техники, каждый из таких ds-олигонуклеотидов независимо может существовать в одной из различных форм ds-олигонуклеотида и может представлять собой одинаковые или разные формы ds-олигонуклеотида). В определенных вариантах осуществления каждый из ds-олигонуклеотидов такого же типа ds-

олигонуклеотидов независимо представляет собой одинаковый ds-олигонуклеотид или его фармацевтически приемлемую соль.

В определенных вариантах осуществления совокупность ds-олигонуклеотидов или ds-олигонуклеотиды конкретного типа ds-олигонуклеотидов в представленной композиции на основе ds-олигонуклеотидов представляют собой dsRNAi-олигонуклеотиды. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащая совокупность dsRNAi-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды характеризуются

- 1) общей последовательностью оснований;
- 2) общим паттерном связей в остове и
- 3) одинаковой стереохимической структурой атома фосфора в составе связи при

одной или нескольких хиральных межнуклеотидных связях (межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью), где композиция является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе олигонуклеотидов, характеризующихся общей последовательностью оснований и паттерном связей в остове, олигонуклеотидами из совокупности.

В определенных вариантах осуществления используемый в данном документе термин "один или несколько" или "по меньшей мере один" означает 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 или больше.

В определенных вариантах осуществления тип ds-олигонуклеотидов, кроме того, определяется по 4) дополнительному химическому фрагменту, если таковой имеется.

В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 10%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 20%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 30%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 40%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 50%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 60%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 70%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 75%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 80%. В

определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 85%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 90%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 91%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 92%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 93%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 94%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 95%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 96%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 97%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 98%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет по меньшей мере приблизительно 99%. В определенных вариантах осуществления процентная доля составляет или превышает $(DS)^{nc}$, где каждый из DS и nc независимо является таким, как описано в настоящем изобретении.

В определенных вариантах осуществления совокупность ds-олигонуклеотидов, например dsRNAi-олигонуклеотидов, характеризуется одинаковым составом. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды, например dsRNAi-олигонуклеотиды, из совокупности являются идентичными (являются одним и тем же стереоизомером). В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, например композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, представляет собой композицию на основе стереомерно чистых ds-олигонуклеотидов, где ds-олигонуклеотиды из совокупности являются идентичными (являются одним и тем же стереоизомером), и композиция не содержит каких-либо других стереоизомеров. Специалистам в данной области техники будет понятно, что один или несколько других стереоизомеров могут существовать в виде примесей, поскольку способы, уровни селективности, очистки и т. д. могут не обеспечивать достижения полной очистки.

В определенных вариантах осуществления представленная композиция характеризуется тем, что при приведении ее в контакт с нуклеиновой кислотой-мишенью (например, транскриптом (например, пре-мРНК, зрелой мРНК, другими типами РНК и т. д., которые гибридизируются с олигонуклеотидами в композиции)), уровни нуклеиновой кислоты-мишени и/или продукта, кодируемого ею, снижаются по сравнению с уровнем,

наблюдаемым при эталонном условии. В определенных вариантах осуществления эталонное условие выбрано из группы, состоящей из отсутствия композиции, присутствия эталонной композиции и их комбинаций. В определенных вариантах осуществления эталонным условием является отсутствие композиции. В определенных вариантах осуществления эталонным условием является присутствие эталонной композиции. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию, олигонуклеотиды в которой не гибридизируются с нуклеиновой кислотой-мишенью. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию, олигонуклеотиды в которой не содержат последовательности, которая в достаточной степени комплементарна нуклеиновой кислоте-мишени. В определенных вариантах осуществления представленная композиция представляет собой композицию на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, а эталонная композиция представляет собой композицию на основе олигонуклеотидов без контролируемой хиральности, которая в остальном является идентичной, но не характеризуется контролируемой хиральностью (например, представляет собой рацемический препарат на основе олигонуклеотидов того же состава, что и олигонуклеотиды из совокупности в композиции на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью).

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлена композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащая совокупность dsRNAi-олигонуклеотидов, способных направлять нокдаун, опосредованный RNAi, где олигонуклеотиды характеризуются

- 1) общей последовательностью оснований,
- 2) общим паттерном связей в остове и
- 3) одинаковой стереохимической структурой атома фосфора в составе связи при одной или нескольких (например, 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 или больше) хиральных межнуклеотидных связях (межнуклеотидных связях с контролируемой хиральностью),

где композиция является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе олигонуклеотидов, характеризующихся общей последовательностью оснований и паттерном связей в остове, олигонуклеотидами из совокупности, при этом композиция на основе ds-олигонуклеотидов характеризуется тем, что при приведении ее в контакт с транскриптом в системе нокдауна, опосредованного dsRNAi, нокдаун транскрипта улучшается относительно наблюдаемого при эталонных условиях, выбранных из группы, состоящей из отсутствия композиции, присутствия эталонной композиции и их

комбинации.

Как отмечено выше и понятно в данной области техники, в определенных вариантах осуществления последовательность оснований ds-олигонуклеотида может относиться к природе и/или статусу модификаций нуклеозидных остатков (например, компонентов сахаров и/или оснований по сравнению со стандартными встречающимися в природе нуклеотидами, такими как аденин, цитозин, гуанозин, тимин и урацил) в ds-олигонуклеотиде и/или к характеру гибридизации (т. е. способности гибридизоваться с конкретными комплементарными остатками) таких остатков.

Как продемонстрировано в данном документе, структурные элементы ds-олигонуклеотидов (например, паттерны модификаций сахаров, связей основа, хиральных центров остова, модификаций по атому фосфора в остове и т. д.) и их комбинации могут обеспечивать неожиданное улучшение свойств и/или видов биоактивности.

В определенных вариантах осуществления композиции на основе ds-олигонуклеотидов способны обеспечивать снижение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или его генного продукта. В определенных вариантах осуществления композиции на основе ds-олигонуклеотидов способны обеспечивать снижение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или его генного продукта путем стерического блокирования трансляции после гибридизации с мРНК гена-мишени, путем расщепления мРНК (пре-мРНК или зрелой мРНК) и/или путем изменения или препятствования сплайсингу мРНК. В определенных вариантах осуществления представленные композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов способны обеспечивать снижение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или его генного продукта. В определенных вариантах осуществления представленные композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов способны обеспечивать снижение экспрессии, уровня и/или активности гена-мишени или его генного продукта путем стерического блокирования трансляции после гибридизации с мРНК гена-мишени, путем расщепления мРНК-мишени (пре-мРНК или зрелой мРНК) и/или путем изменения или препятствования сплайсингу мРНК.

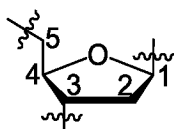
В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов, например композиция на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, представляет собой по сути чистый препарат на основе единственного стереоизомера ds-олигонуклеотида, например стереоизомер dsRNAi-олигонуклеотида, в том смысле, что олигонуклеотиды в композиции, которые не относятся к стереоизомеру олигонуклеотида, представляют собой примеси, образующиеся в ходе способа получения указанного стереоизомера ds-олигонуклеотида, в некоторых случаях после определенных процедур очистки.

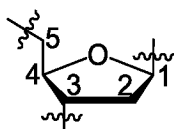
В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды и композиции на основе олигонуклеотидов, которые характеризуются контролируемой хиральностью и в определенных вариантах осуществления являются стереомерно чистыми. Например, в определенных вариантах осуществления представленная композиция содержит неслучайные или контролируемые уровни одного или нескольких отдельных типов олигонуклеотидов, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды такого же типа олигонуклеотидов являются идентичными.

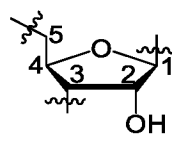
3. Сахара

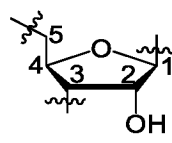
В соответствии с настоящим изобретением можно использовать различные сахара, включая модифицированные сахара. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлены модификации сахаров и их паттерны, необязательно в комбинации с другими структурными элементами (например, модификациями межнуклеотидных связей и их паттернами, паттерном хиральных центров их остова и т. д.), которые при встраивании в олигонуклеотиды могут обеспечивать улучшенные свойства и/или виды активности.

Наиболее часто встречающиеся в природе нуклеозиды содержат рибозные сахара (например, в РНК) или дезоксирибозные сахара (например, в ДНК), связанные с нуклеиновыми основаниями аденозином (А), цитозином (С), гуанином (G), тиминном (Т) или урацилом (U). В определенных вариантах осуществления сахар, например различные сахара во многих олигонуклеотидах из таблицы 1 (если не отмечено иное), представляет собой природный сахар ДНК (в нуклеиновых кислотах или олигонуклеотидах ДНК



характеризующийся структурой , где нуклеиновое основание присоединено к 1'-положению, а 3'- и 5'-положения соединены с межнуклеотидными связями (как понятно специалистам в данной области техники, если он находится на 5'-конце ds-олигонуклеотида, 5'-положение может быть соединено с 5'-концевой группой (например, -ОН), а если он находится на 3'-конце ds-олигонуклеотида, 3'-положение может быть соединено с 3'-концевой группой (например, -ОН). В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой природный сахар РНК (в нуклеиновых кислотах

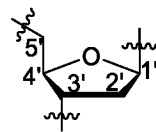


или олигонуклеотидах РНК характеризующийся структурой , где нуклеиновое основание присоединено к 1'-положению, а 3'- и 5'-положения соединены с

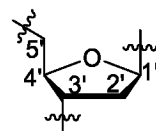
межнуклеотидными связями (как понятно специалистам в данной области техники, если он находится на 5'-конце ds-олигонуклеотида, 5'-положение может быть соединено с 5'-концевой группой (например, -ОН), а если он находится на 3'-конце ds-олигонуклеотида, 3'-положение может быть соединено с 3'-концевой группой (например, -ОН). В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой модифицированный сахар в том смысле, что он не является природным сахаром ДНК или природным сахаром РНК. Среди всего прочего модифицированные сахара могут обеспечивать повышение стабильности. В определенных вариантах осуществления модифицированные сахара можно использовать для изменения и/или оптимизации одной или нескольких характеристик гибридизации. В определенных вариантах осуществления модифицированные сахара можно использовать для изменения и/или оптимизации распознавания мишени. В определенных вариантах осуществления модифицированные сахара можно использовать для оптимизации T_m . В определенных вариантах осуществления модифицированные сахара можно использовать для улучшения форм активности олигонуклеотида.

Сахара могут быть соединены с межнуклеотидными связями в различных положениях. В качестве неограничивающих примеров, межнуклеотидные связи могут быть соединены с 2'-, 3'-, 4'- или 5'-положениями в сахарах. В определенных вариантах осуществления, как это наиболее часто встречается в природных нуклеиновых кислотах, межнуклеотидная связь соединена с одним сахаром в 5'-положении и с другим сахаром в 3'-положении, если не указано иное.

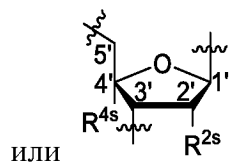
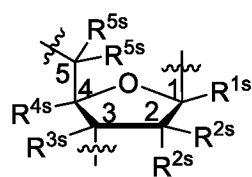
В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой необязательно замещенный природный сахар ДНК или РНК. В определенных вариантах осуществления



сахар представляет собой необязательно замещенный . В определенных вариантах осуществления 2'-положение является необязательно замещенным. В

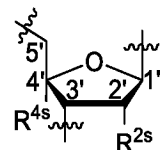


определенных вариантах осуществления сахар представляет собой . В определенных вариантах осуществления сахар характеризуется структурой



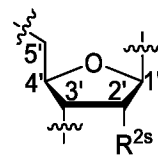
или , где каждый из R^{1s} , R^{2s} , R^{3s} , R^{4s} и R^{5s} независимо

представляет собой –H, подходящий заместитель или подходящую модификацию сахара (например, описанные в US 9394333, US 9744183, US 9605019, US 9982257, US 20170037399, US 20180216108, US 20180216107, US 9598458, WO 2017/062862, WO 2018/067973, WO 2017/160741, WO 2017/192679, WO 2017/210647, WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO2019/032612, WO 2019/055951 и/или WO 2019/075357, при этом заместители, модификации сахаров, описания R^{1s} , R^{2s} , R^{3s} , R^{4s} и R^{5s} и модифицированные сахара из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки).



В определенных вариантах осуществления сахар характеризуется структурой

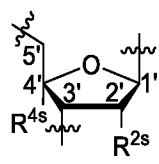
В определенных вариантах осуществления R^{4s} представляет собой –H. В определенных



вариантах осуществления сахар характеризуется структурой

где R^{2s} представляет собой –H, галоген или –OR, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой –H. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой –F. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой –OMe. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой –OCH₂CH₂OMe.

В определенных вариантах осуществления сахар характеризуется структурой



где R^{2s} и R^{4s} взяты вместе с образованием –L^s–, где L^s представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную C_{1-6} алифатическую группу или гетероалифатическую группу, содержащую 1-4 гетероатома. В определенных вариантах осуществления каждый гетероатом независимо выбран из азота, кислорода или серы. В определенных вариантах осуществления L^s представляет собой необязательно замещенный C2–O–CH₂–C4. В определенных вариантах осуществления L^s представляет собой C2–O–CH₂–C4. В определенных вариантах осуществления L^s представляет собой C2–O–(R)–CH(CH₂CH₃)–C4. В определенных вариантах осуществления L^s представляет собой C2–O–(S)–CH(CH₂CH₃)–C4.

В определенных вариантах осуществления модифицированный сахар содержит один или несколько заместителей в 2'-положении (как правило, один заместитель и часто в осевом

положении), независимо выбранных из $-F$; $-CF_3$, $-CN$, $-N_3$, $-NO$, $-NO_2$, $-OR'$, $-SR'$ или $-N(R')$, где каждый R' независимо представляет собой необязательно замещенную C_{1-10} алифатическую группу; $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-S-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$ или $-N(C_1-C_{10} \text{ алкил})_2$; $-O-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$, $-S-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$, $-NH-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$ или $-N(C_2-C_{10} \text{ алкенил})_2$; $-O-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$, $-S-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$, $-NH-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$ или $-N(C_2-C_{10} \text{ алкинил})_2$ или $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, или $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-NH(C_1-C_{10} \text{ алкил})_2$, $-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, или $-N(C_1-C_{10} \text{ алкил})-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, где каждый из алкила, алкилена, алкенила и алкинила независимо и необязательно является замещенным. В определенных вариантах осуществления заместитель представляет собой $-O(CH_2)_nOCH_3$, $-O(CH_2)_nNH_2$, MOE, DMAOE или DMAEOE, где n составляет от 1 до приблизительно 10.

В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН рибозы заменен группой, выбранной из $-H$, $-F$; $-CF_3$, $-CN$, $-N_3$, $-NO$, $-NO_2$, $-OR'$, $-SR'$ или $-N(R')$, где каждый R' независимо описан в настоящем изобретении; $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-S-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$ или $-N(C_1-C_{10} \text{ алкил})_2$; $-O-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$, $-S-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$, $-NH-(C_2-C_{10} \text{ алкенил})$ или $-N(C_2-C_{10} \text{ алкенил})_2$; $-O-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$, $-S-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$, $-NH-(C_2-C_{10} \text{ алкинил})$, или $-N(C_2-C_{10} \text{ алкинил})_2$, или $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, или $-O-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-NH(C_1-C_{10} \text{ алкил})_2$, $-NH-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, или $-N(C_1-C_{10} \text{ алкил})-(C_1-C_{10} \text{ алкилен})-O-(C_1-C_{10} \text{ алкил})$, где каждый из алкила, алкилена, алкенила и алкинила независимо и необязательно является замещенным. В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН заменен на $-H$ (дезоксирибоза). В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН заменен на $-F$. В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН заменен на $-OR'$. В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН заменен на $-OMe$. В определенных вариантах осуществления $2'$ -ОН заменен на $-OCH_2CH_2OMe$.

В определенных вариантах осуществления модификация сахара представляет собой $2'$ -модификацию. Обычно применяемые $2'$ -модификации включают без ограничения $2'$ -OR, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления модификация представляет собой $2'$ -OR, где R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В определенных вариантах осуществления модификация представляет собой $2'$ -OMe. В определенных вариантах осуществления модификация представляет собой $2'$ -MOE. В определенных вариантах осуществления $2'$ -модификация представляет собой S-cEt. В определенных вариантах осуществления модифицированный сахар представляет собой сахар LNA. В определенных вариантах осуществления $2'$ -модификация представляет собой $-F$.

В определенных вариантах осуществления модификация сахара заменяет сахарный фрагмент на другой циклический или ациклический фрагмент. Примеры таких фрагментов широко известны в данной области техники, включая без ограничений фрагменты, используемые в морфолиновых (необязательно с их фосфородиамидатной связью), гликолевых нуклеиновых кислотах и т.д.

В определенных вариантах осуществления один или несколько из сахаров олигонуклеотида АТХNЗ являются модифицированными. В определенных вариантах осуществления каждый сахар ds-олигонуклеотида независимо является модифицированным. В определенных вариантах осуществления модифицированный сахар содержит 2'-модификацию. В определенных вариантах осуществления каждый модифицированный сахар независимо содержит 2'-модификацию. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-OR, где R представляет собой необязательно замещенную C₁₋₆-алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-OMe. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-MOE. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой LNA-модификацию сахара. В определенных вариантах осуществления 2'-модификация представляет собой 2'-F. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара независимо представляет собой 2'-модификацию. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара независимо представляет собой 2'-OR. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара независимо представляет собой 2'-OR, где R представляет собой необязательно замещенный C₁₋₆-алкил. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара представляет собой 2'-OMe. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара представляет собой 2'-MOE. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара независимо представляет собой 2'-OMe или 2'-MOE. В определенных вариантах осуществления каждая модификация сахара независимо представляет собой 2'-OMe, 2'-MOE или сахар LNA.

Как будет понятно специалистам в данной области, модификации сахаров, нуклеиновых оснований, межнуклеотидных связей и т. д. могут использоваться и зачастую используются в комбинации в олигонуклеотидах, например, см. различные олигонуклеотиды, указанные в таблице 1. Например, комбинацией модификации сахара и модификации нуклеинового основания являются 2'-F (сахар)-5-метил (нуклеиновое основание)-модифицированные нуклеозиды. В определенных вариантах осуществления комбинация представляет собой замену рибозильного кольцевого атома кислорода на S и замещение в 2'-положении.

В определенных вариантах осуществления сахар представляет собой сахар, который

описан в 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 и/или WO 2019/032612, при этом сахара из каждого из них включены в данный документ посредством ссылки.

Различные дополнительные сахара, применимые при получении олигонуклеотидов или их аналогов, известны в данной области техники и могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением.

4. Нуклеиновые основания

В соответствии с настоящим изобретением в представленных ds-олигонуклеотидах можно использовать различные нуклеиновые основания. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой природное нуклеиновое основание, при этом наиболее часто встречающиеся из них представляют собой А, Т, С, G и U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой модифицированное нуклеиновое основание в том смысле, что оно не представляет собой А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный А, Т, С, G или U, или замещенный таутомер А Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный А, Т, С, G или U, например 5mC, 5-гидроксиметил-С и т. д. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой замещенный алкилом А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой А. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой Т. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой С. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой G. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой 5mC. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой замещенный А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой замещенный таутомер А, Т, С, G или U. В определенных вариантах осуществления замещение обеспечивает защиту определенных функциональных групп в нуклеиновых основаниях для сведения к минимуму нежелательных реакций во время олигонуклеотидного синтеза. Подходящие технологии защиты нуклеиновых оснований при олигонуклеотидном синтезе широко известны в данной области техники и могут

использоваться в соответствии с настоящим изобретением. В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания улучшают свойства и/или виды активности ds-олигонуклеотидов. Например, во многих случаях 5mC можно использовать вместо C для модуляции определенных нежелательных биологических эффектов, например иммунных ответов. В определенных вариантах осуществления при определении идентичности последовательности замещенное нуклеиновое основание, характеризующееся таким же паттерном связывания водорода, принимают таким же как незамещенное нуклеиновое основание, например, 5mC может рассматриваться как такое же как C [например, считается, что ds-олигонуклеотид, содержащий 5mC вместо C (например, AT5mCG), имеет такую же последовательность оснований, что и ds-олигонуклеотид, содержащий C в соответствующем(-их) местоположении(-ях) (например, ATCG)].

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько A, T, C, G или U. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько необязательно замещенных A, T, C, G или U. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько остатков 5-метилцитидина, 5-гидроксиметилцитидина, 5-формилцитозина или 5-карбоксилцитозина. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько 5-метилцитидинов. В определенных вариантах осуществления каждое нуклеиновое основание в ds-олигонуклеотиде выбрано из группы, состоящей из необязательно замещенных A, T, C, G и U, и необязательно замещенных таутомеров A, T, C, G и U.

В определенных вариантах осуществления каждое нуклеиновое основание в ds-олигонуклеотиде представляет собой необязательно защищенный A, T, C, G и U. В определенных вариантах осуществления каждое нуклеиновое основание в ds-олигонуклеотиде представляет собой необязательно замещенный A, T, C, G или U. В определенных вариантах осуществления каждое нуклеиновое основание в ds-олигонуклеотиде выбрано из группы, состоящей из A, T, C, G, U и 5mC.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный 2AP или DAP. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный 2AP. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный DAP. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой 2AP. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой DAP.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой природное нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание, полученное из природного нуклеинового основания. Примеры включают урацил, тимин, аденин, цитозин и гуанин, у которых их соответствующие аминогруппы необязательно защищены ацильными защитными группами, 2-фторурацил, 2-фторцитозин, 5-бром урацил, 5-йод урацил, 2,6-диаминопурин, азацитозин, пиримидиновые аналоги, такие как псевдоизоцитозин и псевдоурацил, и другие модифицированные нуклеиновые основания, такие как 8-замещенные пурины, ксантин или гипоксантин (последние два являются продуктами природного распада). Определенные примеры модифицированных нуклеиновых оснований раскрыты в Chiu and Rana, RNA, 2003, 9, 1034-1048, Limbach et al. Nucleic Acids Research, 1994, 22, 2183-2196 и Revankar and Rao, Comprehensive Natural Products Chemistry, vol. 7, 313. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой замещенный урацил, тимин, аденин, цитозин или гуанин. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой функциональную замену, например, с точки зрения образования водородной связи и/или образования пары оснований, урацила, тимина, аденина, цитозина или гуанина. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой необязательно замещенный урацил, тимин, аденин, цитозин, 5-метилцитозин или гуанин. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой урацил, тимин, аденин, цитозин, 5-метилцитозин или гуанин.

В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид содержит один или несколько 5-метилцитозинов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотид, последовательность оснований которого раскрыта в данном документе, например в таблице 1, где каждый Т может быть независимо заменен на U и наоборот и каждый цитозин необязательно и независимо заменен на 5-метилцитозин или наоборот. Как понятно специалистам в данной области техники, в определенных вариантах осуществления 5mC может рассматриваться как С с точки зрения последовательности оснований олигонуклеотида – такой олигонуклеотид содержит модификацию нуклеинового основания в положении С (например, см. различные олигонуклеотиды в таблице 1). Как правило, при описании олигонуклеотидов, если не указано иное, нуклеиновые основания, сахара и межнуклеотидные связи являются немодифицированными.

В определенных вариантах осуществления модифицированное основание представляет собой необязательно замещенный аденин, цитозин, гуанин, тимин или урацил или их

таутомер. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой модифицированный аденин, цитозин, гуанин, тимин или урацил, модифицированный одной или несколькими модификациями, с помощью которых:

- 1) нуклеиновое основание модифицируют одним или несколькими необязательно замещенными группами, независимо выбранными из ацила, галогена, амина, азиды, алкила, алкенила, алкинила, арила, гетероалкила, гетероалкенила, гетероалкинила, гетероцикла, гетероарила, карбоксила, гидроксила, биотина, авидина, стрептавидина, замещенного силила и их комбинаций;
- 2) один или несколько атомов нуклеинового основания независимо заменены другим атомом, выбранным из углерода, азота и серы;
- 3) одна или несколько двойных связей в нуклеиновом основании независимо являются гидрированными; или
- 4) одно или несколько арильных или гетероарильных колец независимо встроены в нуклеиновое основание.

В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой модифицированное нуклеиновое основание, известное из уровня техники, например из WO 2017/210647. В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания представляют собой нуклеиновые основания увеличенного размера, в которые были добавлены одно или несколько арильных и/или гетероарильных колец, таких как фенильные кольца.

В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание выбрано из 5-замещенных пиримидинов, 6-азапиримидинов, алкил- или алкинилзамещенных пиримидинов, алкилзамещенных пуринов и N-2-, N-6- и O-6-замещенных пуринов. В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания выбраны из 2-аминопропиладенина, 5-гидроксиметилцитозина, ксантина, гипоксантина, 2-аминоаденина, 6-N-метилгуанина, 6-N-метиладенина, 2-пропиладенина, 2-тиоурацила, 2-тиотимина и 2-тиоцитозина, 5-пропинил(-C≡C-CH₃)урацила, 5-пропинилцитозина, 6-азоурацила, 6-азоцитозина, 6-азотимина, 5-рибозилурацила (псевдоурацила), 4-тиоурацила, 8-галоген-, 8-амино-, 8-тиол-, 8-тиоалкил-, 8-гидроксил-, 8-аза- и других 8-замещенных пуринов, 5-галоген-, в частности 5-бром-, 5-трифторметил-, 5-галогенурацил- и 5-галогенцитозина, 7-метилгуанина, 7-метиладенина, 2-F-аденина, 2-аминоаденина, 7-дезагуанина, 7-дезааденина, 3-дезагуанина, 3-дезааденина, 6-N-бензоиладенина, 2-N-изобутирилгуанина, 4-N-бензоилцитозина, 4-N-бензоилурацила, 5-метил-4-N-бензоилцитозина, 5-метил-4-N-бензоилурацила, универсальных оснований, гидрофобных оснований, неизбирательных оснований,

оснований увеличенного размера и фторированных оснований. В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания представляют собой трициклические пиримидины, такие как 1,3-дизафеноксазин-2-он, 1,3-дизафенотиазин-2-он или 9-(2-аминоэтокси)-1,3-дизафеноксазин-2-он (G-фиксирующее основание). В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания представляют собой основания, в которых пуриновое или пиримидиновое основание заменено на другие гетероциклы, например 7-дезааденин, 7-дезагуанозин, 2-аминопиридин или 2-пиридон.

В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание является замещенным. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание замещено так, что оно содержит, например, гетероатомы, алкильные группы или связывающие фрагменты, соединенные с флуоресцентными фрагментами, биотиновым или авидиновым фрагментами или другим белком или пептидами. В определенных вариантах осуществления модифицированное нуклеиновое основание представляет собой "универсальное основание", которое не является нуклеиновым основанием в наиболее классическом смысле, но которое выполняет функции аналогично нуклеиновому основанию. Одним из примеров универсального основания является 3-нитропиррол.

В определенных вариантах осуществления нуклеозиды, которые можно использовать в представленных технологиях, содержат модифицированные нуклеиновые основания и/или модифицированные сахара, например, 4-ацетилцитидин; 5-(карбоксигидроксилометил)уридин; 2'-О-метилцитидин; 5-карбоксиметиламинметил-2-тиоуридин; 5-карбоксиметиламинметилуридин; дигидроуридин; 2'-О-метилпсевдоуридин; бета-D-галактозилквеозин; 2'-О-метилгуанозин; N⁶-изопентениладенозин; 1-метиладенозин; 1-метилпсевдоуридин; 1-метилгуанозин; 1-метилюридин; 2,2-диметилгуанозин; 2-метиладенозин; 2-метилгуанозин; N⁷-метилгуанозин; 3-метилцитидин; 5-метилцитидин; 5-гидроксиметилцитидин; 5-формилцитозин; 5-карбоксилцитозин; N⁶-метиладенозин; 7-метилгуанозин; 5-метиламиноэтилуридин; 5-метоксиаминометил-2-тиоуридин; бета-D-маннозилквеозин; 5-метоксикарбонилметилуридин; 5-метоксиуридин; 2-метилтио-N⁶-изопентениладенозин; N-((9-бета-D-рибофуранозил-2-метилтиопурин-6-ил)карбамоил)треонин; N-((9-бета-D-рибофуранозилпурин-6-ил)-N-метилкарбамоил)треонин; сложный метиловый эфир уридин-5-оксиуксусной кислоты; уридин-5-оксиуксусную кислоту (v); псевдоуридин; квеозин; 2-тиоцитидин; 5-метил-2-тиоуридин; 2-тиоуридин; 4-тиоуридин; 5-метилуридин; 2'-О-метил-5-метилуридин и 2'-О-метилуридин. В определенных вариантах осуществления

нуклеиновое основание, например, модифицированное нуклеиновое основание, содержит один или несколько фрагментов для связывания биомолекул, таких как, например, антитела, фрагменты антител, биотин, авидин, стрептавидин, лиганды рецепторов или хелатирующие фрагменты. В других вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой 5-бромурацил, 5-йодурацил или 2,6-диаминопурин. В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание содержит замещение флуоресцентным фрагментом или фрагментом для связывания биомолекул. В определенных вариантах осуществления заместитель представляет собой флуоресцентный фрагмент.

В определенных вариантах осуществления заместитель представляет собой биотин или авидин.

В определенных вариантах осуществления нуклеиновое основание представляет собой нуклеиновое основание, которое описано в 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 и/или WO 2019/032612, при этом нуклеиновые основания из каждого из них включены в данный документ посредством ссылки.

5. Дополнительные химические фрагменты

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит один или несколько дополнительных химических фрагментов. Различные дополнительные химические фрагменты, например нацеливающие фрагменты, углеводные фрагменты, липидные фрагменты и т. д., известны из уровня техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением для модулирования свойств и/или видов активности представленных олигонуклеотидов, например стабильности, периода полувыведения, видов активности, доставки, фармакодинамических свойств, фармакокинетических свойств и т. д. В определенных вариантах осуществления определенные дополнительные химические фрагменты облегчают доставку олигонуклеотидов к требуемым клеткам, тканям и/или органам, включая без ограничения клетки центральной нервной системы. В определенных вариантах осуществления определенные дополнительные химические фрагменты способствуют интернализации олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления определенные дополнительные химические фрагменты повышают стабильность олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены технологии включения различных дополнительных химических фрагментов в

олигонуклеотиды.

В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид, содержащий дополнительный химический фрагмент, демонстрирует улучшенную доставку и/или активность в ткани по сравнению с эталонным олигонуклеотидом, например эталонным олигонуклеотидом, который не содержит дополнительного химического фрагмента, а в остальном является идентичным.

В определенных вариантах осуществления неограничивающие примеры дополнительных химических фрагментов включают углеводные фрагменты, нацеливающие фрагменты и т. д., которые при включении в состав олигонуклеотидов могут улучшать одно или несколько свойств. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент выбран из глюкозы, GluNAc (N-ацетиламиноглюкозамина) и анизамидных фрагментов. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид может содержать два или больше дополнительных химических фрагментов, где дополнительные химические фрагменты являются идентичными или неидентичными, или относятся к одинаковой категории (например, углеводный фрагмент, сахарный фрагмент, нацеливающий фрагмент и т. д.) или к неодинаковой категории.

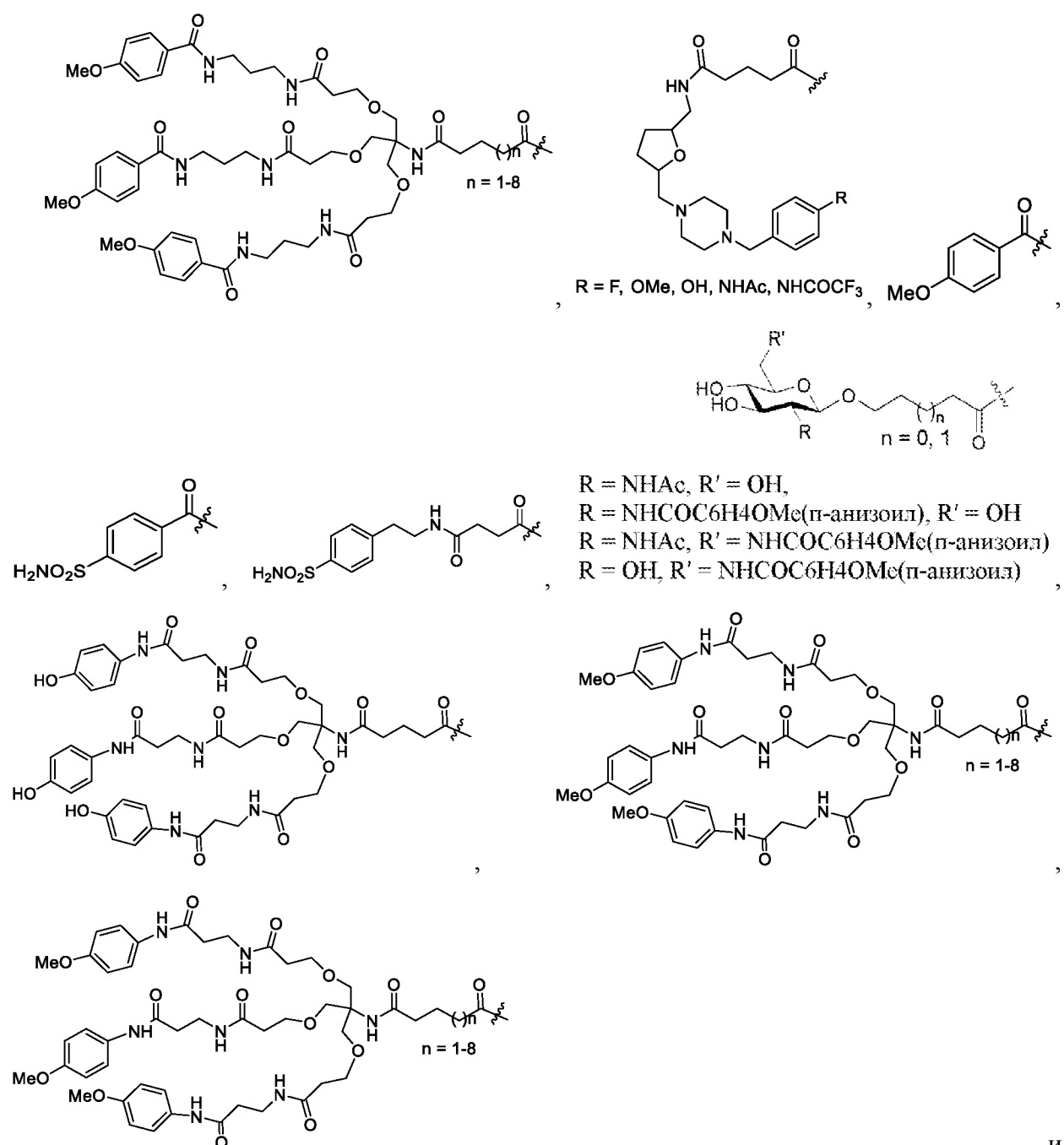
В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой нацеливающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит углеводный фрагмент. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит липидный фрагмент. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит фрагмент-лиганд для, например, клеточных рецепторов, таких как сигма-рецептор, асиалогликопротеиновый рецептор и т. д. В определенных вариантах осуществления фрагмент-лиганд представляет собой или содержит анизамидный фрагмент, который может представлять собой фрагмент-лиганд для сигма-рецептора. В определенных вариантах осуществления фрагмент-лиганд представляет собой или содержит фрагмент GalNAc, который может представлять собой фрагмент-лиганд для асиалогликопротеинового рецептора. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент облегчает доставку в печень.

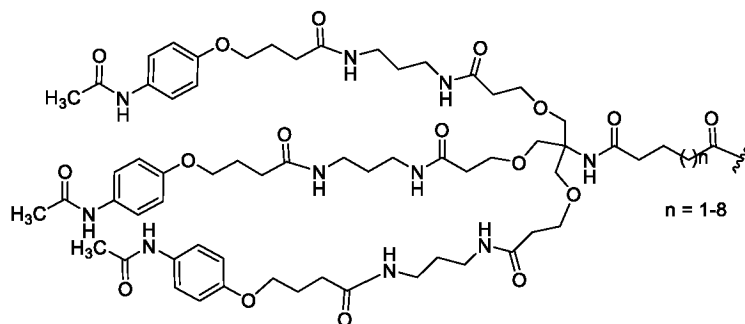
В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид может содержать один или несколько линкеров и дополнительных химических фрагментов (например, нацеливающих фрагментов), и/или может характеризоваться контролируемой хиральностью или не характеризоваться контролируемой хиральностью, и/или имеет

последовательность оснований и/или одну или несколько модификаций и/или форматов, как описано в данном документе.

В соответствии с настоящим изобретением можно использовать различные линкеры, углеводные фрагменты и нацеливающие фрагменты, включая многие известные в данной области техники. В определенных вариантах осуществления углеводный фрагмент представляет собой нацеливающий фрагмент. В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент представляет собой углеводный фрагмент.

В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид содержит дополнительный химический фрагмент, подходящий для доставки, например, глюкозу, GluNAc (N-ацетиламиноглюкозамин) и анизамид, или структуру, выбранную из





В определенных вариантах осуществления n равняется 1. В определенных вариантах осуществления n равняется 2. В определенных вариантах осуществления n равняется 3. В определенных вариантах осуществления n равняется 4. В определенных вариантах осуществления n равняется 5. В определенных вариантах осуществления n равняется 6. В определенных вариантах осуществления n равняется 7. В определенных вариантах осуществления n равняется 8.

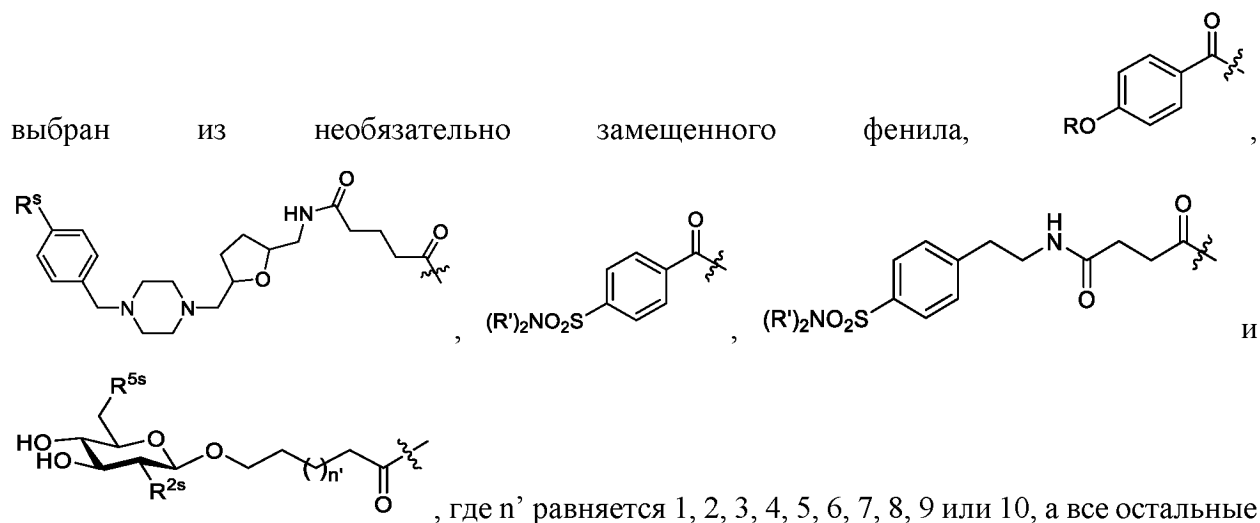
В определенных вариантах осуществления дополнительные химические фрагменты представляют собой любые из фрагментов, описанных в примерах, включая примеры различных дополнительных химических фрагментов, включенных в состав различных олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент, конъюгированный с ds-олигонуклеотидом, способен нацеливать ds-олигонуклеотид на клетку центральной нервной системы.

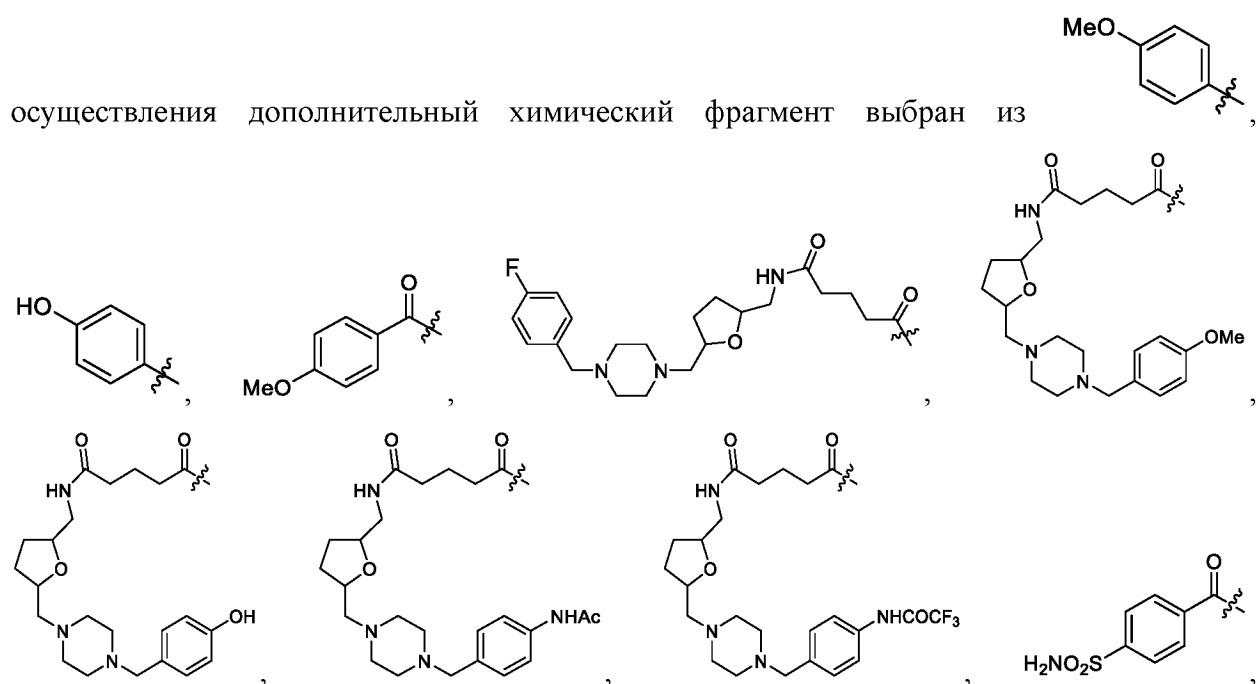
В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент содержит или представляет собой лиганд клеточного рецептора. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент содержит или представляет собой связывающий белок, например, который связывается с белком клеточной поверхности. Такие фрагменты, среди прочего, могут быть применимы для целенаправленной доставки ds-олигонуклеотидов в клетки, экспрессирующие соответствующие рецепторы или белки. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представленного ds-олигонуклеотида содержит анизамид или его производное или аналог и способен нацеливать ds-олигонуклеотид на клетку, экспрессирующую конкретный рецептор, такой как рецептор сигма-1.

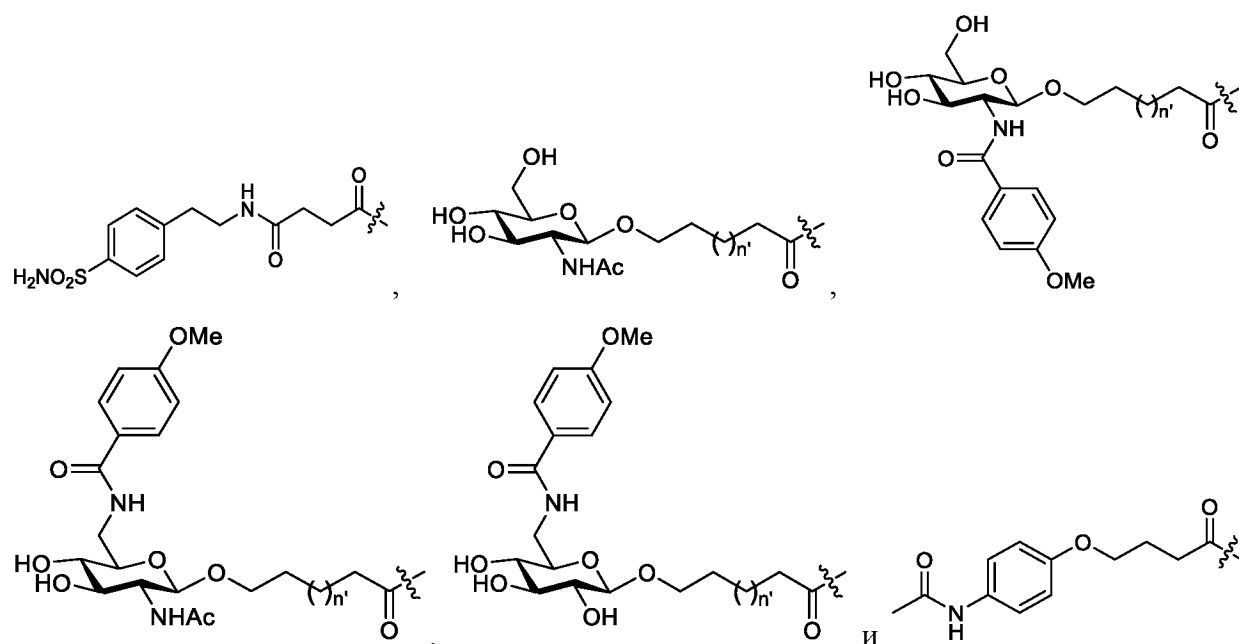
В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид составлен для введения в клетку и/или ткань организма, экспрессирующие его мишень. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент, конъюгированный с ds-олигонуклеотидом, способен нацеливать олигонуклеотид на клетку.

В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



В определенных вариантах осуществления R^s представляет собой F. В определенных вариантах осуществления R^s представляет собой OMe. В определенных вариантах осуществления R^s представляет собой OH. В определенных вариантах осуществления R^s представляет собой NHAc. В определенных вариантах осуществления R^s представляет собой $NHCOCF_3$. В определенных вариантах осуществления R' представляет собой H. В определенных вариантах осуществления R представляет собой H. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой NHAc, и R^{5s} представляет собой OH. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой p-анизоил, и R^{5s} представляет собой OH. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой NHAc, и R^{5s} представляет собой p-анизоил. В определенных вариантах осуществления R^{2s} представляет собой OH, и R^{5s} представляет собой p-анизоил. В определенных вариантах





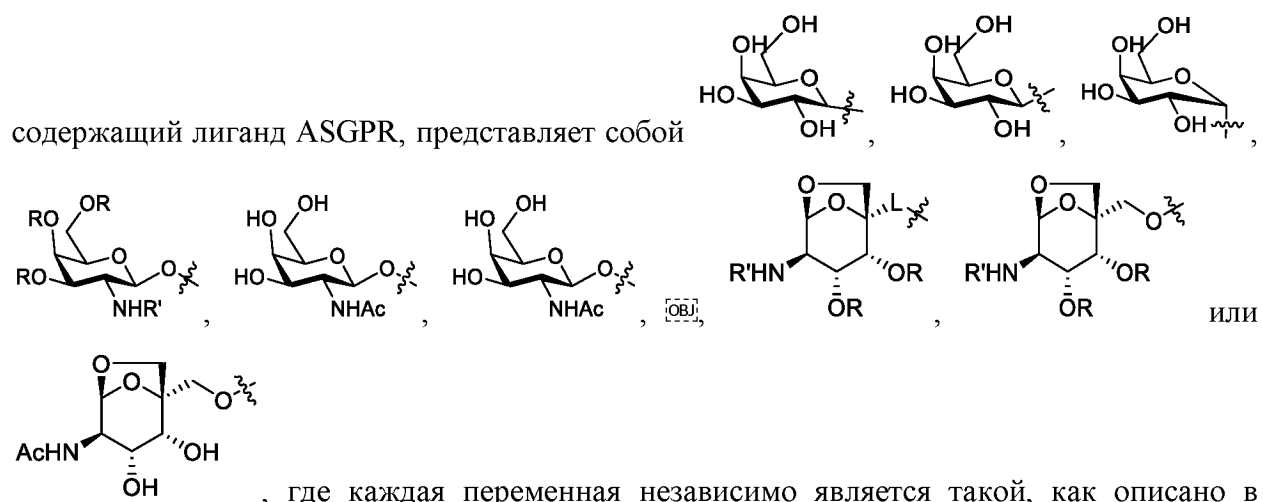
В определенных вариантах осуществления n' равняется 1. В определенных вариантах осуществления n' равняется 0. В определенных вариантах осуществления n'' равняется 1. В определенных вариантах осуществления n'' равняется 2.

В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит лиганд асиалогликопротеинового рецептора (ASGPR).

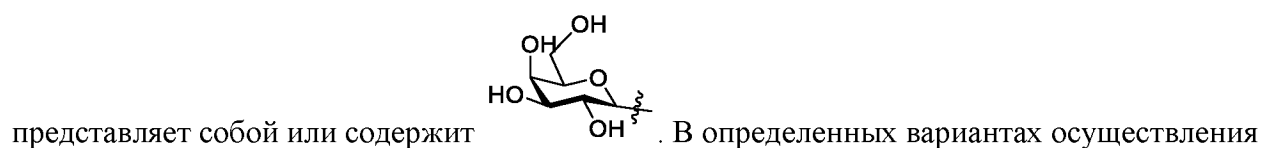
Не желая ограничиваться какой-либо конкретной теорией, в настоящем изобретении отмечают, что, как сообщалось, ASGPR1 также экспрессируется в области гиппокампа и/или слое клеток Пуркинье мозжечка мыши. <http://mouse.brain-map.org/experiment/show/2048>

Различные другие лиганды ASGPR известны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой углевод. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой GalNac или его производное или аналог. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой лиганд, описанный в Sanhueza et al. J. Am. Chem. Soc., 2017, 139 (9), стр. 3528–3536. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой лиганд, описанный в Mamidyala et al. J. Am. Chem. Soc., 2012, 134, стр. 1978–1981. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой лиганд, описанный в US 20160207953. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой замещенное производное 6,8-диоксибицикло[3.2.1]октан-2,3-диола, раскрытое, например, в US 20160207953. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой лиганд, описанный, например, в US 20150329555. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой замещенное производное 6,8-

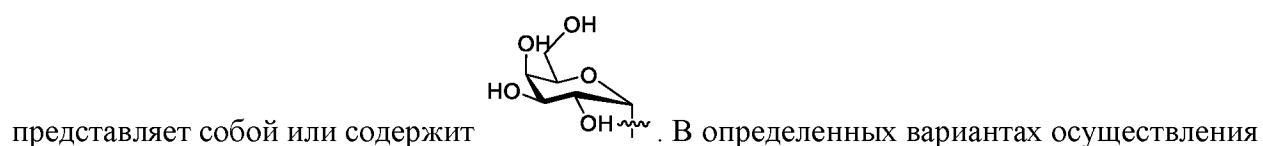
диоксибицикло[3.2.1]октан-2,3-диола, раскрытое, например, в US 20150329555. В определенных вариантах осуществления лиганд ASGPR представляет собой лиганд, описанный в US 8877917, US 20160376585, US 10086081 или US 8106022. Лиганды ASGPR, описанные в этих документах, включены в данный документ посредством ссылки. Специалистам в данной области будет понятно, что в данной области техники известны различные технологии, в том числе описанные в указанных документах, для оценки связывания химического фрагмента с ASGPR, и их можно использовать в соответствии с настоящим изобретением. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид конъюгирован с лигандом ASGPR. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид содержит лиганд ASGPR. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент,



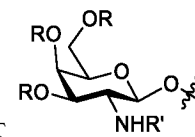
В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



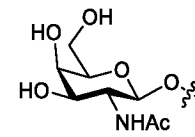
определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



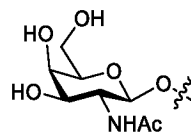
дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит
 определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



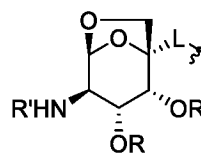
представляет собой или содержит необязательно замещенный
 определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



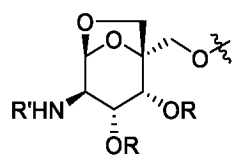
представляет собой или содержит
 осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит
 определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент



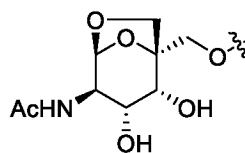
представляет собой или содержит
 осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой или содержит



представляет собой или содержит
 осуществления дополнительный химический

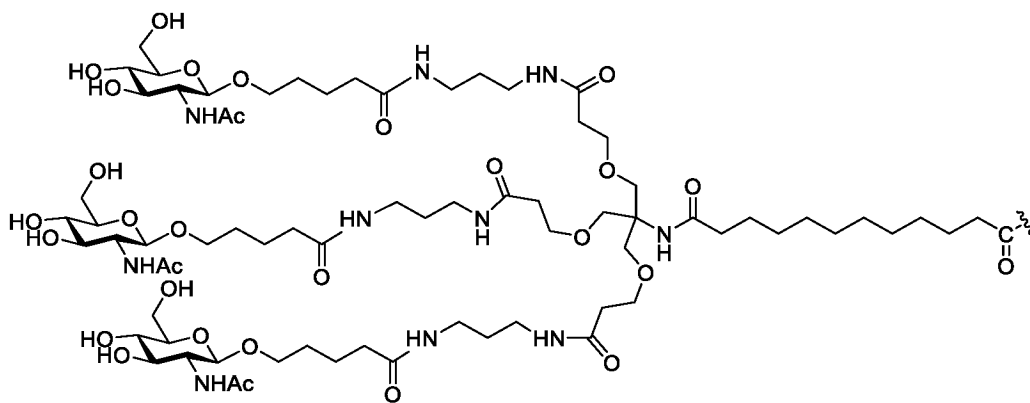


фрагмент представляет собой или содержит

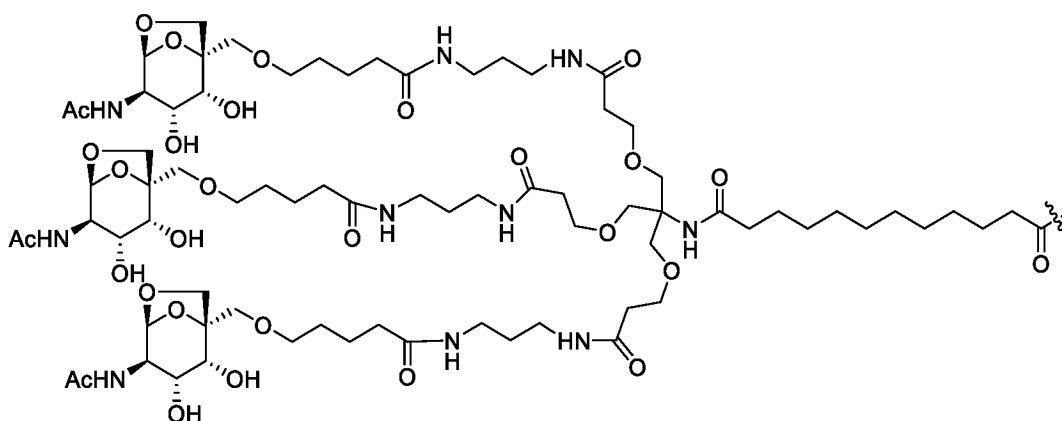


В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент содержит один или несколько фрагментов, которые могут связываться, например, с клетками-мишенями для олигонуклеотида. Например, в определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент содержит один или несколько белковых фрагментов-лигандов, например, в определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент содержит несколько фрагментов, каждый из которых независимо представляет собой лиганд ASGPR. В определенных вариантах осуществления, как в случае Mod 001, Mod083, Mod071, Mod153 и Mod155, дополнительный химический фрагмент содержит три таких лиганда.

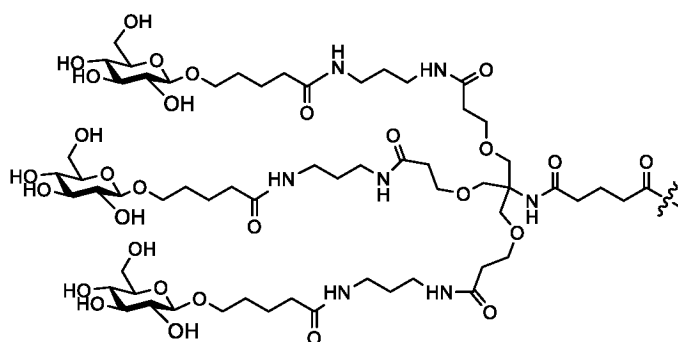
Mod001:



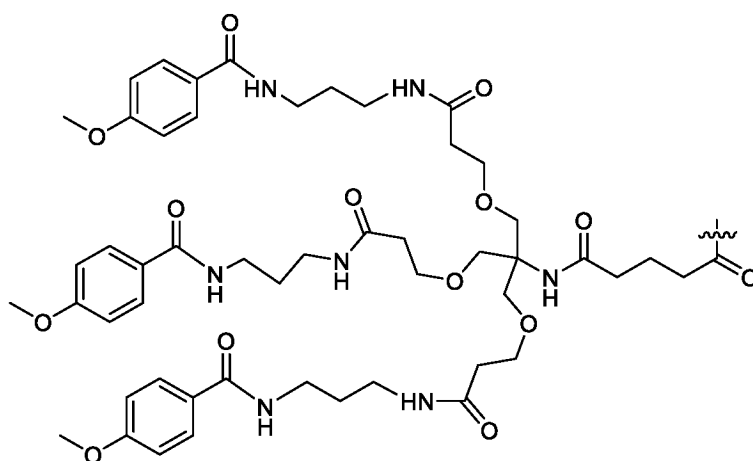
Mod083:



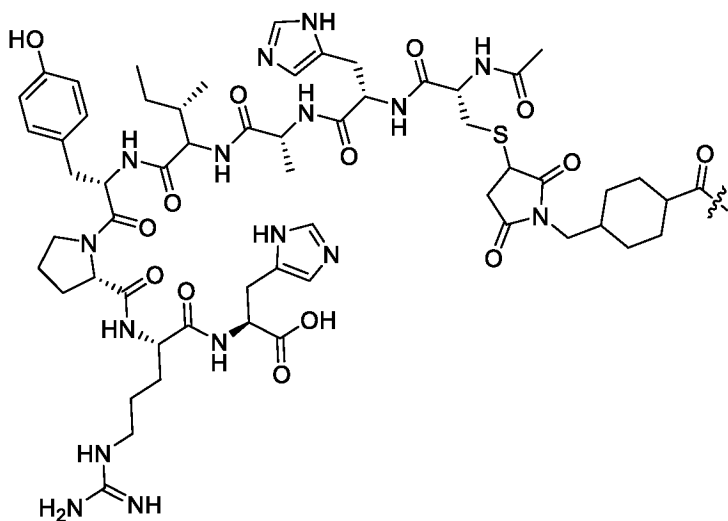
Mod071:



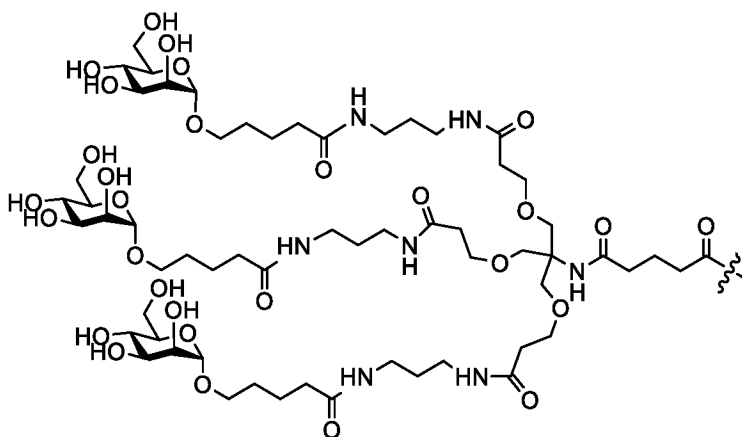
Mod077:



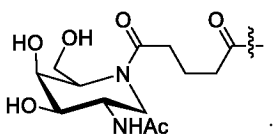
Mod102:



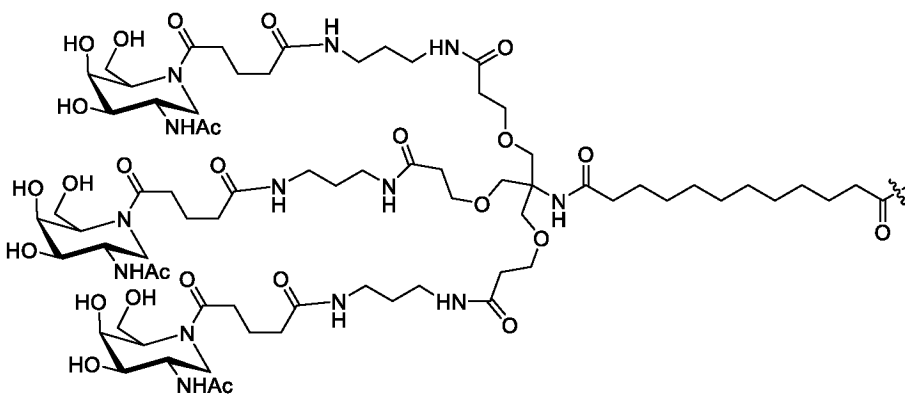
Mod105:



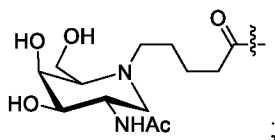
Mod152 (в определенных вариантах осуществления $-C(O)-$ присоединяется к $-NH-$ линкера, такого как Mod153):



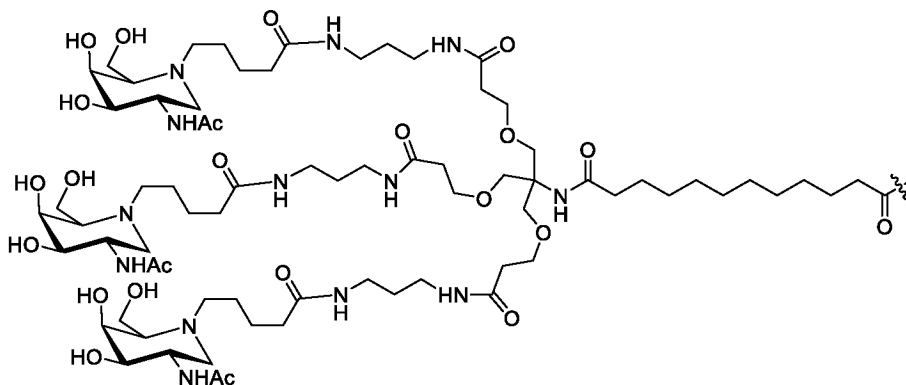
Mod153:



Mod154 (в определенных вариантах осуществления $-C(O)-$ присоединяется к $-NH-$ линкера, такого как Mod155):



Mod155:



В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [OBJ], где каждая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления каждый $-OR'$ представляет собой $-OAc$, и $-N(R')$ представляет собой $-NHAc$. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [OBJ]. В некоторых вариантах осуществления каждый R' представляет собой $-H$. В некоторых вариантах осуществления каждый $-OR'$ представляет собой $-OH$, и каждый $-N(R')$ представляет собой $-NHC(O)R$. В некоторых вариантах осуществления каждый $-OR'$ представляет собой $-OH$, и каждый $-N(R')$ представляет собой $-NHAc$. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [OBJ] (L025). В некоторых вариантах осуществления место соединения $-CH_2-$ используется как место соединения C5 в сахаре. В некоторых вариантах осуществления место соединения на кольце используется как место соединения C3 в сахаре. Такие фрагменты могут быть введены с использованием, например, фосфорамидитов, таких как [OBJ], например [OBJ] (специалистам в данной области понятно, что в качестве альтернативы можно использовать одну или несколько других групп, таких как защитные группы для $-OH$, $-NH_2-$, $-N(i-Pr)_2$, $-OCH_2CH_2CN$ и т. д., и защитные группы могут быть удалены в различных подходящих условиях, иногда в ходе стадий снятия защитных групп с олигонуклеотидов и/или расщепления олигонуклеотидов). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит 2, 3 или больше (например, 3 и не более чем 3) [OBJ]. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит 2, 3 или больше (например, 3 и не более чем 3) [OBJ]. В некоторых вариантах осуществления копии таких фрагментов связаны межнуклеотидными связями, например природными фосфатными связями, как описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления, если он находится на 5'-конце, место соединения $-CH_2-$ связано

с –ОН. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [ОВ]. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [ОВ]. В некоторых вариантах осуществления каждый –OR' представляет собой –OAc, и –N(R')₂ представляет собой –NHAc. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит [ОВ]. Среди прочего, [ОВ] можно использовать для введения [ОВ] с сопоставимыми и/или лучшими формами активностями и/или свойствами. В некоторых вариантах осуществления он обеспечивает улучшенную эффективность получения и/или более низкую стоимость для того же количества [ОВ] (например, по сравнению с Mod001).

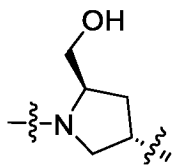
В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой группу Mod, описанную в данном документе, например, в таблице 1.

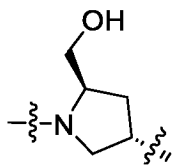
В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой Mod001. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой Mod083. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент, например, группа Mod, непосредственно конъюгирован (например, без линкера) с остальной частью ds-олигонуклеотида. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент конъюгирован посредством линкера к остальной части ds-олигонуклеотида. В определенных вариантах осуществления дополнительные химические фрагменты, например группы Mod, могут быть непосредственно соединены и/или с помощью линкера с нуклеиновыми основаниями, сахарами и/или межнуклеотидными связями ds-олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с сахарами. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с 5'-концевыми сахарами. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с 5'-концевыми сахарами посредством 5'-атома углерода. В качестве примеров см. различные ds-олигонуклеотиды, указанные в таблице 1. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с 3'-концевыми сахарами. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с 3'-концевыми сахарами посредством 3'-атома углерода. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с нуклеиновыми основаниями. В определенных вариантах осуществления группы Mod соединены либо непосредственно, либо с помощью линкера с межнуклеотидными связями. В определенных вариантах осуществления представленные олигонуклеотиды содержат Mod001, соединенный с 5'-концом олигонуклеотидных цепей посредством L001.

Как понятно специалистам в данной области, дополнительный химический фрагмент может быть соединен с ds-олигонуклеотидной цепью в различных местоположениях, например, на 5'-конце, 3'-конце или в местоположении в середине (например, в сахаре, основании, межнуклеотидной связи и т. д.). В определенных вариантах осуществления он соединен с 5'-концом. В определенных вариантах осуществления он соединен с 3'-концом. В определенных вариантах осуществления он соединен с нуклеотидом в середине.

Определенные дополнительные химические фрагменты (например, липидные фрагменты, нацеливающие фрагменты, углеводные фрагменты), в том числе без ограничения Mod012, Mod039, Mod062, Mod085, Mod086 и Mod094, и различные линкеры для соединения дополнительных химических фрагментов с ds-олигонуклеотидными цепями, в том числе без ограничения L001, L003, L004, L008, L009 и L010, описаны в 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 и/или WO 2019/032612, при этом дополнительные химические фрагменты и линкеры из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки и могут использоваться согласно настоящему изобретению. В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой дигоксигенин или биотин или их производное.

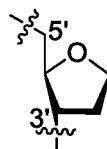
В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит линкер, например L001 L004, L008, и/или дополнительный химический фрагмент, например Mod012, Mod039, Mod062, Mod085, Mod086 или Mod094. В определенных вариантах осуществления линкер, например L001, L003, L004, L008, L009, L110 и т. д., связан с Mod, например Mod012, Mod039, Mod062, Mod085, Mod086, Mod094, Mod152, Mod153, Mod154, Mod155 и т. д. L001: линкер $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_6-$ (также известный как C6-линкер, C6-аминный линкер или C6-аминолинкер), соединенный с Mod, если таковой имеется, с помощью $-\text{NH}-$ и с 5'-концом или 3'-концом ds-олигонуклеотидной цепи с помощью фосфатной связи ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как O или PO), либо фосфотиоатной связи ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как *, если фосфотиоат не характеризуется контролируемой хиральностью; или *S, S или Sp, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации Sp, или *R, R или Rp, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации Rp), как указано в сайте соединения $-\text{CH}_2-$. Если никакой Mod не указан, L001 присоединен к $-\text{H}$ посредством $-\text{NH}-$;

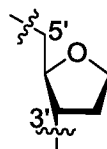


L003: линкер . В определенных вариантах осуществления он соединен с Mod, если таковой имеется (если Mod отсутствует, то с -H), с помощью своей аминогруппы и 5'-концом или 3'-концом олигонуклеотидной цепи, например, с помощью связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может не характеризоваться контролируемой хиральностью либо характеризоваться контролируемой хиральностью (*Sp* или *Rp*))); L004: линкер, характеризующуюся структурой $-\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{CH}_2-$, где $-\text{NH}-$ соединен с Mod (с помощью $-\text{C}(\text{O})-$ или $-\text{H}$, а $-\text{CH}_2-$ соединен с олигонуклеотидной цепью (например, на 3'-конце) с помощью связи, например, фосфодиэфирной ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как O или PO), фосфотиоатной ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как *, если фосфотиоат не характеризуется контролируемой хиральностью; или *S, S или *Sp*, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации *Sp*-конфигурации, или *R, R, или *Rp*, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации *Rp*) или фосфодитиоатной ($-\text{O}-\text{P}(\text{S})(\text{SH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как PS2, или :, или D) связи. Например, звездочка непосредственно перед L004 (например, *L004) указывает на то, что связь представляет собой фосфотиоатную связь, а отсутствие звездочки непосредственно перед L004 указывает на то, что связь представляет собой фосфодиэфирную связь. Например, в олигонуклеотиде, который оканчивается на ...mAL004, линкер L004 соединен (через сайт $-\text{CH}_2-$) с помощью фосфодиэфирной связи с 3'-положением 3'-концевого сахара (который является 2'-ОМе-модифицированным и соединен с нуклеиновым основанием A), и линкер L004 соединен посредством $-\text{NH}-$ с -H. Аналогичным образом, в одном или нескольких олигонуклеотидах линкер L004 соединен (посредством сайта $-\text{CH}_2-$) с помощью фосфодиэфирной связи с 3'-положением 3'-концевого сахара, и L004 соединен посредством $-\text{NH}-$, например, с Mod012, Mod085, Mod086 и т. д.; L008: линкер, имеющий структуру $-\text{C}(\text{O})-(\text{CH}_2)_9-$, где $-\text{C}(\text{O})-$ соединен с Mod (посредством $-\text{NH}-$) или $-\text{OH}$ (если Mod не указан), и сайт соединения $-\text{CH}_2-$ соединен с олигонуклеотидной цепью (например, на 5'-конце) с помощью связи, например, фосфодиэфирной ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как O или PO), фосфотиоатной ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как *, если фосфотиоат не

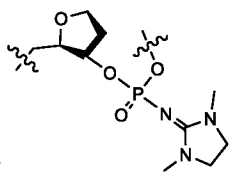
характеризуется контролируемой хиральностью; или *S, S или Sp, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации Sp, или *R, R или Rp, если фосфотиоат характеризуется контролируемой хиральностью и представлен в конфигурации Rp) или фосфодитиоатной ($-\text{O}-\text{P}(\text{S})(\text{SH})-\text{O}-$, которая может существовать в виде солевой формы и может обозначаться как PS2, или :, или D) связи. Например, в примере олигонуклеотида, который имеет последовательность 5'-L008mN * mN * mN * mN * N * N * N * N * N * N * N * N * N * N * mN * mN * mN * mN-3', и который имеет стереохимические особенности/связь OXXXXXXXXX XXXXXXXXX, где N представляет собой основание, где O представляет собой природную фосфатную межнуклеотидную связь, и где X представляет собой стереослучайный фосфотиоат, L008 соединен с -OH с помощью $-\text{C}(\text{O})-$ и с 5'-концом олигонуклеотидной цепи с помощью фосфатной связи (обозначено как "O" в графе "Стереохимические особенности/связь"); в другом примере олигонуклеотида, который имеет последовательность 5'-Mod062L008mN * mN * mN * mN * N * N * N * N * N * N * N * N * N * N * mN * mN * mN * mN-3' и который имеет стереохимические особенности/связь OXXXXXXXXXXXXXXXXX, где N представляет собой основание, L008 соединен с Mod062 с помощью $-\text{C}(\text{O})-$ и с 5'-концом олигонуклеотидной цепи с помощью фосфатной связи (обозначено как "O" в графе "Стереохимические особенности/связь");

L009: $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$. В определенных вариантах осуществления, если L009 присутствует на 5'-конце олигонуклеотида без Mod, то один конец L009 соединен с -OH, а другой конец соединен с 5'-атомом углерода олигонуклеотидной цепи, например, с помощью связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может не характеризоваться контролируемой хиральностью либо характеризоваться

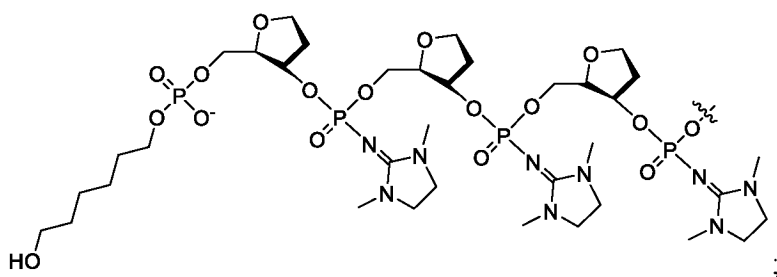


контролируемой хиральностью (Sp или Rp)); L010: . В определенных вариантах осуществления, если L010 присутствует на 5'-конце олигонуклеотида без Mod, то 5'-атом углерода L010 соединен с -OH, а 3'-атом углерода соединен с 5'-атомом углерода олигонуклеотидной цепи, например, с помощью связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может не характеризоваться контролируемой хиральностью либо характеризоваться контролируемой хиральностью (Sp или Rp)); Mod012 (в определенных вариантах осуществления $-\text{C}(\text{O})-$ соединен с $-\text{NH}-$ линкера, такого как L001, L004, L008 и т. д.):

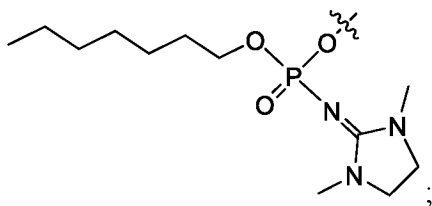
L010 используется с n001R с образованием L010n001R, который характеризуется



структурой , и где конфигурация атома фосфора в составе связи представляет собой *Rp*. В некоторых вариантах осуществления можно использовать несколько L010n001R. Например, L023L010n001RL010n001RL010n001R, который характеризуется следующей структурой (которая соединена с 5'-атомом углерода на 5'-конце олигонуклеотидной цепи, и каждый атом фосфора в составе связи независимо представляет собой *Rp*):

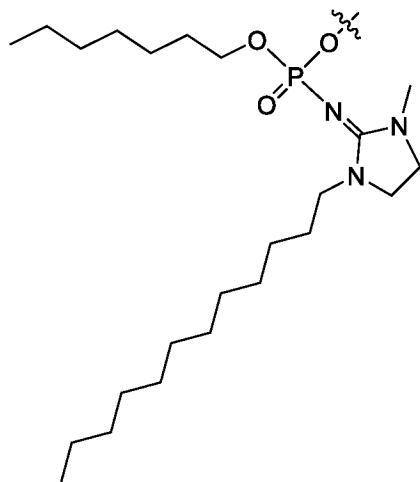


L023 используется с n001 с образованием L023n001, который характеризуется



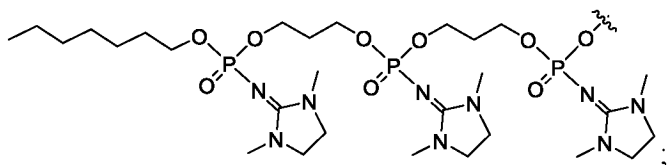
структурой

L023 используется с n009 с образованием L023n009, как в WV-42644, который

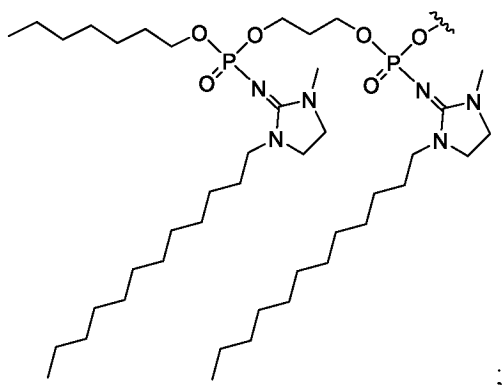


характеризуется структурой ;

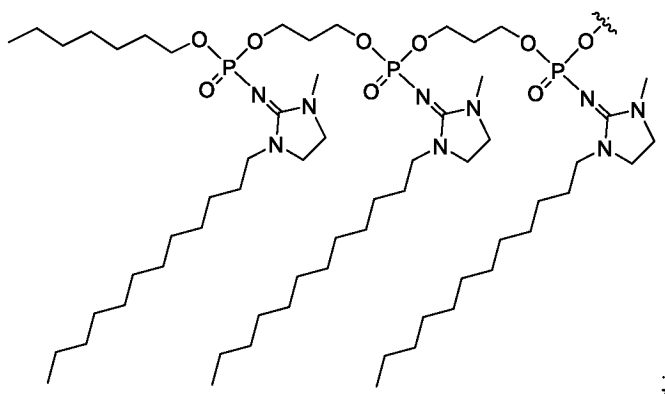
В некоторых вариантах осуществления можно использовать L023n001L009n001L009n001. Например, L023n001L009n001L009n001 как в WV-42643,



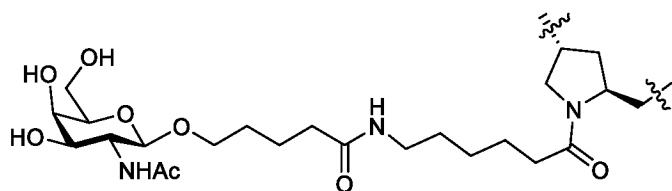
В некоторых вариантах осуществления можно использовать L023n009L009n009. Например, как в WV-42646,



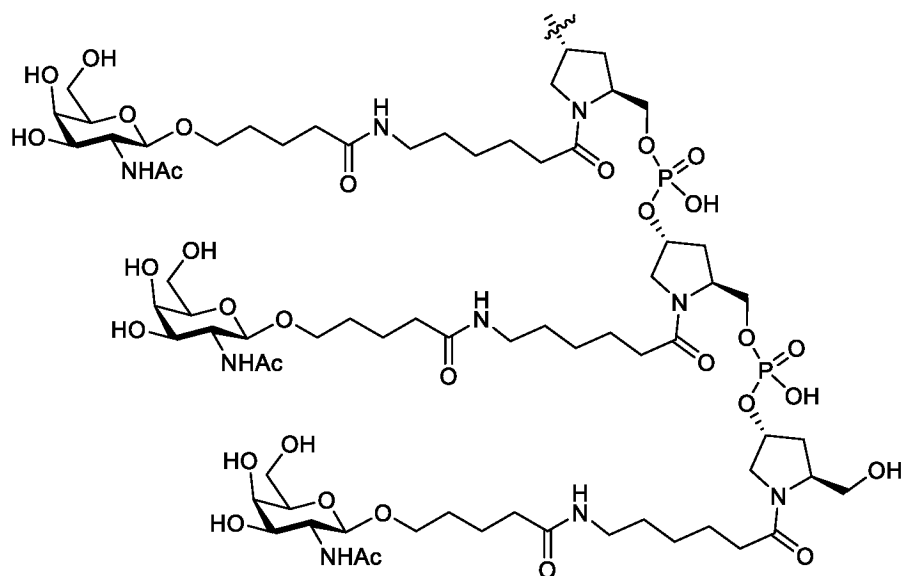
В некоторых вариантах осуществления можно использовать L023n009L009n009L009n009. Например, как в WV-42648,



В некоторых вариантах осуществления можно использовать L025; как в WV-41390,



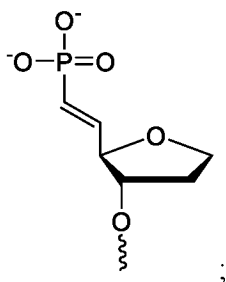
где сайт соединения $-\text{CH}_2-$ используется как сайт соединения C5 сахара (например, сахара ДНК) и соединен с другим звеном (например, 3'-атомом сахара), а сайт соединения на кольце используется как сайт соединения C3 и соединен с другим звеном (например, 5'-атомом углерода сахара), каждый из которых соединен независимо, например, посредством связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (Sp или Rp))). Если L025 находится на 5'-конце без каких-либо модификаций, то его сайт соединения $-\text{CH}_2-$ связан с $-\text{OH}$. Например, L025L025L025- в различных олигонуклеотидах имеет структуру



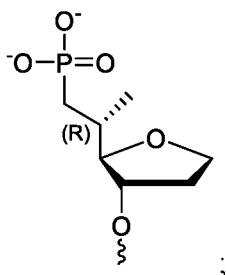
(может существовать в

различных солевых формах) и соединен с 5'-атомом углерода олигонуклеотидной цепи посредством указанной связи (например, фосфатной связи (O или PO) или фосфотиоатной связи (которая может либо не характеризоваться контролируемой хиральностью, либо характеризоваться контролируемой хиральностью (*Sp* или *Rp*)));

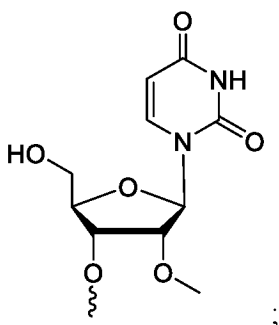
В некоторых вариантах осуществления можно использовать L026; как в WV-44444,



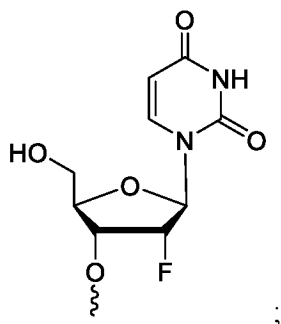
В некоторых вариантах осуществления можно использовать L027; как в WV-44445,



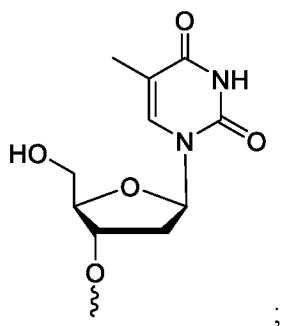
В некоторых вариантах осуществления можно использовать mU; как в WV-42079,



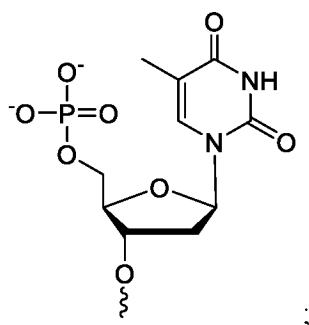
В некоторых вариантах осуществления можно использовать fU; как в WV-44433,



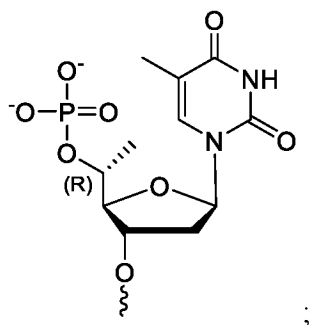
В некоторых вариантах осуществления можно использовать dT; как в WV-44434,



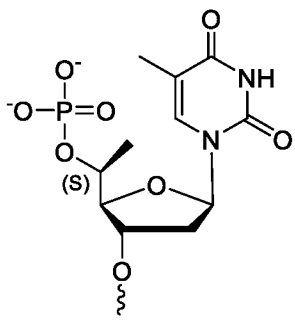
В некоторых вариантах осуществления можно использовать POdT или PO4-dT; как в WV-44435,



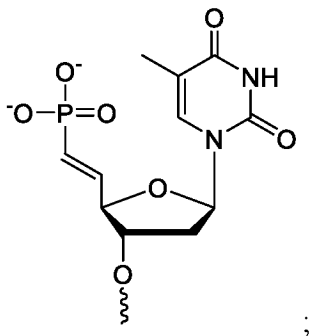
В некоторых вариантах осуществления можно использовать PO5MRdT; как в WV-44436,



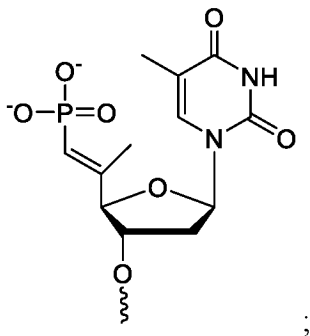
В некоторых вариантах осуществления можно использовать PO5MSdT; как в WV-44437,



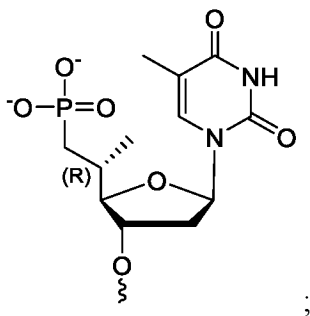
В некоторых вариантах осуществления можно использовать VPdT; как в WV-44438,



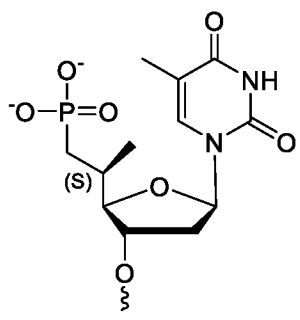
В некоторых вариантах осуществления можно использовать 5mvpdT; как в WV-44439,



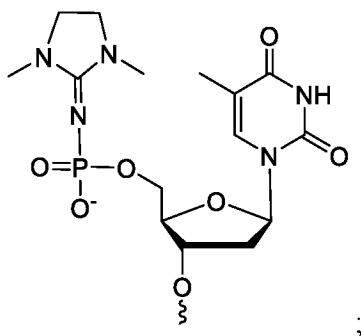
В некоторых вариантах осуществления можно использовать 5mrpdT; как в WV-44440,



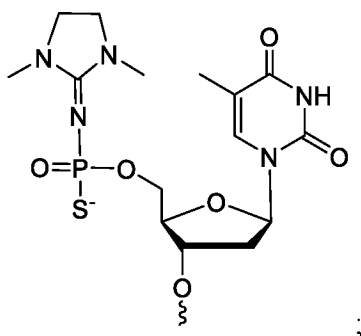
В некоторых вариантах осуществления можно использовать 5mspdT; как в WV-44441,



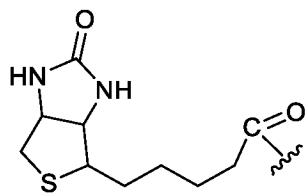
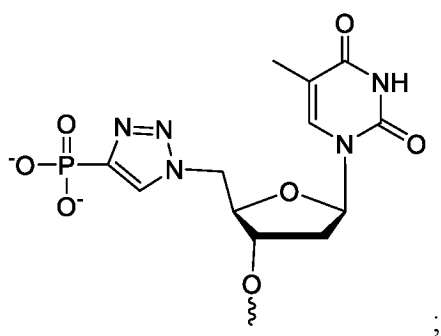
В некоторых вариантах осуществления можно использовать PNdT; как в WV-44442,



В некоторых вариантах осуществления можно использовать SPNdT; как в WV-44443,

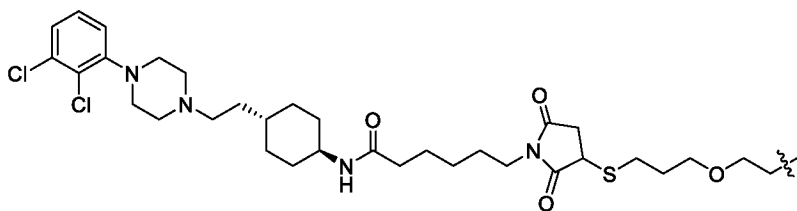


В некоторых вариантах осуществления можно использовать 5ptzdT; как в WV-44446,



Mod039 (в определенных вариантах осуществления $-C(O)-$ соединен с $-NH-$ линкера, такого как L001, L003, L004, L008, L009, L110 и т. д.):

которая может существовать в форме соли и которая обозначена как "O" в графе "Стереохимические особенности/связь" (...XXXXO))):



В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент представляет собой фрагмент, описанный в WO 2012/030683. В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид содержит химическую структуру (например, линкер, липид, солюбилизирующую группу и/или нацеливающий лиганд), описанную в WO 2012/030683.

В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид содержит дополнительный химический фрагмент и/или модификацию (например, нуклеинового основания, сахара, межнуклеотидной связи и т. д.), описанные в патентах США № 5688941; 6294664; 6320017; 6576752; 5258506; 5591584; 4958013; 5082830; 5118802; 5138045; 6783931; 5254469; 5414077; 5486603; 5112963; 5599928; 6900297; 5214136; 5109124; 5512439; 4667025; 5525465; 5514785; 5565552; 5541313; 5545730; 4835263; 4876335; 5578717; 5580731; 5451463; 5510475; 4904582; 5082830; 4762779; 4789737; 4824941; 4828979; 5595726; 5214136; 5245022; 5317098; 5371241; 5391723; 4948882; 5218105; 5112963; 5567810; 5574142; 5578718; 5608046; 4587044; 4605735; 5585481; 5292873; 5552538; 5512667; 5597696; 5599923; 7037646; 5587371; 5416203; 5262536; 5272250 или 8106022.

В определенных вариантах осуществления дополнительный химический фрагмент, например Mod, соединен с помощью линкера. Различные линкеры доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, например, линкеры, используемые для конъюгирования различных фрагментов с белками (например, с антителами с образованием конъюгатов антитело-лекарственное средство), нуклеиновыми кислотами и т. д. Определенные применимые линкеры описаны в 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 и/или WO 2019/032612, при этом линкерные фрагменты из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления в качестве неограничивающих примеров линкер представляет собой L001, L004, L009 или L010. В

определенных вариантах осуществления олигонуклеотид содержит линкер, но не содержит дополнительного химического фрагмента, отличного от линкера. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид содержит линкер, но не содержит дополнительного химического фрагмента, отличного от линкера, где линкер представляет собой L001, L004, L009 или L010.

Как показано в данном документе, представленные технологии могут обеспечивать высокие уровни видов активности и/или желаемых свойств, в определенных вариантах осуществления без использования конкретных структурных элементов (например, модификаций, конфигураций и/или паттернов связей и т. д.), о которых сообщается, что они желательны и/или необходимы (например, описанных в WO 2019/219581), хотя некоторые такие структурные элементы могут быть включены в состав ds-олигонуклеотидов в комбинации с различными другими структурными элементами согласно настоящему изобретению. Например, в определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению имеют меньше нуклеозидов с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), содержат одну или несколько фосфотиоатных межнуклеотидных связей в одном или нескольких положениях, где фосфотиоатная межнуклеотидная связь, как сообщается, не является предпочтительной или не допускается, содержат одну или несколько Sp-фосфотиоатных межнуклеотидных связей в одном или нескольких положениях, где Sp-фосфотиоатная межнуклеотидная связь, как сообщается, не является предпочтительной или не допускается, содержат одну или несколько Rp-фосфотиоатных межнуклеотидных связей в одном или нескольких положениях, где Rp-фосфотиоатная межнуклеотидная связь, как сообщается, не является предпочтительной или не допускается, и/или содержат другие модификации (например, модификации межнуклеотидных связей, модификации сахаров и т. д.) и/или стереохимическую структуру в одном или нескольких местоположениях по сравнению с теми, которые, как сообщается, благоприятны или требуются для определенных свойств и/или видов активности олигонуклеотидов (например, присутствие 2'-МОЕ, отсутствие фосфотиоатных связей в определенных положениях, отсутствие Sp-фосфотиоатных связей в определенных положениях и/или отсутствие Rp-фосфотиоатных связей в определенных положениях, как сообщается, благоприятно или требуется для определенных свойств и/или видов активности олигонуклеотидов; как показано в настоящем документе, представленные технологии могут обеспечивать желаемые свойства и/или высокие виды активности без использования 2'-МОЕ, без исключения фосфотиоатных связей в одном или нескольких таких определенных положениях, без исключения Sp-фосфотиоатных связей в одном или нескольких таких определенных

положениях и/или без исключения *Rp*-фосфотиоатных связей в одном или нескольких таких определенных положениях). В качестве дополнения или альтернативы, представленные ds-олигонуклеотиды содержат структурные элементы, которые ранее не были известны, такие как используемые определенные модификации (например, модификации оснований, модификации сахаров (например, 2'-F), модификации связей (например, не являющиеся отрицательно заряженными межнуклеотидные связи), дополнительные фрагменты и т. д.), а также их уровни, паттерны и комбинации.

Например, в определенных вариантах осуществления, как описано в данном документе, представленные олигонуклеотиды содержат не более чем 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 нуклеозидов с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени).

В качестве альтернативы или дополнения, как описано в данном документе (например, проиллюстрировано в определенных примерах), для структурных элементов с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени) в определенных вариантах осуществления каждая из приблизительно 50-100% (например, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%) межнуклеотидных связей с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), независимо представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь, которая необязательно характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени, представляют собой природные фосфатные связи. В определенных вариантах осуществления ни одна такая межнуклеотидная связь не является природной фосфатной связью. В определенных вариантах осуществления не более чем 1 такая межнуклеотидная связь является природной фосфатной связью. В определенных вариантах осуществления не более чем 2 такие межнуклеотидные связи являются природными фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления не более чем 3 такие межнуклеотидные связи являются природными фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь независимо представляет собой фосфотиоат или межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, (например, p001). В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 3'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени, представляют собой *Rp*-фосфотиоатные межнуклеотидные связи.

В качестве альтернативы или дополнения, как описано в данном документе (например, проиллюстрировано в определенных примерах), в определенных вариантах осуществления каждая из приблизительно 50-100% (например, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%) межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), независимо представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь, которая необязательно характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления ни одна или не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), не являются модифицированными межнуклеотидными связями. В определенных вариантах осуществления ни одна или не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), не являются фосфотиоатными межнуклеотидными связями. В определенных вариантах осуществления ни одна или не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), не являются *Sp*-фосфотиоатными межнуклеотидными связями. В определенных вариантах осуществления не более чем 1, 2 или 3 межнуклеотидные связи с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), являются природными фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления ни одна такая межнуклеотидная связь не является природной фосфатной связью. В определенных вариантах осуществления не более чем 1 такая межнуклеотидная связь является природной фосфатной связью. В определенных вариантах осуществления не более чем 2 такие межнуклеотидные связи являются природными фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления не более чем 3 такие межнуклеотидные связи являются природными фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь независимо представляет собой фосфотиоат или межнуклеотидную связь, отличную от отрицательно заряженной, (например, $p001$). В определенных вариантах осуществления не существует 2, 3 или 4 последовательных межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени, каждая из которых не является фосфотиоатной межнуклеотидной связью. В определенных вариантах осуществления не существует 2, 3 или 4 последовательных межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени, каждая из которых характеризуется контролируемой хиральностью и не является *Sp*-фосфотиоатной межнуклеотидной связью. В определенных вариантах осуществления ни

одна или не более чем 1, 2, 3, 4 или 5 межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), являются *Rp*-фосфотиоатными межнуклеотидными связями. В определенных вариантах осуществления каждая из по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, или приблизительно 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 или 32, или приблизительно 50% - 100% (например, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%) межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), независимо характеризуется контролируемой хиральностью и представляет собой *Sr*-межнуклеотидную связь. В определенных вариантах осуществления каждая из по меньшей мере приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10, или приблизительно 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 или 32, или приблизительно 50% - 100% (например, приблизительно или по меньшей мере приблизительно 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95%) фосфотиоатных межнуклеотидных связей с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), независимо характеризуется контролируемой хиральностью и представляет собой *Sr*. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь с 5'-стороны от нуклеозида, противоположного нуклеозиду-мишени (например, аденозину-мишени), представляет собой *Sr*.

6. Получение олигонуклеотидов и композиций

Для получения *ds*-олигонуклеотидов и композиций можно использовать различные способы, и их можно использовать в соответствии с настоящим изобретением. Например, традиционный фосфорамидитный механизм можно использовать для получения стереослучайных олигонуклеотидов и композиций, а определенные реагенты и технологии с контролируемой хиральностью можно использовать для получения композиций на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, например, как описано в 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 и/или WO 2019/032612, при этом реагенты и способы из каждого из них включены в данный документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления получение с контролируемой хиральностью/стереоселективное получение ds-олигонуклеотидов и композиций на их основе включает использование хирального вспомогательного средства, например, в качестве части мономерных фосфорамидитов. Примеры таких хиральных вспомогательных реагентов и фосфорамидитов описаны в 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 и/или WO 2019/032612, при этом хиральные вспомогательные реагенты и фосфорамидиты из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки. В определенных вариантах осуществления хиральное вспомогательное средство представляет собой хиральное вспомогательное средство, описанное в любом из 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 и/или WO 2019/032612, при этом хиральные вспомогательные средства из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления технологии получения с контролируемой хиральностью, в том числе циклы синтеза олигонуклеотидов, реагенты и условия, описаны в 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 и WO 2018/098264, WO 2018/022473, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO2019032612, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784 и/или 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 и/или WO 2019/032612, при этом способы синтеза олигонуклеотидов, циклы, реагенты и условия из каждого из них независимо включены в данный документ посредством ссылки.

После синтеза представленные ds-олигонуклеотиды и композиции, как правило, дополнительно очищают. Подходящие технологии очистки широко известны и применяются на практике специалистами в данной области, включая без ограничения описанные в 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 и/или WO 2019/032612, при этом технологии очистки из каждого из них независимо включены в данный документ

посредством ссылки.

В определенных вариантах осуществления цикл включает сочетание, кэппирование, модификацию и деблокирование или состоит из них. В определенных вариантах осуществления цикл включает сочетание, кэппирование, модификацию, кэппирование и деблокирование или состоит из них. Данные стадии, как правило, выполняют в том порядке, в котором они перечислены, но в определенных вариантах осуществления, как понятно специалистам в данной области, порядок определенных стадий, например, кэппирования и модификации, может быть изменен. При необходимости можно повторить одну или несколько стадий для улучшения превращения, выхода и/или чистоты, что специалисты в данной области техники зачастую выполняют при синтезе. Например, в определенных вариантах осуществления можно повторять сочетание; в определенных вариантах осуществления можно повторять модификацию (например, окисление для введения =O, сульфирование для введения =S и т. д.); в определенных вариантах осуществления сочетание повторяют после модификации, в результате чего связь P(III) может превращаться в связь P(V), которая может быть более стабильной при определенных обстоятельствах, и за сочетанием обычно следует модификация для превращения новообразованных связей P(III) в связи P(V). В определенных вариантах осуществления при повторении стадий могут использоваться другие условия (например, концентрация, температура, реагент, время и т. д.).

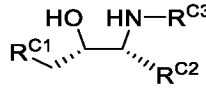
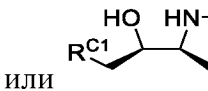
Технологии составления представленных ds-олигонуклеотидов и/или получения фармацевтических композиций, например, для введения субъектам различными путями, легко доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, например, технологии, описанные в US 9982257, 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 или WO 2018/237194 и цитируемых в них литературных источниках.

Технологии составления представленных ds-олигонуклеотидов и/или получения фармацевтических композиций, например, для введения субъектам различными путями, легко доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением, например, технологии, описанные в 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 или WO 2018/237194 и цитируемых в них литературных источниках.

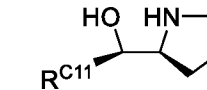
В определенных вариантах осуществления применимое хиральное вспомогательное

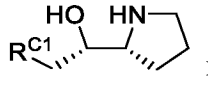
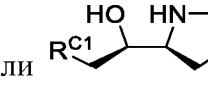
средство характеризуется структурой , ,  или  или их соли, где R^{C11} представляет собой –L^{C1}–R^{C1}, L^{C1} представляет собой

необязательно замещенный –CH₂–. R^{C1} представляет собой R, –Si(R)₃, –SO₂R или электроноакцепторную группу, и R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-10-членного насыщенного кольца, содержащего в дополнение к атому азота 0-2 гетероатома. В определенных вариантах осуществления применимое хиральное вспомогательное средство характеризуется

структурой  или , где R^{C1} представляет собой R, –Si(R)₃ или –SO₂R, и R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием

необязательно замещенного 3-7-членного насыщенного кольца, содержащего в дополнение к атому азота 0-2 гетероатома, при этом образованное кольцо представляет собой необязательно замещенное 5-членное кольцо. В определенных вариантах осуществления применимое хиральное вспомогательное средство характеризуется структурой

, ,  или  или их соли. В определенных вариантах осуществления применимое хиральное вспомогательное средство

характеризуется структурой  или . В определенных вариантах осуществления применимое хиральное вспомогательное средство представляет собой хиральное вспомогательное средство DPSE. В определенных вариантах осуществления чистота или стереохимическая чистота хирального вспомогательного средства составляет по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 95%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 96%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 97%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 98%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 99%.

В определенных вариантах осуществления L^{C1} представляет собой –CH₂–. В определенных вариантах осуществления L^{C1} представляет собой замещенный –CH₂–. В

определенных вариантах осуществления L^{C1} представляет собой монозамещенный $-CH_2-$.

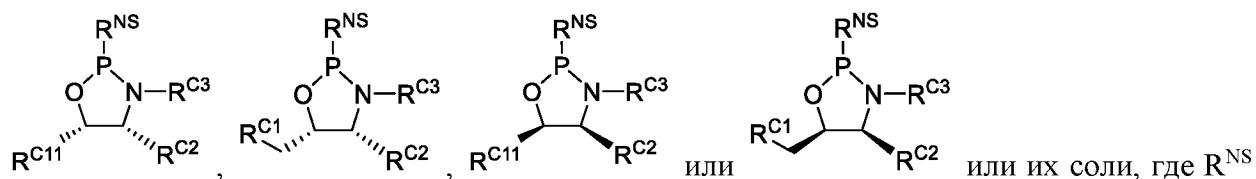
В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой R. В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой необязательно замещенный фенил. В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой $-SiR_3$. В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой $-SiPh_2Me$. В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой $-SO_2R$. В определенных вариантах осуществления R не представляет собой водород. В определенных вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В определенных вариантах осуществления R представляет собой фенил. В определенных вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} -алифатическую группу. В определенных вариантах осуществления R представляет собой C_{1-6} -алкил. В определенных вариантах осуществления R представляет собой метил. В определенных вариантах осуществления R представляет собой трет-бутил.

В определенных вариантах осуществления R^{C1} представляет собой электроноакцепторную группу, такую как $-C(O)R$, $-OP(O)(OR)_2$, $-OP(O)(R)_2$, $-P(O)(R)_2$, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$ и т. д. В определенных вариантах осуществления хиральные вспомогательные средства, содержащие электроноакцепторную группу R^{C1} , особенно применимы для получения межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, с контролируемой хиральностью и/или межнуклеотидных связей с контролируемой хиральностью, связанных с природным сахаром РНК.

В определенных вариантах осуществления R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-10-членного (например, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9- или 10-членного) насыщенного кольца, не содержащего гетероатомов в дополнение к атому азота. В определенных вариантах осуществления R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 5-членного насыщенного кольца, не содержащего гетероатомов в дополнение к атому азота.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены применимые реагенты для получения ds-олигонуклеотидов и композиций на их основе. В определенных вариантах осуществления фосфорамидиты содержат нуклеозиды, нуклеиновые основания и сахара, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления нуклеиновые основания и сахара являются надлежащим образом защищенными для синтеза олигонуклеотидов, как будет понятно специалистам в данной области. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит характеризуется структурой $R^{NS}-P(OR)N(R)_2$, где R^{NS} представляет собой необязательно защищенный нуклеозидный фрагмент. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит

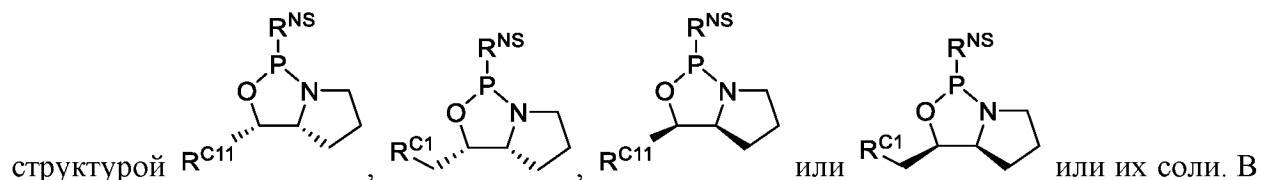
характеризуется структурой $R^{NS}-P(OCH_2CH_2CN)N(i-Pr)_2$. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит содержит нуклеиновое основание, которое представляет собой или содержит кольцо ВА, где кольцо ВА характеризуется структурой ВА-I, ВА-I-a, ВА-I-b, ВА-II, ВА-II-a, ВА-II-b, ВА-III, ВА-III-a, ВА-III-b, ВА-IV, ВА-IV-a, ВА-IV-b, ВА-V, ВА-V-a, ВА-V-b или ВА-VI, или таутомер кольца ВА, где нуклеиновое основание является необязательно замещенным или защищенным. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит содержит хиральный вспомогательный фрагмент, где атом фосфора соединен с атомами кислорода и азота хирального вспомогательного фрагмента. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит характеризуется структурой



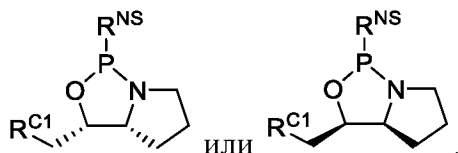
представляет собой защищенный нуклеозидный фрагмент (например, 5'-ОН и/или нуклеиновые основания, надлежащим образом защищенные для синтеза олигонуклеотидов), и каждая другая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит

характеризуется структурой

или , где R^{NS} представляет собой защищенный нуклеозидный фрагмент (например, 5'-ОН и/или нуклеиновые основания, надлежащим образом защищенные для синтеза олигонуклеотидов), R^{C1} представляет собой R, $-Si(R)_3$ или $-SO_2R$, и R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-7-членного насыщенного кольца, содержащего в дополнение к атому азота 0-2 гетероатома, где в результате сочетания образуется межнуклеотидная связь. В определенных вариантах осуществления 5'-ОН в R^{NS} является защищенным. В определенных вариантах осуществления 5'-ОН в R^{NS} является защищенным как $-ODMTg$. В определенных вариантах осуществления R^{NS} соединен с атомом фосфора с помощью его 3'-О-. В определенных вариантах осуществления образованное R^{C2} и R^{C3} кольцо представляет собой необязательно замещенное 5-членное кольцо. В определенных вариантах осуществления фосфорамидит характеризуется



определенных вариантах осуществления фосфорамидит характеризуется структурой



В определенных вариантах осуществления чистота или стереохимическая чистота фосфорамидита составляет по меньшей мере 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 85%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 90%. В определенных вариантах осуществления она составляет по меньшей мере 95%.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ получения олигонуклеотида или композиции, включающий осуществление сочетания свободного $-\text{OH}$, например, свободного 5'-ОН, олигонуклеотида или нуклеозида с фосфорамидитом, как описано в данном документе.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен олигонуклеотид, где олигонуклеотид содержит одну или несколько модифицированных межнуклеотидных связей, каждая из которых независимо характеризующуюся структурой $-\text{O}^5-\text{P}^{\text{L}}(\text{W})(\text{R}^{\text{CA}})-\text{O}^3-$, где:

P^{L} представляет собой P или $\text{P}(=\text{W})$;

W представляет собой O, S или W^{N} ;

W^{N} представляет собой $=\text{N}-\text{C}(-\text{N}(\text{R}^1)_2)=\text{N}^+(\text{R}^1)_2\text{Q}^-$;

Q^- представляет собой анион;

R^{CA} представляет собой или содержит необязательно кэпированный хиральный вспомогательный фрагмент,

O^5 представляет собой кислород, связанный с 5'-атомом углерода сахара, и

O^3 представляет собой кислород, связанный с 3'-атомом углерода сахара.

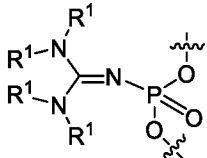
В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь необязательно характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления модифицированная межнуклеотидная связь необязательно характеризуется контролируемой хиральностью.

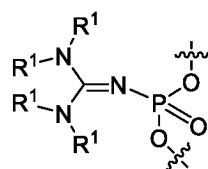
В определенных вариантах осуществления представлены способы, включающие удаление R^{CA} из таких модифицированных межнуклеотидных связей. В определенных вариантах осуществления после удаления связь с R^{CA} заменяется на $-\text{OH}$. В определенных вариантах осуществления после удаления связь с R^{CA} заменяется на $=\text{O}$, а связь с W^{N} заменяется на $-\text{N}=\text{C}(\text{N}(\text{R}^1)_2)_2$.

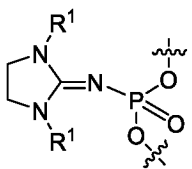
В определенных вариантах осуществления P^{L} представляет собой $\text{P}=\text{S}$, и при удалении

R^{CA} такая межнуклеотидная связь превращается в фосфотиоатную межнуклеотидную связь.

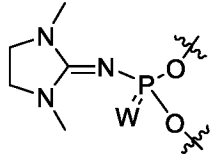
В определенных вариантах осуществления P^L представляет собой $P=W^N$, и при удалении R^{CA} такая межнуклеотидная связь превращается в межнуклеотидную связь,

характеризующуюся структурой . В определенных вариантах

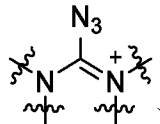
осуществления межнуклеотидная связь, характеризующаяся структурой ,

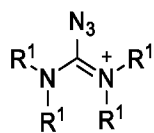
характеризуется структурой . В определенных вариантах осуществления

межнуклеотидная связь, характеризующаяся структурой , характеризуется

структурой .

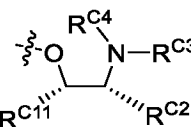
В определенных вариантах осуществления P^L представляет собой P (например, в новообразованной межнуклеотидной связи в результате сочетания фосфорамидита с 5'-ОН). В определенных вариантах осуществления W представляет собой O или S. В определенных вариантах осуществления W представляет собой S (например, после сульфирования). В определенных вариантах осуществления W представляет собой O (например, после окисления). В определенных вариантах осуществления определенные межнуклеотидные связи, отличные от отрицательно заряженных, или нейтральные межнуклеотидные связи могут быть получены посредством осуществления реакции P(III)-фосфиттриэфирной межнуклеотидной связи с солями азидоимдазолия (например,

соединениями, содержащими ) в подходящих условиях. В определенных вариантах осуществления соль азидоимдазолия представляет собой соль PF_6^- . В определенных вариантах осуществления соль азидоимдазолия представляет собой соль

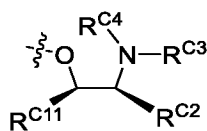


В определенных вариантах осуществления соль азидоимидазолия представляет собой гексафторфосфат 2-азидо-1,3-диметилимидазолия.

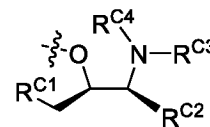
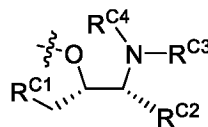
Как понятно специалистам в данной области техники, Q^- может представлять собой различные подходящие анионы, присутствующие в системе (например, при синтезе олигонуклеотидов), и может варьироваться в ходе процессов получения олигонуклеотидов в зависимости от циклов, стадий процесса, реагентов, растворителей и т. д. В определенных вариантах осуществления Q^- представляет собой PF_6^- .



В определенных вариантах осуществления R^{CA} представляет собой R^{C11} или



, где R^{C4} представляет собой $-H$ или $-C(O)R'$, а каждая другая переменная независимо является такой, как описано в данном документе. В определенных вариантах



осуществления R^{CA} представляет собой R^{C1} или R^{C2} , где R^{C1} представляет собой R , $-Si(R)_3$ или $-SO_2R$, R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-7-членного насыщенного кольца, содержащего в дополнение к атому азота 0-2 гетероатома, R^{C4} представляет собой $-H$ или $-C(O)R'$. В определенных вариантах осуществления R^{C4} представляет собой $-H$. В определенных вариантах осуществления R^{C4} представляет собой $-C(O)CH_3$. В определенных вариантах осуществления R^{C2} и R^{C3} взяты вместе с образованием необязательно замещенного 5-членного кольца.

В определенных вариантах осуществления R^{C4} представляет собой $-H$ (например, в новообразованной межнуклеотидной связи в результате сочетания фосфорамидита с 5'-ОН). В определенных вариантах осуществления R^{C4} представляет собой $-C(O)R$ (например, после кэппирования амина). В определенных вариантах осуществления R представляет собой метил.

В определенных вариантах осуществления каждая фосфотиоатная межнуклеотидная связь с контролируемой хиральностью независимо получена в результате превращения из $-O^5-P^L(W)(R^{CA})-O^3-$.

8. Определение характеристик и оценка

В определенных вариантах осуществления свойства и/или виды активности dsRNAi-олигонуклеотидов и композиций на их основе можно характеризовать и/или оценивать с использованием различных технологий, доступных специалистам в данной области техники, например, биохимических анализов, клеточных анализов, животных моделей, клинических испытаний и т. д.

В определенных вариантах осуществления способ идентификации и/или получения характеристик композиции на основе олигонуклеотидов, например композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, включает стадии получения по меньшей мере одной композиции, содержащей совокупность олигонуклеотидов; и проведение оценки доставки по сравнению с эталонной композицией.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ идентификации и/или получения характеристик композиции на основе ds-олигонуклеотидов, например композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, включающий стадии получения по меньшей мере одной композиции, содержащей совокупность ds-олигонуклеотидов; и проведение оценки поглощения клетками по сравнению с эталонной композицией.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ идентификации и/или получения характеристик композиции на основе ds-олигонуклеотидов, например композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, включающий стадии получения по меньшей мере одной композиции, содержащей совокупность ds-олигонуклеотидов; и проведение оценки снижения содержания транскриптов гена-мишени и/или продукта, кодируемого им, по сравнению с эталонной композицией.

В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен способ идентификации и/или получения характеристик композиции на основе ds-олигонуклеотидов, например композиции на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, включающий стадии получения по меньшей мере одной композиции, содержащей совокупность ds-олигонуклеотидов; и проведение оценки снижения уровней тау-белка, его агрегации и/или распространения по сравнению с эталонной композицией.

В определенных вариантах осуществления свойства и/или виды активности ds-олигонуклеотидов, например dsRNAi-олигонуклеотидов, и композиций на их основе сравнивают с эталонными ds-олигонуклеотидами и композициями на их основе соответственно.

В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов представляет собой композицию на основе стереослучайных ds-

олигонуклеотидов. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов представляет собой композицию на основе стереослучайных ds-олигонуклеотидов, в которой все межнуклеотидные связи являются фосфотиоатными. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов ДНК со всеми фосфатными связями. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов в остальном идентична представленной композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью за исключением того, что она не характеризуется контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов в остальном идентична представленной композиции на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью за исключением того, что она характеризуется отличным паттерном стереохимической структуры. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов является подобной представленной композиции на основе ds-олигонуклеотидов за исключением того, что она имеет отличную модификацию одного или нескольких сахаров, оснований и/или межнуклеотидных связей или паттерн модификаций. В определенных вариантах осуществления композиция на основе ds-олигонуклеотидов характеризуется стереослучайностью, и эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов также характеризуется стереослучайностью, но они различаются с точки зрения модификации(-й) сахара и/или оснований или их паттернов.

В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию ds-олигонуклеотидов, имеющих одинаковую последовательность оснований и одинаковые химические модификаций. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию ds-олигонуклеотидов, имеющих одинаковую последовательность оснований и одинаковый паттерн химические модификаций. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию без контролируемой хиральности (или стереослучайную) из ds-олигонуклеотидов, имеющих одинаковую последовательность оснований и химические модификации. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой не характеризующуюся контролируемой хиральностью (или стереослучайную) композицию из ds-олигонуклеотидов одинакового состава, но в остальном идентичную представленной композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью.

В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов состоит из ds-олигонуклеотидов, имеющих различную последовательность оснований. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция на основе ds-олигонуклеотидов состоит из ds-олигонуклеотидов, которые не нацеливаются на RNAi-мишень (например, в качестве отрицательного контроля для определенных анализов).

В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих одинаковую последовательность оснований, но отличающиеся химические модификации, включая без ограничений химические модификации, описанные в данном документе. В определенных вариантах осуществления эталонная композиция представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов, имеющих одинаковую последовательность оснований, но отличающиеся паттерны межнуклеотидных связей и/или стереохимическую структуру межнуклеотидных связей и/или химических модификаций.

В данной области техники известны различные способы обнаружения генных продуктов, экспрессия, уровень и/или активность которых может меняться после введения или применения представленного ds-олигонуклеотида. Например, транскрипты и их нокдаун можно обнаружить и количественно определить с помощью qPCR, а уровни белка можно определить с помощью вестерн-блота.

В определенных вариантах осуществления оценку эффективности олигонуклеотидов можно выполнять с помощью биохимических анализов или в клетках *in vitro*. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды можно вводить в клетки с помощью различных способов, доступных специалистам в данной области техники, например, путем гипнотической доставки, трансфекции, липофекции и т. д.

В определенных вариантах осуществления эффективность планируемого dsRNAi-олигонуклеотида можно тестировать *in vitro*.

В определенных вариантах осуществления эффективность планируемого dsRNAi-олигонуклеотида можно тестировать *in vitro* с применением любого известного способа тестирования экспрессии, уровня и/или активности гена или его генного продукта.

В определенных вариантах осуществления растворимые агрегаты dsRNAi можно обнаруживать с помощью иммуноблоттинга.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид тестируют на клеточной или животной модели заболевания.

В определенных вариантах осуществления с помощью животной модели, которой вводят dsRNAi-олигонуклеотид, можно оценить безопасность и/или эффективность.

В определенных вариантах осуществления можно оценивать эффект(-ы) введения ds-олигонуклеотида животному, включая любые эффекты в отношении поведения, воспаления и токсичности. В определенных вариантах осуществления после введения дозы за животными можно наблюдать в отношении признаков токсичности, включая проблемы с уходом за шерстью, недостаточное потребление пищи и любых других признаков заторможенности. В определенных вариантах осуществления на мышинной модели после введения dsRNAi-олигонуклеотида можно осуществлять отслеживание животных для определения времени проявления фенотипа сжимания задней лапы.

В определенных вариантах осуществления после введения dsRNAi-олигонуклеотида животному животное можно умерщвлять и можно выполнять анализ тканей или клеток для определения изменений активности RNAi или других биохимических или других изменений. В определенных вариантах осуществления после проведения некропсии печень, сердце, легкое, почку и селезенку можно собирать, фиксировать и обрабатывать для гистопатологической оценки (стандартное исследование предметных стекол с тканями, окрашенными гематоксилином и эозином, с помощью световой микроскопии).

В определенных вариантах осуществления после введения dsRNAi-олигонуклеотида животному можно проводить отслеживание или оценку изменений в поведении. В определенных вариантах осуществления такую оценку можно выполнять с применением методики, описанной в научной литературе.

Различные эффекты тестирования на животных, описанные в данном документе, также можно отслеживать у субъектов-людей или пациентов после введения dsRNAi-олигонуклеотида.

Кроме того, эффективность dsRNAi-олигонуклеотида у субъекта-человека можно измерять путем оценки после введения олигонуклеотида любого из различных параметров, известных из уровня техники, включая без ограничения снижение тяжести симптомов или уменьшение скорости ухудшения или начала появления симптома заболевания.

В определенных вариантах осуществления после лечения человека ds-олигонуклеотидов или после приведения клетки или ткани в контакт с олигонуклеотидом *in vitro* клетки и/или ткани собирают для анализа.

В определенных вариантах осуществления в различных клетках и/или тканях уровни нуклеиновой кислоты-мишени можно количественно определять с помощью способов, доступных в данной области техники, многие из которых можно выполнять с помощью коммерчески доступных наборов и материалов. Такие способы включают, например, анализ методом нозерн-блот, конкурентную полимеразную цепную реакцию (ПЦР), количественную ПЦР в реальном времени и т. д. Анализ РНК можно проводить на общей

клеточной РНК или поли(А) + мРНК. Зонды и праймеры разрабатываются для гибридизации с нуклеиновой кислотой, подлежащей обнаружению. Способы разработки зондов и праймеров для ПЦР в реальном времени хорошо известны и широко применяются на практике в данной области техники. Например, для обнаружения и количественной оценки РНК RNAi приводимый в качестве примера способ включает выделение общей РНК (например, включающей мРНК) из клетки или животного, обработанных олигонуклеотидом или композицией, и анализ РНК с помощью обратной транскрипции и/или количественной ПЦР в реальном времени, например, как описано в данном документе или в Moon et al. 2012 Cell Metab. 15: 240-246.

В определенных вариантах осуществления уровни белка можно оценивать или количественно определять с помощью различных способов, известных в данной области техники, например твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA), анализа методом вестерн-блота (иммуноблоттинга), иммуноцитохимии, сортировки флуоресцентно-активированных клеток (FACS), иммуногистохимии, иммунопреципитации, анализов активности белка (например, анализов активности каспазы) и количественных белковых анализов. Антитела, применимые для обнаружения белков мыши, крысы, обезьяны и человека, являются коммерчески доступными или могут быть получены в случае необходимости. Например, сообщалось о различных антителах к RNAi.

В данной области техники являются доступными и/или известными различные технологии для определения уровней олигонуклеотидов или других нуклеиновых кислот. Такие технологии применимы для обнаружения dsRNAi-олигонуклеотидов при введении для оценки, например, доставки, поглощения клетками, стабильности, распределения и т. д.

В определенных вариантах осуществления для оценки данных, полученных в различных анализах, и для выбора особенно пригодных олигонуклеотидов, например пригодных dsRNAi-олигонуклеотидов, с определенными свойствами и активностью используются критерии отбора. В определенных вариантах осуществления критерии отбора включают IC₅₀, составляющую менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ или менее приблизительно 1 нМ. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности включают стабильность, составляющую по меньшей мере 50% [по меньшей мере 50% олигонуклеотида остается и/или может быть обнаружено] в день 1. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности включают стабильность, составляющую по меньшей мере 50% в день 2. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности включают стабильность, составляющую по меньшей мере 50% в день 3. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности включают стабильность,

составляющую по меньшей мере 50% в день 4. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности включают стабильность, составляющую по меньшей мере 50% в день 5. В определенных вариантах осуществления критерии отбора для анализа стабильности составляют по меньшей мере 80% [по меньшей мере 80% олигонуклеотида остается] в день 5.

В определенных вариантах осуществления эффективность dsRNAi-олигонуклеотида оценивают непосредственно или опосредованно путем отслеживания, измерения или обнаружения изменения состояния, нарушения или заболевания или биологического пути.

В определенных вариантах осуществления эффективность dsRNAi-олигонуклеотида оценивают непосредственно или опосредованно путем отслеживания, измерения или обнаружения изменения ответа, на который воздействует нокдаун.

В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид (например, dsRNAi-олигонуклеотид) можно анализировать с помощью анализа последовательности с определением того, какие другие гены (например, гены, которые не являются геном-мишенью) имеют последовательность, которая является комплементарной последовательности оснований представленного ds-олигонуклеотида (например, dsRNAi-олигонуклеотида) или которая характеризуется наличием 0, 1, 2 или больше ошибок спаривания с последовательностью оснований представленного ds-олигонуклеотида (например, dsRNAi-олигонуклеотида). Нокдаун данных потенциальных нецелевых мишеней под действием ds-олигонуклеотида, при его присутствии, можно определять для оценки потенциальных нецелевых эффектов ds-олигонуклеотида (например, dsRNAi-олигонуклеотида). В определенных вариантах осуществления нецелевой эффект также называют не предусмотренным эффектом и/или связан с гибридизацией со стороной (не являющейся мишенью) последовательностью или геном.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид, который прошел оценку и тестирование в отношении его способности обеспечивать конкретный биологический эффект (например, снижение уровня, экспрессии и/или активности гена-мишени или его генного продукта) можно применять для лечения, уменьшения интенсивности и/или предупреждения состояния, нарушения или заболевания.

9. Биологически активные олигонуклеотиды

В определенных вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает ds-олигонуклеотиды, которые способны действовать как dsRNAi-средства.

В определенных вариантах осуществления представленные композиции включают один или несколько олигонуклеотидов, полностью или частично комплементарных нити структурных генов, областям контроля и/или терминации генов и/или

самореплицирующимся системам, таким как вирусная или плазмидная ДНК. В определенных вариантах осуществления представленные композиции включают один или несколько олигонуклеотидов, которые представляют собой или действуют как средства для RNAi или другие реагенты для РНК-интерференции (средства для RNAi или средства на основе iRNA), shRNA, бессмысловые олигонуклеотиды, саморасщепляющиеся РНК, рибозимы, их фрагменты и/или их варианты (такие как пептидилтрансфераза-23S-rRNA, РНКазы Р, интроны I группы и II группы, разветвленные рибозимы GIR1, свинцовый рибозим, содержащие шпильку рибозимы, рибозимы типа hammerhead, рибозимы HDV, рибозим CPEB3 млекопитающих, рибозимы VS, рибозимы glmS, рибозим CoTC и т. д.), микроРНК, миметики микроРНК, супер-miR, аптамеры, анти-miR, антагонисты miR, адапторы U1, триплекс-образующие олигонуклеотиды, активаторы РНК, длинные некодирующие РНК, короткие некодирующие РНК (например, piRNA), иммуномодуляторные олигонуклеотиды (такие как иммуностимулирующие олигонуклеотиды, иммуноподавляющие олигонуклеотиды), GNA, LNA, ENA, PNA, TNA, морфолино-, G-квадруплекс- (РНК и ДНК), противовирусные олигонуклеотиды и олигонуклеотиды-ловушки.

В определенных вариантах осуществления представленные композиции включают один или несколько гибридных (например, химерных) олигонуклеотидов. В контексте настоящего изобретения термин "гибридный" в широком смысле относится к смешанным структурным элементам олигонуклеотидов. Гибридные олигонуклеотиды могут относиться, например, (1) к молекуле олигонуклеотида, содержащей смешанные классы нуклеотидов, например часть ДНК и часть РНК в пределах одной молекулы (например, ДНК-РНК); (2) к комплементарным парам нуклеиновых кислот из разных классов так, что образование пар оснований ДНК:РНК происходит либо внутримолекулярно, либо межмолекулярно; либо и так, и так; (3) к олигонуклеотиду с двумя или больше видами связей в остове или межнуклеотидных связей.

В определенных вариантах осуществления представленные композиции включают один или несколько олигонуклеотидов, которые содержат более одного класса остатков нуклеиновых кислот в пределах одной молекулы. Например, в любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе, олигонуклеотид может содержать часть ДНК и часть РНК. В определенных вариантах осуществления олигонуклеотид может содержать немодифицированную часть и модифицированную часть.

Представленные композиции на основе ds-олигонуклеотидов могут включать олигонуклеотиды, содержащие любую из ряда разных модификаций, например, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления конкретные модификаций

выбирают, например, с учетом предполагаемого применения. В определенных вариантах осуществления необходимо модифицировать одну или обе нити двухнитевого олигонуклеотида (или двухнитевую часть одонитевого олигонуклеотида). В определенных вариантах осуществления две нити (или части) включают разные модификации. В определенных вариантах осуществления две нити включают одинаковые модификации. Специалист в данной области техники поймет, что степень и тип модификаций, обеспечиваемые способом по настоящему изобретению, позволяют осуществление численных преобразований модификаций. Примеры таких модификаций описаны в данном документе и не предназначены для ограничения.

Используемая в данном документе фраза "антисмысловая нить" или "направляющая нить" относится к олигонуклеотиду, который по сути или на 100% комплементарный последовательности-мишени, представляющей интерес. Фраза "антисмысловая нить" или "направляющая нить" включает антисмысловую область как олигонуклеотидов, которые образованы из двух отдельных нитей, так и одномолекулярных олигонуклеотидов, которые способны образовывать шпильки или структуры типа гантель. Ссылаясь на двухнитевое средство для RNAi, такое как siRNA, антисмысловая нить представляет собой нить, преимущественно включаемую в RISC и которая направляет RISC-опосредованный нокдаун РНК-мишень. Ссылаясь на двухнитевое средство для RNAi, термины "антисмысловая нить" и "направляющая нить" применяют взаимозаменяемо в данном документе; а термины "смысловая нить" или "сопровождающая нить" применяют взаимозаменяемо в данном документе, ссылаясь на нить, которая не является антисмысловой нитью.

Фраза "смысловая нить" относится к олигонуклеотиду, который имеет такую же последовательность нуклеозидов, в целом или частично, что и последовательность-мишень, такая как информационная РНК или последовательность ДНК.

Под "последовательностью-мишенью" понимают любую последовательность нуклеиновой кислоты, экспрессия или активность которой подлежит модулированию. Нуклеиновая кислота-мишень может представлять собой ДНК или РНК, такую как эндогенные ДНК или РНК, вирусная ДНК или вирусная РНК или другая РНК, кодируемая геном, вирусом, бактерией, грибом, млекопитающим или растением. В определенных вариантах осуществления последовательность-мишень ассоциирована с заболеванием или нарушением. Ссылаясь на РНК-интерференцию и опосредованный РНКазой N нокдаун, последовательность-мишень обычно представляет собой последовательность РНК-мишень.

Под "специфически гибридизируемым" и "комплементарным" понимают, что нуклеиновая кислота может образовывать водородную(-ые) связь(-и) с другой

последовательностью нуклеиновой кислоты посредством либо традиционного типа спаривания оснований по Уотсону-Крику, либо другого нетрадиционного типа. Ссылаясь на молекулы нуклеиновой кислоты по настоящему изобретению, свободная энергия связывания молекулы нуклеиновой кислоты с ее комплементарной последовательностью является достаточной для обеспечения выполнения соответствующей функции нуклеиновой кислоты, например, активности RNAi. Определение значений свободной энергии связывания для молекул нуклеиновых кислот широко известно в уровне техники (см., например, Turner et al, 1987, CSH Symp. Quant. Biol. LIT стр. 123-133; Frier et al., 1986, Proc. Nat. Acad. Sci. USA83:9373-9377; Turner et al., 1987, J. Am. Chem. Soc. 109:3783-3785).

Процент комплементарности указывает процентную долю смежных остатков в молекуле нуклеиновой кислоты, которые могут образовывать водородные связи (например, спаривание оснований по Уотсону-Крику) со второй последовательностью нуклеиновой кислоты (например, 5, 6, 7, 8, 9, 10 из 10 составляют 50%, 60%, 70%, 80%, 90% и 100% комплементарность). "Идеально комплементарный" или 100% комплементарность означает, что все смежные остатки последовательности нуклеиновой кислоты будут связываться с помощью водородных связей с таким же количеством смежных остатков во второй последовательности нуклеиновой кислоты. Менее идеальная комплементарность относится к ситуации, в которой некоторые, но не все нуклеозидные звенья двух нитей могут связываться водородными связями друг с другом. "Значительная комплементарность" относится к полинуклеотидным нитям, демонстрирующим 90% или большую комплементарность, за исключением областей полинуклеотидных нитей, таких как выступы, которые выбраны так, чтобы быть некомплементарными. Специфическое связывание требует достаточной степени комплементарности для избегания неспецифического связывания олигомерного соединения с отличной от мишени последовательностью в условиях, в которых требуется специфическое связывание, например в физиологических условиях в случае анализов *in vivo* или терапевтического лечения или в случае анализов *in vitro* в условиях, в которых эти анализы выполняют. В определенных вариантах осуществления отличные от мишени последовательности отличаются от соответствующих последовательностей-мишеней по меньшей мере 5 нуклеотидами.

При применении в качестве терапевтических средств представленный ds-олигонуклеотид вводят в виде фармацевтической композиции. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество представленного олигонуклеотида или его фармацевтически приемлемой соли и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый неактивный ингредиент,

выбранный из фармацевтически приемлемых разбавителей, фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ и фармацевтически приемлемых носителей. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции, перорального введения, трансбуккального введения, ингаляции, назального введения, местного введения, офтальмического введения или ушного введения. В дополнительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция представлена в виде таблетки, пилюли, капсулы, жидкости, лекарственной формы для ингаляции, раствора назального спрея, суппозитория, суспензии, геля, коллоидного раствора, дисперсии, суспензии, раствора, эмульсии, мази, лосьона, глазных капель или ушных капель.

10. Введение олигонуклеотидов и композиций

В соответствии с настоящим изобретением для введения представленных ds-олигонуклеотидов и композиций на их основе (как правило, фармацевтических композиций для терапевтических целей) можно использовать множество способов, схем доставки и т. д., включая различные технологии, известные в данной области техники.

В определенных вариантах осуществления композицию на основе ds-олигонуклеотидов, например композицию на основе dsRNAi-олигонуклеотидов, вводят в более низкой дозе и/или с более низкой частотой, чем в случае с в остальном сопоставимой эталонной композицией на основе ds-олигонуклеотида, и получают сопоставимые или улучшенные эффекты. В определенных вариантах осуществления композицию на основе ds-олигонуклеотида с контролируемой хиральностью вводят в более низкой дозе и/или с более низкой частотой, чем таковые для сопоставимой, в остальном идентичной эталонной композицией на основе стереослучайного ds-олигонуклеотида, и с получением сопоставимых или улучшенных эффектов, например, в отношении улучшения нокдауна транскрипта, являющегося мишенью.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения признается, что свойства и активность, например активность в отношении нокдауна, стабильность, токсичность и т. д., ds-олигонуклеотидов и композиций на их основе можно модулировать и оптимизировать с помощью химических модификаций и/или стереохимии. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлены способы оптимизации свойств и/или видов активности ds-олигонуклеотидов посредством химических модификаций и/или стереохимической структуры. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлен ds-олигонуклеотиды и композиции на их основе с улучшенными свойствами и/или видами активности. Не вдаваясь в какую-либо теорию, что в связи, например, с их улучшенными профилями активности, стабильности, доставки, распределения, токсичности, фармакокинетики, фармакодинамики

и/или эффективности заявители отмечают, что представленные ds-олигонуклеотиды и композиции на их основе в определенных вариантах осуществления можно вводить в более низкой дозе и/или с меньшей частотой для достижения сопоставимой или большей эффективности, а в определенных вариантах осуществления можно вводить в более высокой дозе и/или с большей частотой для обеспечения улучшенных эффектов. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе, где ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе не демонстрируют повышенных нецелевых эффектов по сравнению с ds-олигонуклеотидами без контролируемой хиральности. Более того, в определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе, где ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе демонстрируют повышенную загрузку направляющей нити в Ago2 по сравнению с ds-олигонуклеотидами без контролируемой хиральности.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения в способе введения композиции на основе ds-олигонуклеотида, содержащей совокупность ds-олигонуклеотидов, обладающих общей последовательностью оснований, представлено улучшение, предусматривающее введение ds-олигонуклеотида, содержащегося в совокупности ds-олигонуклеотидов, который характеризуется улучшенной доставкой по сравнению с эталонной композицией на основе ds-олигонуклеотидов с той же общей последовательностью оснований.

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды, композиции и способы обеспечивают улучшенную доставку. В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды, композиции и способы обеспечивают улучшенную доставку в цитоплазму. В определенных вариантах осуществления улучшенная доставка осуществляется в популяцию клеток. В определенных вариантах осуществления улучшенная доставка осуществляется в ткань. В определенных вариантах осуществления улучшенная доставка осуществляется в орган. В определенных вариантах осуществления улучшенная доставка осуществляется в организм, например, пациента или субъекта. Примеры структурных элементов (например, химические модификации, стереохимическая структура, их комбинации и т. д.), олигонуклеотиды, композиции и способы, которые обеспечивают улучшенную доставку, подробно описаны в настоящем изобретении.

Для введения ds-олигонуклеотидов и композиций по настоящему изобретению можно использовать различные схемы введения доз. В определенных вариантах осуществления вводят несколько стандартных доз, разделенных периодами времени. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе, где ds-олигонуклеотиды с контролируемой хиральностью и композиции на их основе после повторного введения доз не демонстрируют ослабленных показателей по сравнению с ds-олигонуклеотидами без контролируемой хиральности. Например, без ограничения такие показатели могут включать один или несколько маркеров функции печени. Иллюстративные маркеры функции печени включают без ограничения ALT: аланинтрансаминазу; AST: аспартаттрансаминазу; ALP: щелочную фосфатазу; ALB: альбумин; TP: общий уровень белка. В определенных вариантах осуществления для заданной композиции имеется рекомендованная схема введения доз, которая может включать одну или несколько доз. В определенных вариантах осуществления схема введения доз включает совокупность доз, каждая из которых отделена от другой периодом времени одинаковой продолжительности; в определенных вариантах осуществления схема введения доз включает совокупность доз и по меньшей мере два отличающихся периода времени, разделяющих отдельные дозы. В определенных вариантах осуществления все дозы в пределах схемы введения доз имеют одинаковое количество, соответствующее стандартной дозе. В определенных вариантах осуществления отличающиеся дозы в пределах схемы введения доз имеют отличающиеся количества. В определенных вариантах осуществления схема введения доз предусматривает первую дозу в количестве, соответствующем первой дозе, после чего следуют одна или несколько дополнительных доз в количестве, соответствующем второй дозе, отличающемся от количества, соответствующего первой дозе. В определенных вариантах осуществления схема введения доз предусматривает первую дозу в количестве, соответствующем первой дозе, после чего следуют одна или несколько дополнительных доз в количестве, соответствующем второй (или последующей) дозе, которое является таким же, как количество, соответствующее первой дозе (или другой предшествующей дозе), или отличается от него. В определенных вариантах осуществления композицию на основе ds-олигонуклеотида с контролируемой хиральностью вводят в соответствии со схемой введения доз, которая отличается от схемы, используемой для композиции на основе ds-олигонуклеотида, не характеризующегося контролируемой хиральностью (например, стереослучайного), с такой же последовательностью, и/или композиции на основе другого ds-олигонуклеотида с контролируемой хиральностью с такой же последовательностью. В определенных вариантах осуществления композицию на основе

ds-олигонуклеотида с контролируемой хиральностью вводят в соответствии со схемой введения доз, которая снижена по сравнению со схемой, используемой для композиции на основе ds-олигонуклеотида с неконтролируемой хиральностью (например, стереослучайного) с такой же последовательностью, в том смысле, что она обеспечивает более низкий уровень общего воздействия за заданную единицу времени, включает одну или несколько более низких стандартных доз и/или включает меньшее число доз в течение заданной единицы времени. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид без контролируемой хиральности вводят в соответствии со схемой введения доз, которую распределяют на более длительный период времени, чем в случае композиции на основе ds-олигонуклеотидов без контролируемой хиральности (например, стереослучайных) с такой же последовательностью. Не ограничиваясь теорией, заявители отмечают, что в определенных вариантах осуществления более короткая схема введения доз и/или более длительные периоды времени между введением доз могут быть обусловлены улучшенной стабильностью, биодоступностью и/или эффективностью композиции на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления для обеспечения биологических эффектов, например клинической эффективности, представленные композиции с улучшенной доставкой (и другими свойствами) можно вводить в более низких дозировках и/или с более низкой частотой.

11. Фармацевтические композиции

При применении в качестве терапевтических средств представленный ds-олигонуклеотид, например dsRNAi-олигонуклеотид, или композицию на основе этого ds-олигонуклеотида, как правило, вводят в виде фармацевтической композиции. В определенных вариантах осуществления в настоящем изобретении представлены фармацевтические композиции, содержащие представленное соединение, например ds-олигонуклеотид, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтический носитель. В определенных вариантах осуществления для терапевтических и клинических целей ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению представлены в виде фармацевтических композиций. Как понятно специалистам в данной области техники, ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению могут быть представлены в их кислотной, основной или солевой формах. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотиды могут находиться в кислотных формах, например, в случае природных фосфатных связей в форме $-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})\text{O}-$; в случае фосфотиоатных межнуклеотидных связей в форме $-\text{OP}(\text{O})(\text{SH})\text{O}-$ и т. д. В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды могут находиться в солевых формах, например, в случае природных фосфатных связей в форме $-\text{OP}(\text{O})(\text{ONa})\text{O}-$ в натриевых солях; в случае фосфотиоатных

межнуклеотидных связей в форме $-OP(O)(SNa)O-$ в натриевых солях и т. д. Если не указано иное, ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению могут существовать в кислотной, основной и/или солевой формах.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой жидкую композицию. В определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию получают путем растворения твердой композиции на основе ds-олигонуклеотида или разбавления концентрированной композиции на основе ds-олигонуклеотида с применением подходящего растворителя, например воды или фармацевтически приемлемого буфера. В определенных вариантах осуществления жидкие композиции содержат анионные формы представленных ds-олигонуклеотидов и один или несколько катионов. В определенных вариантах осуществления жидкие композиции характеризуются значениями pH в слабо кислотном, приблизительно нейтральном или основном диапазоне. В определенных вариантах осуществления pH жидкой композиции представляет собой приблизительно физиологический pH, например приблизительно 7,4.

В определенных вариантах осуществления представленный ds-олигонуклеотид составлен для введения в клетку и/или ткань организма, экспрессирующие его мишень, и/или для приведения в контакт с ними. Например, в определенных вариантах осуществления представленный dsRNAi-олигонуклеотид составлен для введения в клетку и/или ткань организма. В определенных вариантах осуществления такие клетка и/или ткань организма выбраны из группы, состоящей из иммунных клеток, клеток крови, клеток сердца, клеток легкого, мышечных клеток, клеток глаза, клеток печени, клеток почки, клеток головного мозга, клеток центральной нервной системы и клеток периферической нервной системы. В определенных вариантах осуществления такие клетка и/или ткань организма представляют собой нейрон или клетку и/или ткань печени. В определенных вариантах осуществления широкого распределения ds-олигонуклеотидов и композиций можно достичь путем интрапаренхимального введения, интратекального введения или интрацеребровентрикулярного введения. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция составлена для внутривенной инъекции, перорального введения, трансбуккального введения, ингаляции, назального введения, местного введения, офтальмического введения или глазного введения. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция представлена в виде таблетки, пилюли, капсулы, жидкости, лекарственной формы для ингаляции, раствора назального спрея, суппозитория, суспензии, геля, коллоидного раствора, дисперсии, суспензии, раствора, эмульсии, мази, лосьона, глазных капель или ушных капель.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлена фармацевтическая композиция, содержащая ds-олигонуклеотид с контролируемой хиральностью или композицию на его основе в смеси с фармацевтически приемлемым неактивным ингредиентом (например, фармацевтически приемлемым вспомогательным веществом, фармацевтически приемлемым носителем и т. д.). Специалисту в данной области техники будет понятно, что фармацевтические композиции включают фармацевтически приемлемые соли представленного ds-олигонуклеотида или композиций. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой композицию на основе ds-олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция представляет собой композицию на основе стереомерно чистых ds-олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлены соли ds-олигонуклеотидов и фармацевтические композиции на их основе. В определенных вариантах осуществления соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит ds-олигонуклеотид, необязательно в его солевой форме, и натриевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит ds-олигонуклеотид, необязательно в его солевой форме, и хлорид натрия. В определенных вариантах осуществления каждый ион водорода в ds-олигонуклеотиде, который может быть донором для основания (например, в условиях водного раствора, фармацевтической композиции и т. д.), заменен катионом, отличным от H^+ . Например, в определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль ds-олигонуклеотида представляет собой соль, образованную только ионами металлов, где каждый ион водорода (например, в $-OH$, $-SH$ и т. д.) в каждой межнуклеотидной связи (например, природной фосфатной связи, фосфотиоатной межнуклеотидной связи и т. д.) заменен ионом металла. Различные соответствующие соли металлов для фармацевтических композиций широко известны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой натриевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой магниевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой кальциевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой калиевую соль. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой аммониевую соль (катион $N(R)_4^+$). В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль содержит

один и не более одного типа катионов. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль содержит два или больше типов катионов. В определенных вариантах осуществления катион представляет собой Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} или Ca^{2+} . В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль, образованную только ионами натрия. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемая соль представляет собой соль, образованную только ионами натрия, где каждая межнуклеотидная связь, которая представляет собой природную фосфатную связь (кислотная форма $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{OH})-\text{O}-$), если таковая присутствует, существует в форме ее натриевой соли ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{ONa})-\text{O}-$), и каждая межнуклеотидная связь, которая представляет собой фосфотиоатную межнуклеотидную связь (кислотная форма $-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SH})-\text{O}-$), если таковая присутствует, существует в форме ее натриевой соли ($-\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{SNa})-\text{O}-$).

Различные технологии доставки нуклеиновых кислот и/или олигонуклеотидов известны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением. Например, для доставки нуклеиновых кислот можно использовать различные супрамолекулярные наноносители. Примеры наноносителей включают без ограничения липосомы, катионные полимерные комплексы и различные полимерные соединения. Образование комплексов нуклеиновых кислот с различными поликатионами является другим подходом для внутриклеточной доставки; он включает применение пегилированных поликатионов, комплексов полиэтиленimina (PEI), катионных блок-сополимеров и дендримеров. Некоторые катионные наноносители, включающие PEI и полиамидаминные дендримеры, способствуют высвобождению содержимого из эндосом. Другие подходы включают применение полимерных наночастиц, микросфер, липосом, дендримеров, биоразлагаемых полимеров, конъюгатов, пролекарств, неорганических коллоидов, таких как сера или железо, антител, имплантатов, биоразлагаемых имплантатов, биоразлагаемых микросфер, имплантатов с осмотическим контролем, липидных наночастиц, эмульсий, масляных растворов, водных растворов, биоразлагаемых полимеров, сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты, полимолочной кислоты, жидкого депо-препарата, полимерных мицелл, квантовых точек и липоплексов. В определенных вариантах осуществления ds-олигонуклеотид конъюгирован с другой молекулой.

В вариантах терапевтического и/или диагностического применения соединения, например ds-олигонуклеотиды по настоящему изобретению, могут быть составлены для различных способов введения, включающих системное и местное или локализованное введение. Методики и составы в целом можно найти в Remington, The Science and Practice of Pharmacy (20th ed. 2000).

Фармацевтически приемлемые соли для основных фрагментов в целом хорошо известны средним специалистам в данной области техники и могут включать, например, ацетат, бензолсульфонат, безилат, бензоат, бикарбонат, битартрат, бромид, эдетат кальция, карнозилат, карбонат, цитрат, эдетат, эдизилат, эстолат, эзилат, фумарат, глюцептат, глюконат, глутамат, гликолиларсанилат, гексилрезорцинат, гидрабамин, гидробромид, гидрохлорид, гидроксинафтоат, йодид, изетионат, лактат, лактобионат, малат, малеат, манделат, мезилат, мукат, напсилат, нитрат, памоат (эмбонат), пантотенат, фосфат/дифосфат, полигалактуронат, салицилат, стеарат, субацетат, сукцинат, сульфат, таннат, тартрат или теоклат. Другие фармацевтически приемлемые соли можно найти, например, в Remington, *The Science and Practice of Pharmacy* (20th ed. 2000). Предпочтительные фармацевтически приемлемые соли включают, например, ацетат, бензоат, бромид, карбонат, цитрат, глюконат, гидробромид, гидрохлорид, малеат, мезилат, напсилат, памоат (эмбонат), фосфат, салицилат, сукцинат, сульфат или тартрат.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотиды составлены в фармацевтические композиции, описанные в WO 2005/060697, WO 2011/076807 или WO 2014/136086.

В зависимости от специфических состояний, нарушений или заболеваний, подлежащих лечению, представленные средства, например ds-олигонуклеотиды, могут быть составлены в виде жидких или твердых лекарственных форм и вводиться системно или местно. Представленные ds-олигонуклеотиды могут доставляться, например, в форме с контролируемым по времени или замедленным слабым высвобождением, что известно специалистам в данной области техники. Методики для составления и введения можно найти в Remington, *The Science and Practice of Pharmacy* (20th ed. 2000). Подходящие пути могут включать пероральное, трансбуккальное, с помощью спрея для ингаляций, сублингвальное, ректальное, трансдермальное, вагинальное, чресслизистое, назальное или кишечное введение; парентеральную доставку, включающую внутримышечную, подкожную, интрамедуллярную инъекции, а также интратекальную, прямую интравентрикулярную, внутривенную, внутрисуставную, внутригрудинную, интрасиновиальную, внутripеченочную, внутриочаговую, внутричерепную, внутрибрюшинную, интраназальную или внутриглазную инъекции или другой способ доставки.

В случае инъекции представленные средства, например олигонуклеотиды, могут быть составлены и разведены в водных растворах, таких как физиологически совместимые буферные растворы, такие как раствор Хэнкса, раствор Рингера или физиологический буферный солевой раствор. В случае такого чресслизистого введения в составах

используются обеспечивающие проникновение вещества соответствующие барьеру, подлежащего прохождению. Такие обеспечивающие проникновение вещества общеизвестны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим изобретением.

Использование фармацевтически приемлемых носителей для составления соединений, например, представленных ds-олигонуклеотидов, для применения на практике по настоящему изобретению, в дозировках, подходящих для различных способов введения, хорошо известно в данной области техники. При правильном выборе носителя и подходящей технологии изготовления композиции по настоящему изобретению, например, составленные в виде растворов, можно вводить различными путями, например, парентерально, как, например, путем внутривенной инъекции.

В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая dsRNAi-олигонуклеотид дополнительно содержит любое или все из дигидрата хлорида кальция, гексагидрата хлорида магния, хлорида калия, хлорида натрия, безводного двухосновного фосфата натрия, фосфата натрия, одноосновного дигидрата и/или воды для инъекций. В определенных вариантах осуществления композиция дополнительно содержит любой или все из: дигидрата хлорида кальция (0,21 мг) USP, гексагидрата хлорида магния (0,16 мг) USP, хлорида калия (0,22 мг) USP, хлорида натрия (8,77 мг) USP, безводного двухосновного фосфата натрия (0,10 мг) USP, одноосновного дигидрата фосфата натрия (0,05 мг) USP и воды для инъекций USP.

В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая ds-олигонуклеотид, дополнительно содержит любой или все из: холестерина, (6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатриаконта-6,9,28,31-тетраен-19-ил-4-(диметиламино)бутаноата (DLin-MC3-DMA), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC), альфа-(3'-{[1,2-ди(миристилокси)пропанокси]карбониламино}пропил)-омега-метоксиполиоксиэтилена (PEG2000-C-DMG), безводного одноосновного фосфата калия NF, хлорида натрия, двухосновного гептагидрата фосфата натрия и воды для инъекций. В определенных вариантах осуществления pH композиции, содержащей RNAi-олигонуклеотид, составляет ~7,0. В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая олигонуклеотид, дополнительно содержит любое или все из 6,2 мг холестерина USP, 13,0 мг (6Z,9Z,28Z,31Z)-гептатриаконта-6,9,28,31-тетраен-19-ил-4-(диметиламино)бутаноата (DLin-MC3-DMA), 3,3 мг 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC), 1,6 мг α -(3'-{[1,2-ди(миристилокси)пропанокси]карбониламино}пропил)- ω -метоксиполиоксиэтилена (PEG2000-C-DMG), 0,2 мг безводного одноосновного фосфата калия NF, 8,8 мг хлорида

натрия USP, 2,3 мг двухосновного гептагидрата фосфата натрия и воды для инъекций USP в общем объеме, составляющем приблизительно 1 мл.

Представленные соединения, например ds-олигонуклеотиды, можно легко составить с использованием фармацевтически приемлемых носителей, хорошо известных в данной области техники, в дозах, подходящих для перорального введения. В определенных вариантах осуществления, такие носители позволяют составлять представленные олигонуклеотиды в виде таблеток, пилюль, капсул, жидкостей, гелей, сиропов, взвесей, суспензий и т. п., например, для перорального приема субъектом (например, пациентом), подлежащим лечению.

Для назальной или ингаляционной доставки представленные соединения, например ds-олигонуклеотиды, могут быть составлены с помощью способов, известных специалистам в данной области техники, и они могут включать, например, примеры солюбилизующих, разбавляющих или диспергирующих веществ, таких как солевой раствор, консерванты, такие как бензиловый спирт, активаторы абсорбции и фторуглероды.

В определенных вариантах осуществления способы специфической локализации представленных соединений, например ds-олигонуклеотидов, такие как болюсная инъекция, могут снижать среднюю эффективную концентрацию (EC₅₀) в 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 раз. В определенных вариантах осуществления целевая ткань представляет собой ткань головного мозга. В определенных вариантах осуществления целевая ткань представляет собой ткань полосатого тела. В определенных вариантах осуществления снижение EC₅₀ является желательным, поскольку при этом снижается доза, необходимая для достижения фармакологического результата у пациента, нуждающегося в этом.

В определенных вариантах осуществления представленные ds-олигонуклеотиды доставляются посредством инъекции или инфузии один раз в месяц, один раз в два месяца, один раз в 90 дней, один раз в 3 месяца, один раз в 6 месяцев, два раза в год или один раз в год.

Фармацевтические композиции, подходящие для применения в настоящем изобретении, включают композиции, где активные ингредиенты, например ds-олигонуклеотиды, содержатся в эффективных количествах, обеспечивающих достижение запланированных целей. Определение эффективных количеств находится в пределах компетенции специалистов в данной области техники, особенно в свете подробного описания, представленного в данном документе.

В дополнение к активным ингредиентам, фармацевтические композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые носители, содержащие вспомогательные вещества и вспомогательные средства, которые облегчают переработку

активного соединения в препараты, которые можно использовать в фармацевтике. Препараты, составленные для перорального введения, могут быть представлены в форме таблеток, драже, капсул или растворов.

В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции для перорального применения можно получать путем объединения активного соединения с твердыми вспомогательными веществами, необязательно измельчения полученной смеси и обработки смеси из гранул после добавления подходящих вспомогательных средств, если это необходимо, с получением таблеток или ядер драже. Подходящие вспомогательные вещества представляют собой, в частности, наполнители, такие как сахара, включая лактозу, сахарозу, маннит или сорбит; препараты целлюлозы, например маисовый крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, трагакантовую камедь, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, натрий-карбоксиметилцеллюлозу (СМС) и/или поливинилпирролидон (PVP: повидон). При необходимости могут быть добавлены разрыхлители, такие как сшитый поливинилпирролидон, агар или альгиновая кислота или ее соль, такая как альгинат натрия.

В определенных вариантах осуществления ядра драже обеспечиваются подходящими покрытиями. Для этой цели могут использоваться концентрированные растворы сахаров, которые необязательно могут содержать аравийскую камедь, тальк, поливинилпирролидон, карбополовый гель, полиэтиленгликоль (PEG) и/или диоксид титана, растворы лаков и подходящие органические растворители или смеси растворителей. Красители или пигменты могут быть добавлены к покрытиям для таблеток или драже для идентификации или для характеристики различных комбинаций доз активного соединения.

Фармацевтические препараты, которые могут использоваться перорально, включают твердые капсулы, изготовленные из желатина, а также мягкие, герметичные капсулы, изготовленные из желатина, и пластификатор, такой как глицерин или сорбит. Твердые капсулы могут содержать активные ингредиенты, например ds-олигонуклеотиды, в смеси с наполнителями, такими как лактоза, связующими, такими как крахмалы, и/или смазывающими средствами, такими как тальк или стеарат магния, и необязательно стабилизаторами. В мягких капсулах активные соединения, например ds-олигонуклеотиды, могут быть растворены или суспендированы в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкие полиэтиленгликоли (PEG). Кроме того, могут быть добавлены стабилизаторы.

В определенных вариантах осуществления предусмотренная композиция содержит липид. В определенных вариантах осуществления липид конъюгирован с активным соединением, например олигонуклеотидом. В определенных вариантах осуществления

липид не конъюгирован с активным соединением. В определенных вариантах осуществления липид содержит линейную, насыщенную или частично ненасыщенную C₁₀-C₄₀алифатическую цепь. В определенных вариантах осуществления липид содержит линейную, насыщенную или частично ненасыщенную C₁₀-C₄₀алифатическую цепь, необязательно замещенную одной или несколькими C₁₋₄алифатическими группами. В определенных вариантах осуществления липид выбран из группы, состоящей из лауриновой кислоты, миристиновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, олеиновой кислоты, линолевой кислоты, альфа-линоленовой кислоты, гамма-линоленовой кислоты, докозагексаеновой кислоты (цис-DHA), турбинаровой кислоты и дилинолеилового спирта. В определенных вариантах осуществления активное соединение представляет собой представленный олигонуклеотид. В определенных вариантах осуществления композиция содержит липид и активное соединение и дополнительно содержит другой компонент, который представляет собой другой липид, или нацеливающее соединение или фрагмент. В определенных вариантах осуществления липид представляет собой аминолипид; амфипатический липид; анионный липид; аполипопротеин; катионный липид; низкомолекулярный катионный липид; катионный липид, такой как CLinDMA и DLinDMA; ионизируемый катионный липид; маскирующий компонент; хелперный липид; липопептид; нейтральный липид; нейтральный цвиттер-ионный липид; гидрофобную малую молекулу; гидрофобный витамин; PEG-липид; незаряженный липид, модифицированный с помощью одного или нескольких гидрофильных полимеров; фосфолипид; фосфолипид, такой как 1,2-диолеоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин; липид-невидимку; стерол; холестерин; нацеливающий липид или другой липид, описанный в данном документе или известный в данной области техники, подходящий для вариантов фармацевтического применения. В определенных вариантах осуществления композиция содержит липид и часть другого липида, способного опосредовать по меньшей мере одну функцию другого липида. В определенных вариантах осуществления нацеливающее соединение или фрагмент способны нацеливать соединение (например, ds-олигонуклеотид) на конкретную клетку или ткани или подгруппу клеток или тканей. В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент сконструирован для использования экспрессии конкретных мишеней, рецепторов, белков или другого субклеточного компонента, которые являются специфическими для клетки или ткани. В определенных вариантах осуществления нацеливающий фрагмент представляет собой лиганд (например, малую молекулу, антитело, пептид, белок, углевод, аптамер и т. д.), который нацеливает композицию на клетку или ткань и/или связывается с мишенью, рецептором, белком или другим субклеточным компонентом.

Определенные примеры липидов для доставки активного соединения, например ds-олигонуклеотида, обеспечивают возможность (например, не предотвращают или не препятствуют) выполнения функции активного соединения. В определенных вариантах осуществления липид представляет собой лауриновую кислоту, миристиновую кислоту, пальмитиновую кислоту, стеариновую кислоту, олеиновую кислоту, линолевую кислоту, альфа-линоленовую кислоту, гамма-линоленовую кислоту, докозагексаеновую кислоту (цис-DHA), турбинаровую кислоту или дилинолеиловый спирт.

Как описано в настоящем изобретении, конъюгация с липидом, такая как конъюгация с жирными кислотами, может улучшать одно или несколько свойств ds-олигонуклеотидов.

В определенных вариантах осуществления композиция, предназначенная для доставки активного соединения, например ds-олигонуклеотида, при необходимости способна нацеливать активное соединение на конкретные клетки или ткани. В определенных вариантах осуществления композиция, предназначенная для доставки активного соединения, способна к нацеливанию активного соединения на мышечную клетку или ткань. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения представлены композиции и способы, связанные с доставкой активных соединений, где композиции содержат активное соединение и липид. В различных вариантах осуществления, связанных с клеткой или тканью печени, липид выбран из лауриновой кислоты, миристиновой кислоты, пальмитиновой кислоты, стеариновой кислоты, олеиновой кислоты, линолевой кислоты, альфа-линоленовой кислоты, гамма-линоленовой кислоты, докозагексаеновой кислоты (цис-DHA), турбинаровой кислоты и дилинолеилового спирта.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид доставляют в центральную нервную или печеночную систему, или клетку или ткань, или их часть, с помощью способа доставки или композиции, разработанной для доставки нуклеиновых кислот в центральную нервную или печеночную систему, или клетку или ткань, или их часть.

В определенных вариантах осуществления dsRNAi-олигонуклеотид доставляют помощью композиции, содержащей любое одно или несколько из наночастицы, нацеливающейся на рецептор трансферрина; стратегии доставки на основе катионных липосом; катионной липосомы; полимерной наночастицы; вирусного носителя; ретровируса; аденоассоциированного вируса; стабильной липидной частицы с нуклеиновой кислотой; полимера; проникающего в клетку пептида; липида; дендримера; нейтрального липида; холестерина; липидоподобной молекулы; фузогенного липида; гидрофильной молекулы; полиэтиленгликоля (PEG) или его производного; экранирующего липида; пегилированного липида; PEG-C-DMSO; PEG-C-DMSA; DSPC; способного к ионизации

липиды; производного холестерина на основе гуанидиния; покрытой ионами наночастицы; покрытой ионами металла наночастицы; покрытой ионами марганца наночастицы; ангубиндина-1; наногеля; включения dsRNAi в разветвленную структуру нуклеиновой кислоты и/или включения dsRNAi в разветвленную структуру нуклеиновой кислоты, содержащую 2, 3, 4 или больше олигонуклеотидов или способа доставки, включающего применение любого одного или нескольких из них .

В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая ds-олигонуклеотид, является лиофилизированной. В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая ds-олигонуклеотид, является лиофилизированной, и лиофилизированный ds-олигонуклеотид находится во флаконе. В определенных вариантах осуществления флакон заполнен азотом. В определенных вариантах осуществления лиофилизированную композицию на основе ds-олигонуклеотида восстанавливают перед введением. В определенных вариантах осуществления лиофилизированную композицию на основе ds-олигонуклеотида восстанавливают с помощью раствора хлорида натрия перед введением. В определенных вариантах осуществления лиофилизированную композицию на основе ds-олигонуклеотида восстанавливают с помощью 0,9% раствора хлорида натрия перед введением. В определенных вариантах осуществления восстановление осуществляют в клиническом центре, где проводится введение. В определенных вариантах осуществления в лиофилизированной композиции композиция на основе ds-олигонуклеотида характеризуется контролируемой хиральностью или содержит по меньшей мере одну межнуклеотидную связь с контролируемой хиральностью и/или мишени ds-олигонуклеотида.

II. ИЛЛЮСТРАТИВНЫЕ ПРИМЕРЫ

Для оценки свойств и/или видов активности представленных олигонуклеотидов и композиций на их основе можно использовать различные технологии. Некоторые такие технологии описаны в данном примере. Специалисты в данной области техники понимают, что можно легко использовать многие другие технологии. Как продемонстрировано в данном документе, представленные олигонуклеотиды и композиции, среди всего прочего, могут быть высокоактивными, например, в снижении уровней своих нуклеиновых кислот-мишеней.

В данном документе представлены определенные примеры представленных технологий (соединений (олигонуклеотидов, реагентов и т. д.), композиций, способов (способов получения, применения, оценки и т. д.) и т. д.).

ПРИМЕР 1. Олигонуклеотидный синтез

Известны различные технологии для получения олигонуклеотидов и композиций на основе олигонуклеотидов (как стереослучайных, так и с контролируемой хиральностью) и их можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, включая, например, таковые в US 9394333, US 9744183, US 9605019, US 9598458, US 9982257, US 10160969, US 10479995, US 2020/0056173, US 2018/0216107, US 2019/0127733, US 10450568, US 2019/0077817, US 2019/0249173, US 2019/0375774, WO 2018/223056, WO 2018/223073, WO 2018/223081, WO 2018/237194, WO 2019/032607, WO 2019/055951, WO 2019/075357, WO 2019/200185, WO 2019/217784, WO 2019/032612, WO 2020/191252 и/или WO 2021/071858, способы и реагенты из каждого из которых включены в данный документ посредством ссылки. Последовательности направляющей нити, характеризующиеся стереослучайностью и контролируемой хиральностью, получали с использованием синтетических процедур, приведенных в качестве примеров в выше указанном раскрытии. Соответствующие сопровождающие нити конструировали так, чтобы они содержали ковалентно связанный фрагмент GalNAc в качестве носителя для доставки на любом из двух концов последовательностей. Олигонуклеотиды с 5'-модификациями GalNAc синтезировали путем осуществления сочетания C6-амино-модификаторного линкера на 5'-конце последовательности. Олигонуклеотиды с 3'-фрагментом GalNAc в качестве носителя для доставки синтезировали путем использования 3'-C6-амино-модифицированной подложки. Одну нить отщепляли от CPG путем применения условий для удаления защитной группы, приведенных в качестве примера в более ранних раскрытиях. Полученный неочищенный олигонуклеотид, содержащий аминогруппу, очищали с помощью ионообменной хроматографии на системе очистки АКТА с применением градиента хлорида натрия. Требуемый продукт обессоливали, а далее применяли для конъюгации с GalNAc-кислотой. После того, как обнаруживали, что реакция конъюгации была завершена, материал дополнительно очищали с помощью ионообменной хроматографии и обессоливали с получением требуемого материала. Для введения связи PN в направляющую и сопровождающую нити, вводили PN-специфические циклы сочетания в требуемых положениях в олигонуклеотидной последовательности с использованием условий, приведенных в качестве примера в WO 2019/200185.

В определенных вариантах осуществления олигонуклеотиды получали с применением подходящих хиральных вспомогательных средств, например хиральных вспомогательных средств DPSE и PSM. Различные олигонуклеотиды, например, приведенные в **таблице 1**, и композиции на их основе получали в соответствии с настоящим изобретением.

Для оценки свойств и/или видов активности представленных олигонуклеотидов и композиций на их основе можно использовать различные технологии. Некоторые такие

технологии описаны в данном примере. Специалисты в данной области техники понимают, что можно легко использовать многие другие технологии. Как продемонстрировано в данном документе, представленные олигонуклеотиды и композиции, среди всего прочего, могут быть высокоактивными, например, в снижении уровней своих нуклеиновых кислот-мишеней.

ПРИМЕР 2. Представленные олигонуклеотиды и композиции могут эффективно обеспечивать нокдаун транстиретина мыши (mTTR) in vitro

Разрабатывали и конструировали различные siRNA для TTR мыши. Некоторое количество siRNA тестировали *in vitro* в первичных гепатоцитах мыши при одной концентрации или диапазоне концентраций. Некоторые siRNA также тестировали на мышцах (например, мышцах C57BL6 дикого типа).

Иллюстративный протокол для определения активности siRNA *in vitro*. Для определения активности siRNA, siRNA при конкретной концентрации доставляли гимнотическим способом в первичные гепатоциты мыши, высеянные в 96-луночные планшеты при 10000 клеток/луночка. После обработки в течение 48 часов экстрагировали общую РНК с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. В качестве нормализатора применяли HPRT мыши (прямой праймер 5'CAAACCTTTGCTTCCCTGGTT3', обратный праймер 5'TGGCCTGTATCCAACAACCTTC3', зонд 5'/5HEX/ACCAGCAAG/Zen/CTTGCAACCTTAACC/3IABkFQ/3'. Уровни нокдауна мРНК рассчитывали в виде % оставшейся мРНК относительно имитационной обработки.

В **таблице 2** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 300 и 100 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 2.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	300 пМ			100 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-2	Среднее
WV-41826	WV-41828	20,97	9,55	15,26	28,39	28,31	28,35
WV-43774	WV-42080	14,68	7,96	11,32	34,42	21,61	28,02
WV-46497	WV-42080	70,03	39,56	54,79	66,39	79,40	72,89
WV-46498	WV-42080	76,91	46,39	61,65	81,63	96,42	89,03
WV-46499	WV-42080	91,21	55,23	73,22	69,53	82,31	75,92
WV-46500	WV-42080	50,21	38,60	44,40	52,59	69,57	61,08
WV-46501	WV-42080	66,94	41,92	54,43	62,10	73,46	67,78
WV-46502	WV-42080	59,20	26,87	43,03	47,51	57,88	52,70
WV-46503	WV-42080	38,11	18,54	28,32	50,09	54,96	52,53
WV-46504	WV-42080	25,74	20,31	23,03	41,53	54,86	48,19
WV-46505	WV-42080	22,38	12,31	17,35	33,18	35,23	34,21
WV-46506	WV-42080	18,00	7,05	12,53	24,52	21,39	22,96
WV-46507	WV-42080	19,28	8,28	13,78	23,82	18,67	21,24
WV-46508	WV-42080	14,82	8,42	11,62	20,67	20,28	20,48
WV-46509	WV-42080	14,85	5,52	10,18	14,93	18,69	16,81
WV-46510	WV-42080	17,38	6,71	12,05	23,29	26,13	24,71
WV-46511	WV-42080	25,37	16,09	20,73	29,22	26,76	27,99

WV-46512	WV-42080	18,98	9,61	14,29	28,86	21,48	25,17
WV-46513	WV-42080	18,95	7,11	13,03	23,65	23,34	23,50
WV-46514	WV-42080	16,64	9,88	13,26	26,03	21,27	23,65
WV-46515	WV-42080	18,62	10,15	14,39	20,35	20,33	20,34
WV-46516	WV-42080	13,69	7,60	10,65	22,03	29,38	25,71
WV-46517	WV-42080	19,79	8,80	14,30	21,31	32,56	26,93
WV-46518	WV-42080	34,78	18,71	26,74	35,96	62,86	49,41
WV-46519	WV-42080	86,53	80,02	83,28	81,69	116,95	99,32
WV-46520	WV-42080	20,90	14,31	17,60	35,17	35,18	35,17
WV-45148	WV-42080	17,35	6,75	12,05	18,42	26,07	22,24
WV-46521	WV-42080	19,29	13,21	16,25	32,78	25,54	29,16
WV-46522	WV-42080	19,24	12,31	15,77	31,89	22,30	27,09
WV-46523	WV-42080	25,12	11,76	18,44	52,29	39,47	45,88
WV-46524	WV-42080	21,13	9,38	15,25	27,02	32,73	29,88
WV-46525	WV-42080	18,08	10,96	14,52	29,15	28,91	29,03
WV-46526	WV-42080	34,55	22,04	28,29	73,34	44,96	59,15
WV-45147	WV-42080	17,14	11,23	14,18	49,05	36,29	42,67
WV-46527	WV-42080	16,85	8,32	12,58	33,72	30,59	32,16
WV-46528	WV-42080	13,88	9,17	11,53	45,44	20,60	33,02
WV-46529	WV-42080	21,65	9,79	15,72	46,40	22,60	34,50
WV-46530	WV-42080	13,80	5,68	9,74	34,20	22,42	28,31
WV-46531	WV-42080	15,66	6,02	10,84	38,57	22,77	30,67

WV-46532	WV-42080	13,28	8,95	11,12	25,40	28,54	26,97
WV-46533	WV-42080	28,49	13,60	21,05	68,07	32,38	50,23
WV-46534	WV-42080	19,19	11,80	15,49	70,21	51,48	60,84
WV-45146	WV-42080	19,39	8,82	14,10	50,18	27,87	39,03
WV-46535	WV-42080	19,48	12,42	15,95	57,91	29,34	43,62
WV-46536	WV-42080	28,11	21,20	24,65	50,05	33,47	41,76
WV-46537	WV-42080	40,51	22,98	31,74	75,21	72,61	73,91
WV-43775	WV-42080	12,77	5,13	8,95	45,51	16,53	31,02
WV-46538	WV-42080	35,23	39,33	37,28	62,87	74,35	68,61
WV-46539	WV-42080	64,93	55,56	60,24	104,62	91,69	98,16
WV-46540	WV-42080	95,13	92,02	93,57	118,58	170,68	144,63
WV-46541	WV-42080	93,84	91,20	92,52	106,06	133,38	119,72
WV-46542	WV-42080	95,39	93,79	94,59	121,70	105,25	113,47
WV-46543	WV-42080	79,46	76,17	77,81	93,78	89,69	91,73
WV-46544	WV-42080	43,39	23,30	33,34	57,83	60,72	59,27
WV-46545	WV-42080	22,79	14,42	18,61	54,11	31,43	42,77
WV-46546	WV-42080	14,49	18,59	16,54	36,46	26,68	31,57
WV-46547	WV-42080	28,03	19,12	23,57	70,19	39,81	55,00
WV-46548	WV-42080	27,44	11,40	19,42	46,30	48,61	47,45
WV-46549	WV-42080	14,37	13,12	13,75	45,66	16,55	31,11
WV-46550	WV-42080	14,48	12,54	13,51	44,85	23,04	33,95
WV-46551	WV-42080	16,88	12,66	14,77	42,12	23,64	32,88

WV-46552	WV-42080	15,74	7,92	11,83	39,08	15,85	27,47
WV-46553	WV-42080	12,78	7,91	10,34	45,57	13,76	29,66
WV-46554	WV-42080	11,70	15,19	13,44	36,89	23,50	30,20
WV-46555	WV-42080	26,08	16,81	21,44	69,89	42,07	55,98
WV-46556	WV-42080	16,49	15,02	15,75	55,15	42,40	48,77
WV-46557	WV-42080	17,85	13,55	15,70	52,45	18,07	35,26
WV-46558	WV-42080	17,26	13,33	15,30	69,51	31,96	50,73
WV-46559	WV-42080	61,98	55,69	58,84	112,54	90,83	101,69
WV-46560	WV-42080	62,38	47,04	54,71	126,87	87,33	107,10
WV-46561	WV-42080	17,76	8,67	13,21	56,51	19,25	37,88
WV-44453	WV-42080	13,95	8,78	11,37	42,12	24,66	33,39
WV-46562	WV-42080	29,49	26,17	27,83	69,04	48,26	58,65
WV-46563	WV-42080	16,61	16,55	16,58	63,78	71,29	67,54
WV-46564	WV-42080	35,65	22,52	29,08	68,01	27,69	47,85
WV-46565	WV-42080	13,53	12,49	13,01	55,93	22,05	38,99
WV-46566	WV-42080	18,91	11,98	15,44	46,07	35,93	41,00
WV-46567	WV-42080	22,86	8,87	15,86	53,19	41,64	47,42
WV-44452	WV-42080	12,97	5,56	9,26	48,84	9,81	29,32
WV-46568	WV-42080	11,60	6,52	9,06	35,53	12,31	23,92
WV-46569	WV-42080	23,84	17,79	20,81	71,40	30,94	51,17
WV-46570	WV-42080	14,13	17,70	15,91	50,77	41,49	46,13
WV-46571	WV-42080	13,19	8,16	10,68	48,83	13,99	31,41

WV-46572	WV-42080	14,22	7,18	10,70	48,28	19,49	33,89
WV-46573	WV-42080	15,06	8,59	11,83	55,14	21,69	38,41
WV-46574	WV-42080	14,57	6,56	10,57	44,47	26,89	35,68
WV-46575	WV-42080	14,50	7,13	10,81	54,14	15,12	34,63
WV-44451	WV-42080	20,85	9,59	15,22	46,71	22,19	34,45
WV-46576	WV-42080	26,56	37,62	32,09	97,87	52,55	75,21
WV-46577	WV-42080	26,61	21,64	24,13	87,10	42,24	64,67
WV-44457	WV-42080	67,11	45,99	56,55	151,49	94,13	122,81

В **таблице 3** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 150 и 50 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 3.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	150 пМ			50 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-41826	WV-41828	22,26	25,20	23,73	50,05	40,25	45,15
WV-43774	WV-42080	5,40	8,77	7,09	28,95	20,75	24,85
WV-46497	WV-42080	82,75	71,33	77,04	101,23	83,15	92,19
WV-47066	WV-42080	61,90	52,60	57,25	76,31	77,74	77,02
WV-47067	WV-42080	64,13	54,81	59,47	83,94	74,87	79,41
WV-47068	WV-42080	29,04	20,26	24,65	80,52	44,66	62,59

WV-46501	WV-42080	90,57	69,35	79,96	89,23	72,59	80,91
WV-47069	WV-42080	57,23	39,87	48,55	76,67	59,90	68,29
WV-47070	WV-42080	21,54	15,76	18,65	34,41	N.D.	34,41
WV-47071	WV-42080	33,79	27,25	30,52	68,72	54,95	61,83
WV-47072	WV-42080	26,73	32,92	29,83	63,44	40,66	52,05
WV-47073	WV-42080	19,90	18,28	19,09	39,91	34,15	37,03
WV-47074	WV-42080	17,11	19,92	18,52	49,54	31,21	40,37
WV-47075	WV-42080	15,26	11,52	13,39	38,03	22,35	30,19
WV-46509	WV-42080	23,96	16,04	20,00	45,03	33,79	39,41
WV-47076	WV-42080	22,90	23,33	23,12	63,05	28,49	45,77
WV-46511	WV-42080	19,24	21,07	20,16	37,49	20,88	29,19
WV-47077	WV-42080	14,19	15,45	14,82	36,43	31,56	34,00
WV-47078	WV-42080	20,07	24,66	22,37	47,21	30,72	38,97
WV-47079	WV-42080	23,13	19,25	21,19	52,12	37,53	44,82
WV-47080	WV-42080	21,41	17,12	19,27	54,29	34,77	44,53
WV-47081	WV-42080	19,41	18,71	19,06	52,97	40,80	46,89
WV-47082	WV-42080	34,04	29,30	31,67	63,50	43,76	53,63
WV-47083	WV-42080	49,16	47,42	48,29	78,12	56,28	67,20
WV-46519	WV-42080	93,76	80,79	87,28	108,86	78,58	93,72
WV-47084	WV-42080	16,97	22,13	19,55	48,81	35,71	42,26
WV-47085	WV-42080	14,10	16,96	15,53	42,89	30,21	36,55
WV-47086	WV-42080	29,48	31,48	30,48	61,70	48,42	55,06

WV-46522	WV-42080	18,68	18,87	18,78	54,34	33,49	43,92
WV-47087	WV-42080	21,46	18,18	19,82	50,61	45,85	48,23
WV-47088	WV-42080	19,28	19,51	19,40	46,39	35,14	40,77
WV-47089	WV-42080	27,71	25,91	26,81	85,83	34,45	60,14
WV-47090	WV-42080	27,43	25,47	26,45	45,60	39,69	42,64
WV-47091	WV-42080	12,03	13,96	13,00	51,70	25,64	38,67
WV-47092	WV-42080	16,05	17,88	16,97	43,39	28,52	35,95
WV-47093	WV-42080	11,11	11,04	11,08	36,13	24,41	30,27
WV-46529	WV-42080	17,89	19,82	18,86	52,84	31,98	42,41
WV-47094	WV-42080	19,05	15,46	17,26	47,91	33,06	40,49
WV-46531	WV-42080	22,99	20,19	21,59	57,04	33,11	45,08
WV-47095	WV-42080	19,42	25,75	22,59	56,40	28,46	42,43
WV-47096	WV-42080	17,40	18,22	17,81	37,51	28,34	32,92
WV-47097	WV-42080	14,31	22,07	18,19	57,38	41,19	49,28
WV-47098	WV-42080	25,74	23,62	24,68	52,42	34,50	43,46
WV-47099	WV-42080	22,21	19,87	21,04	56,91	37,80	47,35
WV-47100	WV-42080	33,51	34,34	33,93	72,35	58,25	65,30
WV-47101	WV-42080	54,85	27,04	40,95	80,34	57,94	69,14
WV-43775	WV-42080	12,21	12,32	12,27	39,89	29,10	34,49
WV-46538	WV-42080	40,70	49,76	45,23	71,66	51,51	61,59
WV-47102	WV-42080	93,26	82,90	88,08	95,81	95,48	95,64
WV-47103	WV-42080	87,39	79,98	83,69	90,49	92,11	91,30

WV-47104	WV-42080	86,54	69,40	77,97	96,14	84,35	90,25
WV-46542	WV-42080	99,51	83,39	91,45	93,61	95,98	94,79
WV-47105	WV-42080	69,91	68,68	69,30	97,53	77,42	87,47
WV-47106	WV-42080	19,97	18,89	19,43	50,71	38,87	44,79
WV-47107	WV-42080	26,94	32,53	29,74	67,24	50,66	58,95
WV-47108	WV-42080	15,83	17,73	16,78	42,11	36,17	39,14
WV-47109	WV-42080	11,89	12,96	12,43	32,78	22,55	27,67
WV-47110	WV-42080	8,36	10,70	9,53	78,11	71,01	74,56
WV-47111	WV-42080	10,11	10,45	10,28	35,70	14,96	25,33
WV-46550	WV-42080	15,47	12,67	14,07	37,62	24,57	31,09
WV-47112	WV-42080	16,35	16,10	16,23	50,64	30,38	40,51
WV-46552	WV-42080	12,59	9,50	11,05	36,78	25,47	31,12
WV-47113	WV-42080	14,69	15,45	15,07	64,55	34,52	49,53
WV-47114	WV-42080	13,05	16,32	14,69	31,72	20,40	26,06
WV-47115	WV-42080	25,49	26,79	26,14	55,31	41,16	48,23
WV-47116	WV-42080	9,68	13,06	11,37	36,73	27,49	32,11
WV-47117	WV-42080	13,32	15,33	14,33	45,56	33,32	39,44
WV-47118	WV-42080	19,21	22,14	20,68	45,08	35,43	40,25
WV-47119	WV-42080	68,00	81,08	74,54	93,77	83,88	88,82
WV-46560	WV-42080	79,31	76,27	77,79	89,09	95,20	92,15
WV-47120	WV-42080	20,89	26,38	23,64	54,39	47,66	51,02
WV-47121	WV-42080	12,17	10,46	11,32	30,81	18,32	24,56

WV-47122	WV-42080	116,01	110,76	113,39	105,59	108,27	106,93
WV-46563	WV-42080	13,46	17,20	15,33	42,72	35,58	39,15
WV-47123	WV-42080	19,20	21,22	20,21	49,44	44,02	46,73
WV-47124	WV-42080	15,10	14,13	14,62	32,49	20,34	26,42
WV-47125	WV-42080	23,48	25,06	24,27	58,50	39,32	48,91
WV-47126	WV-42080	22,49	18,90	20,70	46,16	35,10	40,63
WV-47127	WV-42080	13,93	19,99	16,96	39,16	31,64	35,40
WV-47128	WV-42080	11,50	14,54	13,02	34,92	21,62	28,27
WV-47129	WV-42080	12,36	14,64	13,50	28,85	21,46	25,16
WV-46570	WV-42080	9,19	9,43	9,31	31,00	27,58	29,29
WV-47130	WV-42080	15,73	13,71	14,72	34,69	28,57	31,63
WV-46572	WV-42080	16,38	11,85	14,12	30,96	22,17	26,56
WV-47131	WV-42080	15,70	12,95	14,33	38,71	20,54	29,62
WV-47132	WV-42080	14,71	16,70	15,71	42,28	29,11	35,69
WV-47133	WV-42080	20,94	24,50	22,72	44,57	44,20	44,38
WV-47134	WV-42080	22,32	28,48	25,40	54,28	29,36	41,82
WV-47135	WV-42080	22,41	22,59	22,50	39,15	22,20	30,68
WV-47136	WV-42080	16,83	22,35	19,59	N.D.	38,36	38,36
WV-47137	WV-42080	74,92	66,57	70,75	93,33	111,71	102,52

В **таблице 4** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 150, 100 и 50 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 4.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	150 пМ			100 пМ			50 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-41826	WV-41828	21,88	30,01	25,95	53,27	41,12	47,20	70,81	60,92	65,86
WV-46568	WV-42080	20,39	19,90	20,14	22,35	21,08	21,71	47,28	46,64	46,96
WV-47127	WV-42080	16,43	20,28	18,35	22,60	21,81	22,21	43,50	35,69	39,59
WV-47129	WV-42080	19,79	20,79	20,29	23,97	20,50	22,24	53,41	51,87	52,64
WV-46552	WV-42080	20,02	22,36	21,19	23,13	24,48	23,81	44,42	39,06	41,74
WV-44452	WV-42080	19,40	21,47	20,43	25,11	23,30	24,21	53,57	44,48	49,03
WV-47111	WV-42080	17,91	22,58	20,24	25,73	23,45	24,59	32,72	31,88	32,30
WV-46571	WV-42080	19,99	19,29	19,64	25,16	24,43	24,79	37,65	47,16	42,41
WV-47075	WV-42080	17,86	20,81	19,33	27,70	22,00	24,85	48,49	39,84	44,17
WV-47085	WV-42080	17,86	20,81	19,34	27,70	22,00	24,85	48,49	39,84	44,17
WV-46572	WV-42080	19,23	25,25	22,24	23,96	27,50	25,73	45,55	45,34	45,45
WV-44453	WV-42080	21,66	16,94	19,30	27,75	23,78	25,77	45,62	31,56	38,59
WV-46530	WV-42080	18,07	24,48	21,28	27,38	24,49	25,94	41,15	49,46	45,30
WV-47121	WV-42080	17,04	24,84	20,94	27,94	27,38	27,66	35,71	38,12	36,91

WV-46570	WV-42080	21,54	18,79	20,17	27,27	28,43	27,85	48,02	45,00	46,51
WV-46527	WV-42080	21,11	18,56	19,83	30,47	25,63	28,05	56,34	53,41	54,88
WV-47109	WV-42080	23,46	23,84	23,65	29,19	26,99	28,09	56,07	39,41	47,74
WV-43775	WV-42080	16,52	16,52	16,52	34,22	22,27	28,25	49,75	43,74	46,74
WV-46508	WV-42080	22,35	19,27	20,81	29,79	27,29	28,54	50,61	42,03	46,32
WV-43774	WV-42080	22,99	18,39	20,69	28,58	30,72	29,65	51,50	52,12	51,81
WV-47091	WV-42080	22,23	27,71	24,97	33,50	26,02	29,76	58,72	52,11	55,41
WV-45148	WV-42080	23,50	20,69	22,09	29,72	29,85	29,79	51,38	43,45	47,42
WV-45147	WV-42080	23,74	25,98	24,86	33,42	31,00	32,21	55,79	47,67	51,73
WV-47124	WV-42080	22,05	18,36	20,21	33,41	31,08	32,24	45,84	42,36	44,10
WV-46528	WV-42080	24,28	26,32	25,30	33,94	31,80	32,87	49,12	49,75	49,43
WV-46532	WV-42080	28,26	25,00	26,63	38,52	29,97	34,25	33,83	44,52	39,17
WV-46506	WV-42080	30,48	29,90	30,19	36,56	32,55	34,55	59,07	46,60	52,84
WV-46553	WV-42080	22,33	19,01	20,67	31,14	38,00	34,57	42,26	37,59	39,92
WV-46507	WV-42080	26,71	27,45	27,08	41,33	33,31	37,32	35,55	36,45	36,00
WV-47106	WV-42080	26,28	35,11	30,70	44,16	32,36	38,26	54,65	54,65	54,65
WV-47136	WV-42080	41,01	49,45	45,23	46,75	39,12	42,94	63,25	56,80	60,02
WV-46509	WV-42080	31,87	24,71	28,29	41,03	46,22	43,62	52,57	45,08	48,83
WV-47070	WV-42080	33,39	37,71	35,55	48,50	39,85	44,17	37,68	51,72	44,70
WV-47118	WV-42080	31,46	35,84	33,65	51,08	41,23	46,15	71,14	61,40	66,27
WV-47077	WV-42080	32,59	27,67	30,13	46,73	46,89	46,81	55,18	41,64	48,41
WV-47093	WV-42080	64,91	56,31	60,61	73,06	82,94	78,00	100,76	92,06	96,41

В таблице 5 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 300, 100 и 30 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 5.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	300 пМ			100 пМ			30 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-41826	WV-41828	16,69	10,42	13,55	52,05	48,70	50,37	77,34	68,47	72,91
WV-43775	WV-42080	8,07	8,24	8,16	36,74	31,07	33,91	57,26	66,02	61,64
WV-46380	WV-42080	19,93	17,32	18,63	61,23	54,04	57,63	93,34	76,71	85,03
WV-46381	WV-42080	11,29	15,54	13,41	35,82	57,47	46,64	59,95	81,96	70,95
WV-46382	WV-42080	13,65	9,19	11,42	38,13	45,39	41,76	89,90	75,80	82,85
WV-46383	WV-42080	9,69	10,15	9,92	39,37	33,25	36,31	77,05	72,62	74,83
WV-46384	WV-42080	5,29	6,91	6,10	21,37	24,41	22,89	59,22	52,96	56,09
WV-46385	WV-42080	5,11	4,88	4,99	20,35	19,95	20,15	N.D.	52,31	52,31
WV-46386	WV-42080	5,16	7,62	6,39	26,19	27,11	26,65	53,89	55,14	54,52
WV-42079	WV-42080	8,40	5,56	6,98	33,20	25,63	29,42	57,44	54,49	55,96
WV-44434	WV-42080	32,34	24,28	28,31	77,85	72,35	75,10	104,07	82,88	93,48
WV-44435	WV-42080	16,60	16,21	16,41	43,31	51,61	47,46	N.D.	80,54	80,54

WV-44436	WV-42080	24,72	16,52	20,62	56,71	63,51	60,11	95,72	86,30	91,01
WV-44437	WV-42080	17,66	13,07	15,36	62,38	56,06	59,22	92,79	78,34	85,57
WV-44438	WV-42080	9,41	5,35	7,38	33,11	26,93	30,02	63,34	57,09	60,21
WV-44439	WV-42080	8,63	7,69	8,16	31,16	27,20	29,18	60,63	57,41	59,02
WV-44440	WV-42080	7,33	10,28	8,81	34,09	30,58	32,34	61,32	62,03	61,68
WV-44441	WV-42080	10,02	8,51	9,26	40,40	38,35	39,38	66,77	58,26	62,52
WV-43774	WV-42080	13,20	7,65	10,42	40,48	32,53	36,50	72,94	60,66	66,80
WV-46387	WV-42080	13,06	12,26	12,66	42,91	47,93	45,42	92,40	72,40	82,40
WV-46388	WV-42080	14,83	10,10	12,47	45,47	49,69	47,58	94,82	77,07	85,94
WV-46389	WV-42080	8,95	10,29	9,62	38,54	40,12	39,33	86,28	73,34	79,81
WV-46390	WV-42080	13,48	11,21	12,34	41,09	40,30	40,70	79,66	64,59	72,12
WV-46391	WV-42080	7,22	5,94	6,58	27,09	23,26	25,17	53,51	49,24	51,37
WV-46392	WV-42080	6,55	8,13	7,34	28,69	26,54	27,62	60,65	56,16	58,41
WV-46393	WV-42080	8,69	6,61	7,65	28,89	27,06	27,97	61,61	58,77	60,19
WV-42078	WV-42080	10,30	8,40	9,35	36,94	36,31	36,63	61,61	65,03	63,32
WV-46394	WV-42080	12,97	14,39	13,68	44,61	54,23	49,42	90,73	69,75	80,24
WV-46395	WV-42080	14,35	11,49	12,92	49,51	55,10	52,30	92,53	73,54	83,04
WV-46396	WV-42080	12,42	11,56	11,99	48,06	50,63	49,34	85,46	81,32	83,39
WV-46397	WV-42080	14,32	12,73	13,53	44,05	53,42	48,73	82,39	72,37	77,38
WV-46398	WV-42080	7,11	7,23	7,17	25,40	24,87	25,13	54,44	51,35	52,89
WV-46399	WV-42080	8,00	6,93	7,46	28,70	33,00	30,85	56,36	49,59	52,97
WV-46400	WV-42080	9,02	7,47	8,24	42,97	32,72	37,85	64,84	59,30	62,07

В таблице 6 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 2000 и 200 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 6.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	2000 пМ			200 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-41826	WV-41828	1,51	1,21	1,36	3,20	1,48	2,34
WV-43775	WV-42080	0,96	0,93	0,94	4,65	4,40	4,53
WV-43774	WV-42080	1,41	1,27	1,34	6,31	3,67	4,99
WV-42079	WV-42080	2,12	1,53	1,82	13,21	5,34	9,28
WV-42078	WV-42080	2,64	2,32	2,48	8,96	5,76	7,36
WV-46991	WV-42080	1,53	1,89	1,71	4,66	2,63	3,65
WV-46992	WV-42080	1,19	1,41	1,30	3,62	4,81	4,22
WV-43988	WV-42080	1,54	1,25	1,40	5,50	6,69	6,09
WV-46993	WV-42080	3,17	2,46	2,82	22,60	15,90	19,25
WV-46997	WV-42080	1,19	1,29	1,24	10,46	8,38	9,42
WV-46998	WV-42080	19,09	21,94	20,52	76,62	46,04	61,33
WV-46999	WV-42080	2,41	2,03	2,22	13,74	8,47	11,11
WV-47000	WV-42080	1,84	1,57	1,71	7,29	5,86	6,57
WV-47001	WV-42080	1,75	2,39	2,07	8,62	6,54	7,58
WV-47002	WV-42080	4,26	3,29	3,77	17,88	16,66	17,27

WV-47006	WV-42080	1,40	1,19	1,29	6,90	6,44	6,67
WV-47007	WV-42080	1,22	1,05	1,14	6,54	3,75	5,14
WV-47008	WV-42080	2,05	2,39	2,22	5,00	3,17	4,09
WV-41825	WV-42080	1,81	2,23	2,02	12,86	6,35	9,60
WV-43771	WV-42080	1,59	1,04	1,31	5,28	2,50	3,89
WV-43773	WV-42080	2,13	1,35	1,74	8,97	6,50	7,74
WV-43770	WV-42080	1,75	2,26	2,00	8,50	6,29	7,40
WV-43772	WV-42080	1,66	1,89	1,78	7,83	6,97	7,40
WV-47009	WV-42080	1,37	1,20	1,28	8,13	5,31	6,72
WV-47010	WV-42080	1,13	0,91	1,02	8,18	3,94	6,06
WV-43996	WV-42080	1,43	1,32	1,38	5,77	4,18	4,97
WV-47011	WV-42080	2,72	3,18	2,95	24,66	16,16	20,41
WV-47015	WV-42080	1,53	1,14	1,33	7,02	5,05	6,03
WV-47016	WV-42080	14,69	16,02	15,35	53,13	43,42	48,28
WV-47017	WV-42080	1,55	2,18	1,87	9,02	7,61	8,32
WV-47018	WV-42080	1,12	0,72	0,92	5,28	4,90	5,09
WV-47019	WV-42080	1,48	1,10	1,29	6,69	5,34	6,01
WV-47020	WV-42080	3,26	2,84	3,05	23,45	13,64	18,55
WV-47024	WV-42080	1,26	1,19	1,23	8,28	4,84	6,56
WV-47025	WV-42080	1,35	1,46	1,40	14,38	10,63	12,51
WV-47026	WV-42080	2,03	1,65	1,84	6,23	6,21	6,22

В **таблице 7** показана IC50 нокдауна мРНК TTR мыши в первичном гепатоците мыши в %

Таблица 7.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	IC50 (пМ)	95% CI
WV-41826	WV-41828	82,55	От 54,44 до 127,4
WV-43774	WV-42080	47,97	От 36,22 до 63,82
WV-42078	WV-42080	110,6	От 80,64 до 153,8
WV-45148	WV-42080	39,22	От 26,69 до 58,11
WV-47085	WV-42080	32,47	От 24,07 до 43,86
WV-45147	WV-42080	52,43	От 34,70 до 80,0
WV-47091	WV-42080	30,84	От 22,07 до 43,32
WV-47144	WV-42080	22,45	От 16,98 до 29,73
WV-41826	WV-41828	50,57	От 27,54 до 93,72
WV-43775	WV-42080	26,49	От 19,04 до 36,93
WV-42079	WV-42080	35,42	От 25,06 до 50,22
WV-44453	WV-42080	18,57	От 12,61 до 27,39
WV-47121	WV-42080	16,67	От 12,57 до 22,12
WV-44452	WV-42080	22,77	От 15,09 до 34,42
WV-47127	WV-42080	13,77	От 8,85 до 21,34
WV-47145	WV-42080	20,15	От 13,41 до 30,47

ПРИМЕР 3. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными *in vivo*

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC в Alpha Preclinical (Норт Графтон, Массачусетс, США). Для оценки долговременной устойчивости представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 1,5 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. В день 1 (введение предварительной дозы), а затем каждую неделю собирали цельную кровь путем отрезания кончика хвоста в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Crystal Chem) и следовали инструкциям производителя.

В таблице 8 показан % оставшегося белка TTR мышцы относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 8.

PBS						
День	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	Среднее
1	90	111	100	103	95	100
8	91	112	102	113	82	100
15	102	99	112	100	86	100
22	101	101	98	103	96	100
29	108	101	110	94	87	100
36	94	102	106	96	103	100
43	99	85	125	99	91	100
WV-41826/WV-41828, 1,5 мг/кг						
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	111	86	77	117	144	107
8	1	2	4	4	4	3
15	2	4	4	8	6	5
22	6	9	11	5	8	8
29	19	20	22	19	13	18
36	24	30	41	28	26	30
43	55	45	47	42	45	47
WV-43775/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее
1	113	104	122	86	90	103
8	4	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	4
15	8	1	2	1	2	3
22	12	5	8	6	6	8
29	15	13	19	17	15	16
36	38	23	38	31	31	32
43	61	44	64	65	55	58
WV-42079/WV-42080, 1,5 мг/кг						

День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	83	123	127	118	74	105
8	N.D.	5	1	3	2	3
15	2	7	2	6	4	4
22	11	9	8	8	8	9
29	24	21	14	16	20	19
36	44	37	32	25	40	35
43	59	51	64	47	54	55
WV-43771/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	107	67	104	73	93	89
8	3	N.D.	2	N.D.	N.D.	3
15	6	3	4	2	1	3
22	1	10	7	5	6	6
29	32	21	19	18	16	21
36	49	55	23	84	32	49
43	74	64	46	61	55	60
WV-43773/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	126	108	107	98	94	107
8	5	5	6	4	6	5
15	7	5	7	8	4	6
22	15	13	13	10	9	12
29	34	33	27	19	22	27
36	61	59	46	31	38	47
43	82	82	68	60	64	71
WV-43988/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	104	101	105	126	120	111
8	N.D.	1	3	1	5	2

15	1	1	2	1	1	1
22	4	4	5	4	7	5
29	8	10	10	14	11	11
36	18	17	21	23	18	19
43	34	39	36	39	34	36
WV-43989/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	64	118	89	108	101	96
8	4	4	1	12	3	5
15	5	4	1	11	6	6
22	10	8	7	24	15	13
29	25	19	19	44	32	28
36	45	38	42	69	75	54
43	22	69	61	56	88	59
WV-43994/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 41	Животное 42	Животное 43	Животное 44	Животное 45	Среднее
1	141	124	104	124	113	121
8	3	3	2	2	4	3
15	3	2	2	3	7	3
22	8	11	8	8	8	8
29	21	17	20	20	19	19
36	29	36	39	34	34	35
43	51	68	63	61	55	59
WV-43996/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 46	Животное 47	Животное 48	Животное 49	Животное 50	Среднее
1	106	71	89	110	118	99
8	2	4	2	1	1	2
15	2	2	2	2	1	2
22	3	4	6	5	7	5
29	8	10	11	15	13	11
36	18	20	23	27	29	23

	43	31	36	37	38	40	36
	WV-43256/WV-42080, 1,5 мг/кг						
День	Животное 51	Животное 52	Животное 53	Животное 54			Среднее
1	92	97	104	101			99
8	4	6	3	9			6
15	9	9	6	8			8
22	21	22	14	21			19
29	51	44	43	37			44
36	83	76	62	74			74
43	82	76	60	77			74

ПРИМЕР 4. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными

in vivo в течение более длительного времени

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC в Biomere (Вустер, Массачусетс, США). Самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 1 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения в межлопаточное пространство. Образцы крови собирали путем отрезания кончика хвоста в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Novus Biologicals) и следовали инструкциям производителя.

В **таблице 9** показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 9.

	PBS					
День	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	Среднее
1	100	96	97	110	98	100
8	97	106	100	103	93	100
15	92	101	97	118	92	100
22	99	101	100	111	90	100
29	98	101	101	98	102	100
36	100	95	84	121	102	100
43	79	109	93	124	95	100

	16	17	18	19	20	
1	104	88	92	96	101	96
8	11	6	8	8	8	8
15	6	3	3	3	4	4
22	9	5	6	7	7	7
29	16	11	15	18	14	15
36	26	23	19	21	23	22
43	34	34	41	47	37	39
50	66	63	71	68	73	68
57	71	65	71	79	84	74
64	83	98	94	75	73	84
71	81	93	76	83	86	84
	WV-47085/WV-42080, 1 мг/кг					
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	80	119	83	112	106	100
8	19	7	17	11	9	13
15	17	4	11	6	5	9
22	29	8	17	11	9	15
29	40	16	30	25	23	27
36	50	27	36	40	36	38
43	53	36	44	56	54	49
50	83	63	52	94	86	76
57	88	75	67	81	74	77
64	85	46	36	81	106	71
71	69	62	44	103	108	77
	WV-47091/WV-42080, 1 мг/кг					
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	83	86	91	101	99	92
8	13	7	6	8	7	8
15	6	3	2	3	3	3
22	9	5	3	5	5	5
29	15	11	6	7	8	9

36	26	20	12	12	15	17
43	34	31	20	16	23	25
50	44	60	43	35	57	48
57	47	49	44	37	50	45
64	54	62	69	59	77	64
71	70	58	66	72	66	66
WV-47144/WV-42080, 1 мг/кг						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	113	112	106	120	105	111
8	11	11	10	11	11	11
15	5	5	4	4	5	5
22	7	7	6	6	7	7
29	11	12	11	20	11	13
36	16	15	17	15	16	16
43	24	21	21	21	23	22
50	46	45	46	54	49	48
57	58	48	61	55	44	53
64	65	54	68	62	59	61
71	61	74	91	93	55	75
WV-47121/WV-42080, 1 мг/кг						
День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	106	76	104	130	94	102
8	6	6	10	9	9	8
15	3	3	7	5	5	4
22	8	10	10	9	9	9
29	17	20	23	18	17	19
36	36	39	35	32	41	36
43	42	53	46	51	49	48
50	83	101	89	64	78	83
57	69	65	87	80	96	79
64	59	67	96	86	80	78
71	76	87	118	120	136	107

WV-47127/WV-42080, 1 мг/кг						
День	Животное 41	Животное 42	Животное 43	Животное 44	Животное 45	Среднее
1	75	78	91	97	96	87
8	7	7	7	12	7	8
15	2	3	2	5	3	3
22	4	6	5	8	5	6
29	7	10	12	14	9	10
36	13	27	19	20	15	19
43	22	39	50	32	23	33
50	52	66	54	51	54	56
57	67	66	79	72	66	70
64	129	90	79	73	73	89
71	93	81	95	106	81	91
WV-47145/WV-42080, 1 мг/кг						
День	Животное 46	Животное 47	Животное 48	Животное 49	Животное 50	Среднее
1	99	101	98	93	112	101
8	9	7	9	8	10	9
15	4	2	5	3	5	4
22	7	5	7	5	4	5
29	12	6	12	7	9	9
36	17	12	13	11	13	13
43	24	16	23	17	22	20
50	52	35	42	40	34	41
57	44	40	49	53	40	45
64	59	49	56	60	65	58
71	95	61	72	73	66	73

ПРИМЕР 5. Представленные олигонуклеотиды и композиции могут эффективно обеспечивать нокдаун транскрипта мышечного тропомиозина (mTTR) *in vitro* с повышенной действенностью.

Определение активности siRNA к TTR мышца *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC в Biomere (Вустер, Массачусетс, США). Самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 0,5 мг/кг при

требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения в межлопаточное пространство. Образцы крови собирали путем отрезания кончика хвоста в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C . Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Novus Biologicals) и следовали инструкциям производителя.

В таблице 10 показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 10.

PBS						
День	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	Среднее
1	85	96	93	104	123	100
8	92	108	98	99	102	100
15	110	104	90	99	97	100
22	104	118	84	82	113	100
29	108	107	91	95	99	100
36	106	98	99	112	85	100
43	124	119	85	86	86	100
WV-41826/WV-41828, 0,5 мг/кг						
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	83	93	121	102	80	96
8	48	17	25	20	20	26
15	51	19	27	19	23	28
22	60	24	35	31	30	36
29	83	40	47	43	51	53
36	74	54	61	71	72	67
43	76	82	68	78	88	78
WV-43774/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее
1	76	92	103	83	108	92
8	11	16	16	33	50	25

15	41	18	18	13	54	29
22	17	26	25	48	60	35
29	28	49	38	81	81	55
36	58	71	56	100	97	76
43	98	98	83	96	91	93
WV-43775/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	82	86	86	87	94	87
8	5	117	10	7	92	46
15	8	76	11	8	86	38
22	14	86	15	16	69	40
29	42	100	47	34	97	64
36	57	97	62	57	89	72
43	80	112	80	77	94	89
WV-48528/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	102	109	97	99	99	101
8	8	8	9	5	6	7
15	9	7	9	6	5	7
22	17	12	12	9	14	13
29	26	31	31	20	28	27
36	43	49	47	34	51	45
43	79	92	89	62	78	80
WV-48530/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	76	119	102	69	97	93
8	78	40	11	12	11	30
15	85	42	13	13	10	33
22	80	50	20	26	15	38
29	119	68	36	35	29	57
36	110	73	55	48	41	65

43	106	96	83	72	80	87
WV-48531/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	130	116	100	94	115	111
8	71	15	49	10	15	32
15	65	15	33	10	12	27
22	18	22	63	20	78	40
29	111	49	55	29	35	56
36	108	62	98	57	48	74
43	115	79	110	83	83	94
WV-47145/WV-42080, 0,5 мг/кг						
День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	83	77	102	81	104	89
8	64	3	6	3	11	18
15	77	6	6	4	9	20
22	91	15	12	10	15	28
29	91	23	22	22	30	38
36	36	86	31	44	44	48
43	108	71	66	76	68	78

ПРИМЕР 6. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными *in vivo*

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки действенности и воздействия в печени представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 0,5 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 8 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. После перфузии сердца с помощью PBS собирали образцы печени и подвергали мгновенной заморозке в сухом льду. Обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Novus Biologicals) и следовали инструкциям производителя. После лизиса ткани с помощью TRIzol и бромхлорпропана общую РНК

печени экстрагировали с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. Накопление олигонуклеотида в печени определяли с помощью гибридного ELISA.

Анализ с помощью иммунопреципитации Ago2. Ткани (в которые вводили дозу 1 мг/кг) лизировали в буфере для лизиса, 50 mM Tris-HCl с pH 7,5, 200 mM NaCl, 0,5% Triton X-100, 2 mM EDTA, 1 мг/мл гепарина), с ингибитором протеаз (Sigma-Aldrich). Концентрацию в лизате измеряли с помощью набора для количественного определения белка с помощью BCA (Pierce BCA protein assay kit или Bradford protein assay kit). Антитело к Ago2 приобретали у Wako Chemicals. Контрольные IgG мыши получали от eBioscience. Для осаждения антител применяли Dynabeads (Invitrogen). Уровень ассоциированной с Ago2 siRNA и эндогенной miR122 измеряли с помощью Stem-Loop RT с последующим ПЦР-анализом TaqMan с применением miRNA Taqman и набора для анализа siRNA (Thermo fisher) на основе способов изготовителя.

В таблице 11 показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 11.

PBS		WV-41826/WV-41828		WV-43774/WV-42080		WV-43775/WV-42080	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR
1	102	6	11	11	14	16	3
2	107	7	10	12	9	17	4
3	105	8	17	13	6	18	2
4	92	9	11	14	6	19	6
5	94	10	15	15	9	20	8
Среднее	100	Среднее	13	Среднее	9	Среднее	4
WV-47091/WV-		WV-47144/WV-		WV-47127/WV-		WV-47145/WV-	

42080		42080		42080		42080	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR
21	8	26	8	31	9	36	6
22	9	27	7	32	7	37	4
23	9	28	6	33	9	38	11
24	6	29	7	34	6	39	6
25	9	30	5	35	13	40	5
Среднее	8	Среднее	6	Среднее	9	Среднее	6
WV-48528/WV-42080		WV-48530/WV-42080		WV-48531/WV-42080			
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR		
41	6	46	11	51	11		
42	10	47	15	52	11		
43	6	48	23	53	12		
44	7	49	11	54	10		
45	9	50	19	55	4		
Среднее	8	Среднее	16	Среднее	10		

В таблице 12 показано накопление антисмысловой нити в ткани печени. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 12.

PBS		WV-41826/WV-41828		WV-43774/WV-42080		WV-43775/WV-42080	
№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)
1	0,000	6	0,062	11	0,086	16	0,040

2	0,000	7	0,089	12	0,072	17	0,039
3	0,000	8	0,092	13	0,073	18	0,062
4	0,000	9	0,119	14	0,121	19	0,074
5	0,000	10	0,101	15	0,134	20	0,082
Средне е	0,000	Средне е	0,093	Средне е	0,097	Средне е	0,059
WV-47091/WV-42080							
WV-47144/WV-42080							
WV-47127/WV-42080							
WV-47145/WV-42080							
№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)
21	0,771	26	1,144	31	0,955	36	0,792
22	0,599	27	1,058	32	1,599	37	0,871
23	0,881	28	0,938	33	1,128	38	0,846
24	0,624	29	0,679	34	1,345	39	0,856
25	0,579	30	0,607	35	1,264	40	0,814
Средне е	0,691	Средне е	0,885	Средне е	1,258	Средне е	0,836
WV-48528/WV-42080							
WV-48530/WV-42080							
WV-48531/WV-42080							
№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)		
41	0,555	46	0,334	51	0,054		
42	0,834	47	0,388	52	0,023		
43	0,976	48	0,041	53	0,082		
44	0,995	49	0,283	54	0,154		
45	1,235	50	0,545	55	0,071		
Средне е	0,919	Средне е	0,318	Средне е	0,077		

ПРИМЕР 7. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными *in vivo*

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки действенности и воздействия в печени представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 0,6, 2 или 6 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 8 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. После перфузии сердца с помощью PBS собирали образцы печени и подвергали мгновенной заморозке в сухом льду. После лизиса ткани с помощью TRIzol и бромхлорпропана общую РНК печени экстрагировали с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. Накопление олигонуклеотида в печени определяли с помощью гибридного ELISA.

Для оценки долговременной устойчивости представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 2 или 6 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. В день 1 (введение предварительной дозы), а затем каждую неделю собирали цельную кровь путем извлечения крови из подчелюстной зоны в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Crystal Chem) и следовали инструкциям производителя.

Анализ с помощью иммунопреципитации Ago2. Ткани (в которые вводили дозу 1 мг/кг) лизировали в буфере для лизиса, 50 mM Tris-HCl с pH 7,5, 200 mM NaCl, 0,5% Triton X-100, 2 mM EDTA, 1 мг/мл гепарина), с ингибитором протеаз (Sigma-Aldrich). Концентрацию в лизате измеряли с помощью набора для количественного определения белка с помощью BCA (Pierce BCA protein assay kit или Bradford protein assay kit). Антитело к Ago2 приобретали у Wako Chemicals. Контрольные IgG мыши получали от eBioscience. Для осаждения антител применяли Dynabeads (Invitrogen). Уровень ассоциированной с Ago2 siRNA и эндогенной miR122 измеряли с помощью Stem-Loop RT с последующим ПЦР-анализом TaqMan с применением miRNA Taqman и набора для анализа siRNA (Thermo fisher) на основе способов изготовителя.

В **таблице 13** показан % оставшейся мРНК TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 13.

		WV-20167/WV-36860					
PBS		0,6 мг/кг		2 мг/кг		6 мг/кг	
№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР
1	126,89	6	81,73	11	38,85	16	35,76
2	86,61	7	70,20	12	42,98	17	17,77
3	95,66	8	75,48	13	40,83	18	20,10
4	93,00	9	65,90	14	48,03	19	11,25
5	97,84	10	77,26	15	42,39	20	10,30
Среднее	100	Среднее	74,11	Среднее	42,62	Среднее	19,03
WV-20170/WV-36807						WV-38708/WV-36807	
0,6 мг/кг		2 мг/кг		6 мг/кг		0,6 мг/кг	
№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР
21	59,04	26	27,62	31	8,38	36	74,11
22	64,79	27	24,76	32	9,90	37	51,80
23	57,41	28	39,43	33	4,61	38	75,30
24	63,78	29	33,50	34	6,79	39	58,13
25	61,99	30	28,70	35	14,13	40	75,99
Среднее	61,40	Среднее	30,80	Среднее	8,76	Среднее	67,07
WV-38708/WV-36807							

2 мг/кг		6 мг/кг					
№ животного	% оставшейся мРНК мТТР	№ животного	% оставшейся мРНК мТТР				
41	14,89	46	3,01				
42	12,19	47	5,27				
43	19,18	48	3,76				
44	23,48	49	2,98				
45	17,54	50	3,94				
Среднее	17,46	Среднее	3,79				

В таблице 14 показано накопление антисмысловой нити в ткани печени. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 14.

		WV-20167/WV-36860					
PBS		0,6 мг/кг		2 мг/кг		6 мг/кг	
№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить, % (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)
1	0,000	6	0,024	11	0,031	16	0,055
2	0,000	7	0,048	12	0,084	17	0,121
3	0,000	8	0,032	13	0,069	18	0,113
4	0,000	9	0,025	14	0,049	19	0,101
5	0,000	10	0,026	15	0,042	20	0,131
Среднее	0,000	Среднее	0,031	Среднее	0,055	Среднее	0,104
WV-20170/WV-36807						WV-38708/WV-36807	
0,6 мг/кг		2 мг/кг		6 мг/кг		0,6 мг/кг	
№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г ткани)
21	0,040	26	0,066	31	0,057	36	0,017
22	0,024	27	0,032	32	0,062	37	0,015
23	0,006	28	0,015	33	0,110	38	0,011
24	0,000	29	0,019	34	0,072	39	0,004
25	0,000	30	0,022	35	0,103	40	0,010
Среднее	0,014	Среднее	0,031	Среднее	0,081	Среднее	0,012
WV-38708/WV-36807							
2 мг/кг		6 мг/кг					
№	Антисмысловая нить	№	Антисмысловая нить				

животн ого	ловая нить (мкг/г ткани)	животн ого	ловая нить (мкг/г ткани)				
41	0,063	46	0,298				
42	0,088	47	0,365				
43	0,065	48	0,196				
44	0,092	49	0,229				
45	0,050	50	0,322				
Средне е	0,072	Средне е	0,282				

В таблице 15 показана загрузка в Ago2 направляющей нити относительно miR-122. N = 2.

Таблица 15.

	Ct: mTTR/Ago2	Ct: miR- 122/Ago2	Ct: mTTR/IgG	Ct: miR- 122/IgG	Отношение mTTR/miR122
PBS-1	39,07	16,86	38,67	27,78	-0,02
PBS-2	38,86	16,95	39,06	28,16	0,01
WV-20167-1	36,57	16,94	38,63	28,58	0,34
WV-20167-2	36,40	16,90	38,87	28,55	0,40
WV-20170-1	34,56	16,63	38,67	27,49	1,35
WV-20170-2	33,91	16,91	38,93	27,80	2,64
WV-38708-1	31,10	16,48	36,70	28,02	13,94
WV-38708-2	31,15	16,37	35,22	27,33	11,90

В таблице 15а показан % оставшегося белка TTR мышцы относительно контроля с PBS. N =

5. N.D.: не определяли.

Таблица 15а.

День	PBS					Среднее
	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	
1	91	114	104	91	100	100
8	103	120	98	91	87	100
15	91	100	112	103	93	100

22	94	107	91	102	106	100
29	93	101	87	108	111	100
36	87	102	95	112	104	100
43	98	95	95	101	112	100
WV-20167/WV-36860, 2 мг/кг						
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	97	105	72	80	90	89
8	54	48	39	51	44	47
15	68	70	62	62	63	65
22	90	96	80	92	92	90
29	85	116	82	98	91	94
36	115	120	108	88	122	110
43	102	115	99	99	94	102
WV-20167/WV-36860, 6 мг/кг						
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее
1	92	102	109	119	92	103
8	18	18	19	18	16	18
15	33	38	39	30	34	35
22	57	78	72	55	66	66
29	72	80	85	71	81	78
36	90	119	104	96	100	102
43	94	98	115	105	106	104
WV-20170/WV-36807, 2 мг/кг						
День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	65	83	95	83	103	86
8	36	37	43	41	34	38
15	53	47	49	60	55	53
22	67	76	71	84	76	75
29	78	85	85	103	69	84
36	90	93	93	96	93	93
43	88	93	94	117	79	94

WV-20170/WV-36807, 6 мг/кг						
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	108	129	100	105	107	110
8	9	11	4	8	15	10
15	17	19	9	19	29	19
22	39	40	18	39	58	39
29	67	69	41	56	79	62
36	90	94	61	84	110	88
43	108	114	80	90	107	100
WV-38708/WV-36807, 2 мг/кг						
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	120	102	117	99	141	116
8	32	31	21	22	30	27
15	46	40	38	36	44	41
22	77	79	69	65	70	72
29	85	69	82	77	87	80
36	100	95	92	98	103	98
43	106	101	91	113	119	106
WV-38708/WV-36807, 6 мг/кг						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	102	103	107	105	117	107
8	7	4	4	5	7	6
15	13	9	7	11	12	10
22	27	20	19	27	30	25
29	48	38	40	52	63	48
36	77	66	66	72	83	73
43	82	89	77	115	94	91
WV-38706/WV-36807, 6 мг/кг						
День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	114	129	142	104	111	120

8	123	93	100	106	102	105
15	127	111	119	104	100	112
22	130	100	101	103	109	109
29	121	91	126	102	105	109
36	117	135	108	106	109	115
43	120	114	120	132	102	117

Сокращения

Реагент 1X: TEA-3HF: TEA: H₂O: DMSO = 5,0: 1,8: 15,5: 77,7 (об./об./об./об.)

ADIN: гексафторфосфат 2-азидо-1,3-диметилимидазолия

CMIMT: трифлат *N*-цианометилимидазолия

CPG: стекло с контролируемым размером пор

DCM: дихлорметан, CH₂Cl₂

DIPEA: диизопропилэтиламин

DMSO: диметилсульфоксид

DMTr: 4,4'-диметокситритил

GalNAc: *N*-ацетилгалактозамин

HF: фторид водорода

HATU: гексафторфосфат 3-оксида 1-[бис(диметиламино)метиле]-1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]пиридиния

IBN: изобутиронитрил

MeCN: ацетонитрил

MeIm: *N*-метилимидазол

TCA: трихлоруксусная кислота

TEA: триэтиламин

XN: гидрид ксантана

Общая процедура синтеза хиральных олигонуклеотидов (масштаб 25 мкмоль)

Автоматический твердофазный синтез хиральных олигонуклеотидов проводили в соответствии с циклами, показанными в таблице 16 (цикл с обычным амидитом в случае связей PO), в таблице 17 (цикл с обычным амидитом в случае стереослучайных связей PS), в таблице 18 (цикл с амидитом DPSE в случае хиральных связей PS) и в таблице 19 (цикл с амидитом PSM в случае хиральных связей PN).

Таблица 16. Цикл синтеза связей PO с обычным амидитом

Стадия	Операция	Реагенты и растворитель	Объем	Время ожидания
--------	----------	-------------------------	-------	----------------

1	Детритилирование	3% TCA/DCM	10 мл	65 с
2	Сочетание	0,2 М мономер/20% IBN-MeCN, 0,5 М СМИМТ /MeCN	0,5 мл 1,0 мл	8 мин
3	Окисление	50 мМ I ₂ /пиридин-H ₂ O (9:1, об./об.)	2,0 мл	1 мин
4	Кэппирование 2	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN, 20% MeIm/MeCN	1,0 мл 1,0 мл	45 с

Таблица 17. Цикл синтеза стереослучайных связей PS с обычным амидитом

Стадия	Операция	Реагенты и растворитель	Объем	Время ожидания
1	Детритилирование	3% TCA/DCM	10 мл	65 с
2	Сочетание	0,2 М мономер/20% IBN-MeCN, 0,5 М СМИМТ /MeCN	0,5 мл 1,0 мл	8 мин
3	Сульфирование	0,2 М ХН/пиридин	2,0 мл	6 мин
4	Кэппирование 2	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN, 20% MeIm/MeCN	1,0 мл 1,0 мл	45 с

Таблица 18. Цикл синтеза хиральных связей PS с амидитом DPSE

Стадия	Операция	Реагенты и растворитель	Объем	Время ожидания
1	Детритилирование	3% TCA/DCM	10 мл	65 с
2	Сочетание	0,2 М мономер/20% IBN-MeCN, 0,5 М СМИМТ /MeCN	0,5 мл 1,0 мл	8 мин
3	Кэппирование 1	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN	2,0 мл	2 мин
4	Сульфирование	0,2 М ХН/пиридин	2,0 мл	6 мин
5	Кэппирование 2	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN, 20% MeIm/MeCN	1,0 мл 1,0 мл	45 с

Таблица 19. Цикл синтеза хиральных связей PN с амидитом PSM

Стадия	Операция	Реагенты и растворитель	Объем	Время ожидания
1	Детритилирование	3% TCA/DCM	10 мл	65 с

2	Сочетание	0,2 М мономер/20% IBN-MeCN, 0,5 М CMIMT /MeCN	0,5 мл 1,0 мл	8 мин
3	Кэппирование 1	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN	2,0 мл	2 мин
4	Имидирование	0,5 М реагент ADIH/MeCN	2,0 мл	6 мин
5	Кэппирование 2	20% Ac ₂ O, 30% 2,6- лутидин/MeCN, 20% MeIm/MeCN	1,0 мл 1,0 мл	45 с

В некоторых вариантах осуществления пути получения включают один или несколько циклов с DPSE и/или PSM.

Общая процедура для условий C и D (масштаб 25 мкмоль)

После завершения синтеза твердую подложку CPG высушивали и переносили в пластиковую пробирку объемом 50 мл. CPG обрабатывали реагентом 1X (2,5 мл; 100 мкл/мкмоль) в течение 3 ч при 28°C, затем добавляли конц. NH₃ (5,0 мл; 200 мкл/мкмоль) в течение 24 ч при 37°C. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и CPG отделяли с помощью мембранной фильтрации, промывали с помощью 15 мл H₂O. Неочищенный материал (фильтрат) анализировали с помощью LTQ и RP-UPLC.

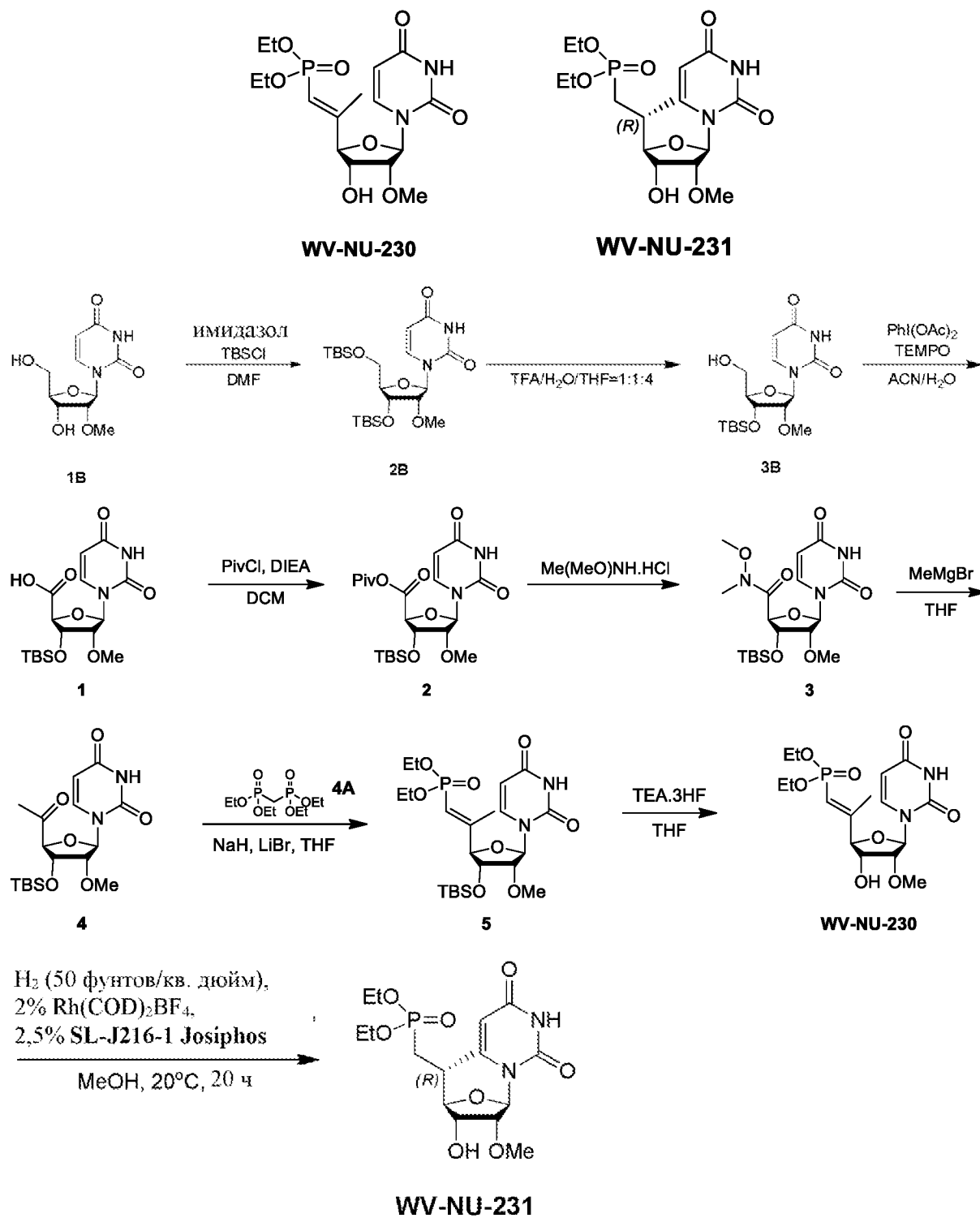
Общая процедура для условий конъюгирования GalNAc (масштаб 1 мкмоль)

В пластиковой пробирке три-GalNAc (2,0 экв.), HATU (1,9 экв.) и DIPEA (10 экв.) растворяли в безводном MeCN (0,5 мл). Смесь перемешивали в течение 10 мин при комнатной температуре, затем смесь добавляли в аминокислотную смесь (1 мкмоль) в H₂O (1 мл) и перемешивали в течение 1 ч при 37°C. Реакцию отслеживали с помощью LC-MS и RP-UPLC. После завершения реакции полученный олигонуклеотид с конъюгированным GalNAc обрабатывали с помощью конц. NH₃ (2 мл) в течение 1 ч при 37°C. Раствор концентрировали под вакуумом с удалением MeCN и конц. NH₃. Затем остаток растворяли в H₂O (10 мл) для очистки с обращенной фазой.

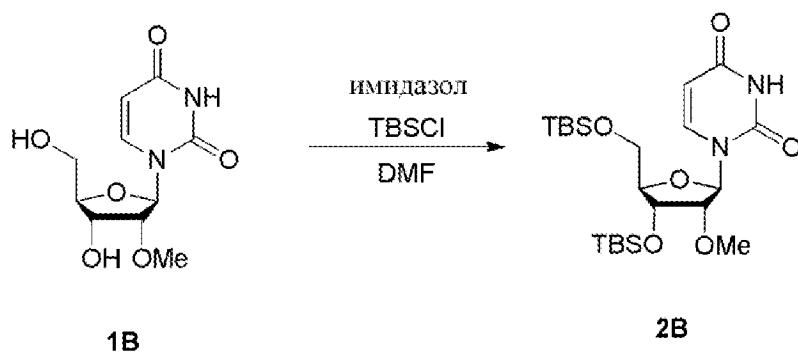
Пример 8. Получение модифицированных 5'-концевых нуклеотидов и фосфорамидитов

Известны различные технологии для получения модифицированных нуклеотидов и соответствующих фосфорамидитов, подлежащих включению в 5'-конец олигонуклеотидов и композиций на основе олигонуклеотидов, и их можно использовать в соответствии с настоящим изобретением, включая, например, способы и реагенты, описанные в PCT/US21/33939, который включен в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Дополнительные способы получения модифицированных нуклеотидов раскрыты в данном документе.

Синтез WV-NU-230 и WV-NU-231



1. Получение соединения 2B

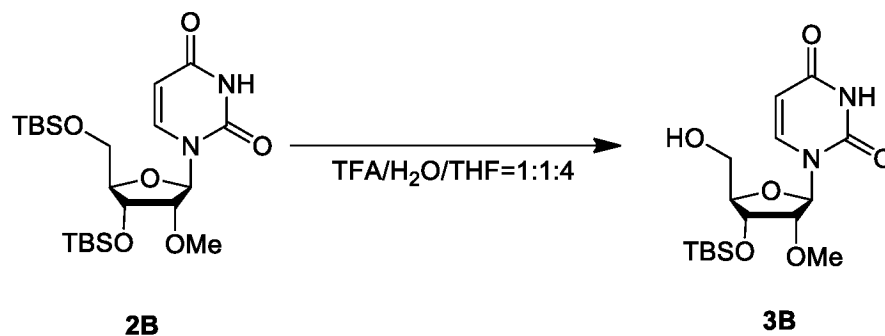


В раствор соединения **1B** (100 г, 387,26 ммоль, 1 экв.) в DMF (1600 мл) добавляли TBSCl (233,47 г, 1,55 моль, 189,81 мл, 4 экв.) и имидазол (131,82 г, 1,94 моль, 5 экв.). Смесь перемешивали при 20°C в течение 12 ч. LCMS (ET28998-906-P1A1) демонстрировала, что была выявлена необходимая масса. Реакционную смесь разбавляли с помощью 2000 мл H₂O и экстрагировали с помощью 3000 мл этилацетата (1000 мл * 3). Объединенные органические слои промывали с помощью 1000 мл солевого раствора, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, петролейный эфир/этилацетат = от 1/0 до 0/1). TLC (петролейный эфир: этилацетат = 1:1, R_f = 0,7). Соединение **2B** (188 г, неочищенное вещество) получали в виде бесцветного масла.

TLC (этилацетат: метанол = 1: 1), R_f = 0,7.

LCMS (M-H⁺): 485,4.

2. Получение соединения 3B



Для двух партий.

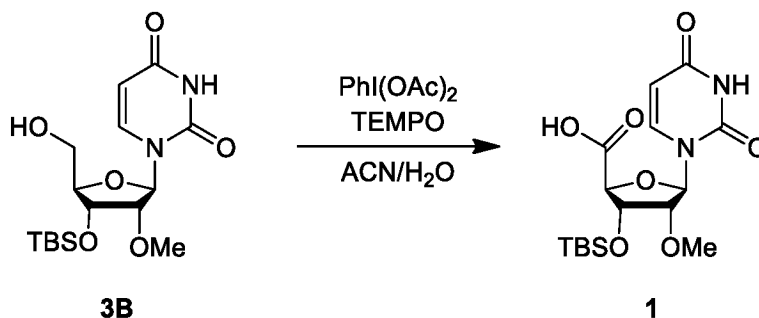
В перемешиваемый раствор соединения **2B** (94 г, 193,12 ммоль, 1 экв.) в THF (800 мл) добавляли смесь TFA (200 мл) и H₂O (200 мл). Смесь перемешивали при 0°C в течение 5 ч. LCMS (ET28998-909-P1B1) демонстрировала, что была выявлена необходимая масса. Реакционные смеси двух партий объединяли, и нейтрализовали с помощью насыщенного водного NaHCO₃, и экстрагировали с помощью 1 л * 3 этилацетата. Объединенные органические слои промывали с помощью 800 * 2 мл солевого раствора, высушивали над безводным Na₂SO₄ и выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью

колоночной хроматографии (SiO_2 , петролейный эфир/этилацетат 1 = от 1/0 до 0/1). Соединение **3B** (70 г, 187,93 ммоль, выход 48,66%) получали в виде белого твердого вещества.

LCMS (M-H^+): 371,1.

TLC (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), $R_f = 0,3$.

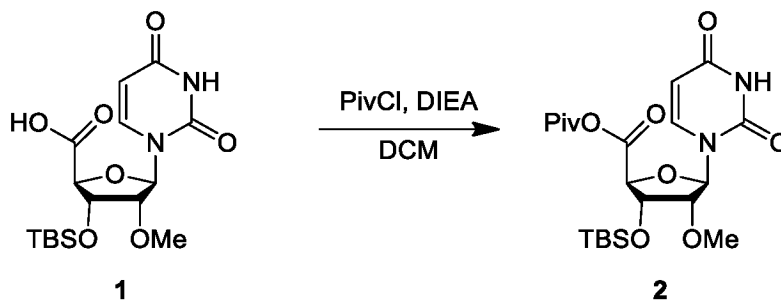
3. Получение соединения 1.



В раствор соединения **3B** (70 г, 187,93 ммоль, 1 экв.) в смеси ACN (500 мл) и H₂O (500 мл) добавляли PhI(OAc)₂ (133,17 г, 413,44 ммоль, 2,2 экв.) и TEMPO (5,91 г, 37,59 ммоль, 0,2 экв.). Смесь перемешивали при 20°C в течение 2 ч. LCMS (ET28998-916-P1A1) демонстрировала, что была выявлена необходимая масса. Полученную смесь концентрировали, затем фильтровали, и твердое вещество представляло собой требуемый продукт. Соединение **1** (70 г, неочищенное вещество) получали в виде белого твердого вещества.

LCMS (M-H^+): 385,2.

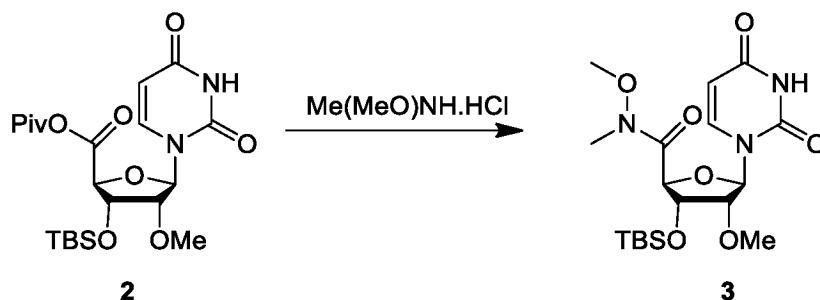
4. Получение соединения 2.



В раствор соединения **1** (70 г, 181,13 ммоль, 1 экв.) в DCM (700 мл) добавляли DIEA (46,82 г, 362,25 ммоль, 63,10 мл, 2 экв.) и 2,2-диметилпропаноилхлорид (28,39 г, 235,46 ммоль, 28,97 мл, 1,3 экв.). Смесь перемешивали при ~-10-0°C в течение 1,5 ч. TLC (петролейный эфир: этилацетат = 1:1, $R_f = 0,3$) демонстрировала, что соединение **1** было полностью израсходовано, и образовывалась одна новая зона. Неочищенный продукт в виде соединения **2** (85,24 г, неочищенное вещество) в 700 мл DCM применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

TLC (петролейный эфир: этилацетат = 1:1), $R_f = 0,3$.

5. Получение соединения 3.

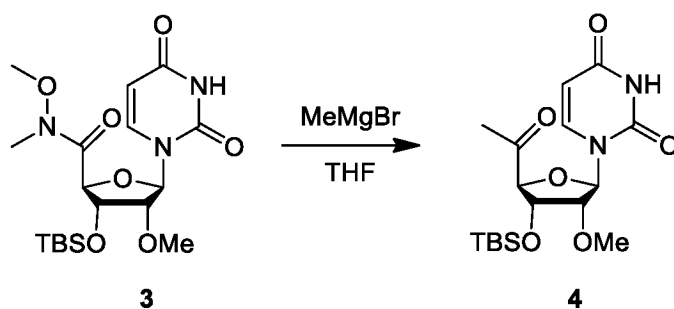


В раствор соединения **2** (85,24 г, 181,14 ммоль, 1 экв.) в DCM (ET28998-919) добавляли TEA (54,99 г, 543,41 ммоль, 75,64 мл, 3 экв.), затем добавляли гидрохлорид N-метоксиметанамина (53,01 г, 543,41 ммоль, 3 экв.). Смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. LCMS (ET28998-920-P1A1) демонстрировала, что была выявлена необходимая масса. Полученную смесь промывали с помощью HCl (1 М, 800 мл * 2), а затем водного NaHCO₃ (600 мл * 2). Объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением продукта в виде неочищенного белого твердого вещества. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, петролейный эфир/этилацетат = от 1/0 до 0:1). TLC (петролейный эфир: этилацетат = 0:1, R_f = 0,7). Соединение **3** (30 г, 69,84 ммоль, выход 38,56%) получали в виде белого твердого вещества.

LCMS (M-H⁺): 428,3.

TLC (петролейный эфир: этилацетат = 0:1), R_f = 0,7.

6. Получение соединения 4.

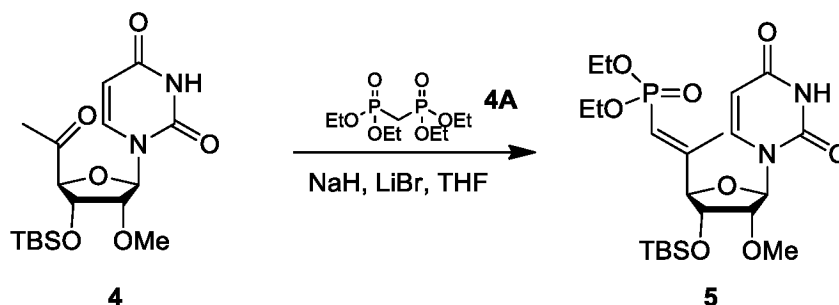


В раствор соединения **3** (30 г, 69,84 ммоль, 1 экв.) в THF (250 мл) добавляли MeMgBr (3 М, 46,56 мл, 2 экв.). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч. TLC (петролейный эфир: этилацетат = 0:1, R_f = 0,8) демонстрировала, что соединение **3** было полностью израсходовано, и образовывалась новая зона. Полученную смесь выливали в нас. водн. NH₄Cl (200 мл) при перемешивании, экстрагировали с помощью EtOAc (250 мл * 3). Объединенные органические слои высушивали над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного вещества. Остаток очищали с помощью

колоночной хроматографии (SiO_2 , петролейный эфир/этилацетат = от 1/0 до 0:1). Соединение **4** (20 г, 52,02 ммоль, выход 74,48%) получали в виде белого твердого вещества. LCMS (M-H^+): 383,2.

TLC (петролейный эфир: этилацетат = 0:1), $R_f = 0,8$.

7. Получение соединения **5**.

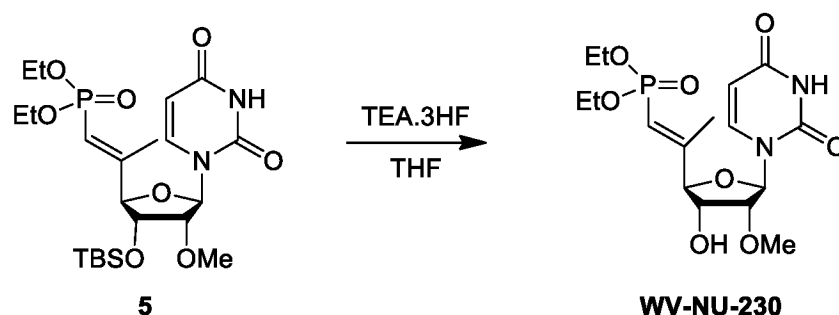


В раствор NaH (4,58 г, 114,43 ммоль, чистота 60%, 4,4 экв.) в THF (50 мл) добавляли 1-[диэтоксифосфорилметил(этокси)фосфорил]оксиэтан (32,98 г, 114,43 ммоль, 4,4 экв.) в THF (400 мл) при 0°C. Реакционную смесь нагревали до 20°C и перемешивали в течение 1 ч. Добавляли раствор LiBr (9,94 г, 114,43 ммоль, 2,87 мл, 4,4 экв.) в THF (100 мл) и полученную взвесь перемешивали, а затем охлаждали до 0°C. В вышеуказанную смесь добавляли раствор соединения **4** (10 г, 26,01 ммоль, 1 экв.) в THF (120 мл) при 0°C. Смесь перемешивали при 0-20°C в течение 12 ч. TLC (петролейный эфир: этилацетат = 2:1, $R_f = 0,1$) демонстрировала, что соединение **4** было полностью израсходовано, и образовывалась одна новая зона. Полученную смесь разбавляли водой (500 мл), экстрагировали с помощью EtOAc (500 мл * 3). Объединенные органические слои промывали с помощью нас. солевого раствора (500 мл * 2), высушивали над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением неочищенного вещества. Неочищенное вещество объединяли с ET28998-930-P1, затем очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO_2 , петролейный эфир/этилацетат = от 1/0 до 0:1). Соединение **5** (23 г, неочищенное вещество) получали в виде бесцветной камеди.

LCMS (M-H^+): 517,1.

TLC (петролейный эфир: этилацетат = 2:1), $R_f = 0,1$.

8. Получение соединения WV-NU-230



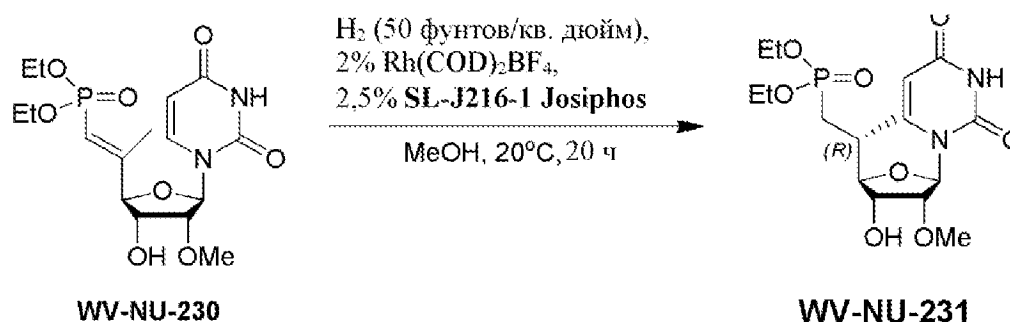
В раствор соединения **5** (23 г, 44,35 ммоль, 1 экв.) в THF (250 мл) добавляли тригидрофторид N,N-диэтилэтанамина (57,20 г, 354,79 ммоль, 57,83 мл, 8 экв.). Смесь перемешивали при 40°C в течение 6 ч. LCMS (ET28998-941-P1A2) демонстрировала, что соединение **5** было полностью израсходовано, и был выявлен один основной пик с необходимой массой. Реакционную смесь гасили путем добавления нас. водн. NaHCO₃ (200 мл) и NaHCO₃ в виде твердого вещества до pH = ~7-8 и перемешивали 20 мин. Смесь высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, петролейный эфир: этилацетат = от 1/1 до 0/1, затем этилацетат: метанол = от 1/0 до 3/1). TLC (этилацетат: метанол = 10:1, R_f = 0,3). Соединение **WV-NU-230** (16 г, 38,07 ммоль, выход 85,83%, чистота 96,20%) получали в виде бесцветной камеди.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ = 11,44 (s, 1H), 7,65 (d, J = 8,1 Гц, 1H), 5,77 (d, J = 4,4 Гц, 1H), 5,70 - 5,60 (m, 2H), 5,47 (d, J = 7,0 Гц, 1H), 4,18 - 4,12 (m, 2H), 4,00 - 3,90 (m, 5H), 3,38 (s, 3H), 2,04 (d, J = 2,8 Гц, 3H), 1,22 (dt, J = 4,3, 7,0 Гц, 6H)

LCMS (M-H⁺): 403,1, чистота: 96,20%.

TLC (этилацетат: метанол = 10:1), R_f = 0,3.

9. Получение соединения WV-NU-231



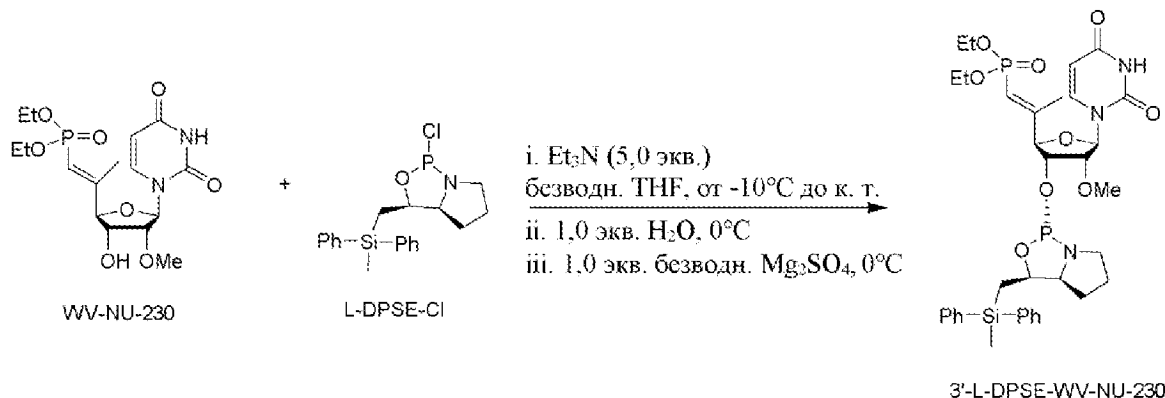
В смесь соединения **WV-NU-230** (13,5 г, 33,39 ммоль, 1 экв.) в MeOH (400 мл) добавляли SL-J216-1 Josiphos (1,08 г, 66,77 ммоль), тетрафторборат (1Z,5Z)-циклоокта-1,5-диен-родия(1+) (542,30 мг, 1,34 ммоль, 0,04 экв.) и трифторметансульфонат цинка (4,85 г, 13,35 ммоль, 0,4 экв.). И систему перемешивали в атмосфере H₂ (50 фунтов/кв. дюйм) в течение 20 ч при 20°C. LCMS (ET28998-952-P1A1) демонстрировала, что была выявлена необходимая масса. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением остатка. Неочищенный продукт очищали с помощью HPLC с обращенной фазой (0,1% NH₃·H₂O, DAC-150 Agela C18, 450 мл/мин, 25-40% 30 мин; 40-40% 30 мин). Соединение **WV-NU-231** (10 г, 24,61 ммоль, выход 73,71%, чистота 100%) получали в виде белого твердого вещества.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ = 11,39 (s, 1H), 7,66 - 7,59 (m, 1H), 5,71 (d, J = 5,0 Гц,

1H), 5,67 (dd, $J = 2,1, 8,0$ Гц, 1H), 5,23 - 5,11 (m, 1H), 4,09 - 3,92 (m, 5H), 3,82 (t, $J = 5,5$ Гц, 1H), 3,58 (t, $J = 5,9$ Гц, 1H), 3,35 (s, 3H), 2,13 - 2,03 (m, 1H), 2,03 - 1,90 (m, 1H), 1,57 (ddd, $J = 9,8, 15,5, 17,4$ Гц, 1H), 1,29 - 1,18 (m, 6H), 1,03 (d, $J = 6,6$ Гц, 3H)

LCMS (M-H⁺): 405,2; чистота: 100%;

Получение амидита 3'-L-DPSE-2'-ОМе-5'-РО(ОEt)₂-винилфосфонат-U (3'-L-DPSE-WV-NU-230)



Нуклеозид 2'-ОМе-5'-(Ме)-РО(ОEt)₂-винилфосфонат-U, WV-NU-230 (1,60 г), преобразовывали в амидит 3'-L-DPSE-2'-ОМе-5'-(Ме)-РО(ОEt)₂-винилфосфонат-U (3'-L-DPSE-WV-NU-230) с помощью общей процедуры и получали (1,98 г, выход 67%) в виде грязно-белого твердого вещества.

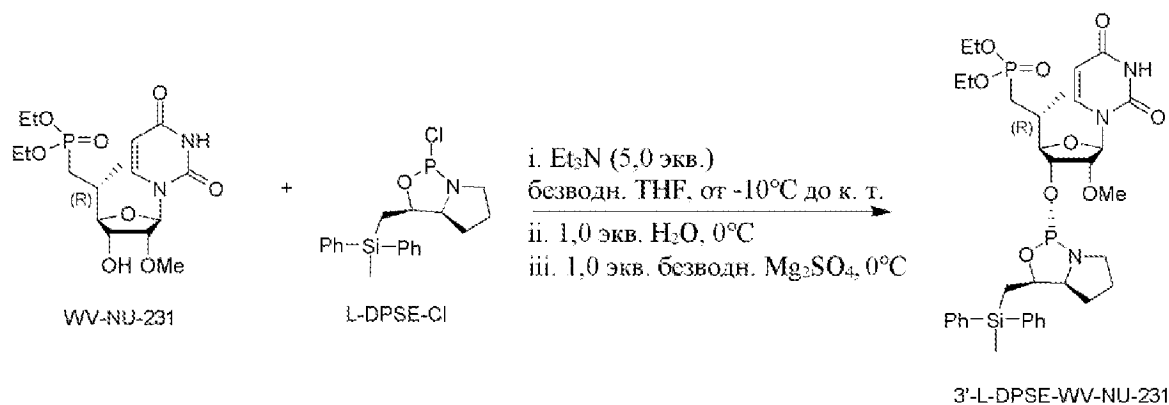
LCMS: C₃₅H₄₇N₃O₉P₂Si (M-H⁻): 742,69

³¹P ЯМР (243 МГц, CDCl₃) δ = 153,09, 17,24

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ = 9,20 (s, 1H), 7,47 - 7,35 (m, 5H), 7,24 (q, $J = 6,2$ Гц, 7H), 7,07 (d, $J = 8,1$ Гц, 1H), 5,71 - 5,61 (m, 2H), 5,56 (t, $J = 2,7$ Гц, 1H), 4,80 (q, $J = 6,8$ Гц, 1H), 4,32 (dt, $J = 9,4, 6,1$ Гц, 1H), 4,11 (d, $J = 6,3$ Гц, 1H), 3,98 (tt, $J = 12,8, 7,9$ Гц, 4H), 3,63 (t, $J = 4,8$ Гц, 1H), 3,47 - 3,39 (m, 1H), 3,37 - 3,32 (m, 1H), 3,28 (d, $J = 2,0$ Гц, 3H), 3,08 (qd, $J = 10,4, 4,2$ Гц, 1H), 1,95 (d, $J = 3,2$ Гц, 3H), 1,75 (dp, $J = 12,9, 5,1$ Гц, 1H), 1,62 - 1,52 (m, 2H), 1,37 (dd, $J = 14,6, 6,6$ Гц, 1H), 1,32 - 1,27 (m, 1H), 1,22 (t, $J = 6,9$ Гц, 6H), 1,15 (td, $J = 8,6, 2,4$ Гц, 1H), 0,55 (s, 3H).

¹³C ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ = 163,12, 156,31, 156,26, 149,74, 141,09, 136,48, 135,94, 134,53, 134,51, 134,48, 134,36, 129,54, 129,47, 129,27, 128,14, 128,00, 127,96, 127,86, 113,72, 112,46, 102,90, 90,63, 85,36, 85,34, 85,21, 85,19, 81,33, 81,31, 79,55, 79,49, 77,27, 77,06.

Получение амидита 3'-L-DPSE-5'-(R)-Ме-РО(ОEt)₂-фосфонат-U (3'-L-DPSE-WV-NU-231)



Нуклеозид 2'-Оме-5'-(R)-Ме-РО(ОEt)₂-фосфонат-У, WV-NU-231 (5,0 г), преобразовывали в амидит 3'-L-DPSE-2'-Оме-5'-(R)-Ме-РО(ОEt)₂-фосфонат-У (3'-L-DPSE-WV-NU-231) с помощью общей процедуры и получали 7,9 г, выход 84%) в виде грязно-белого твердого вещества.

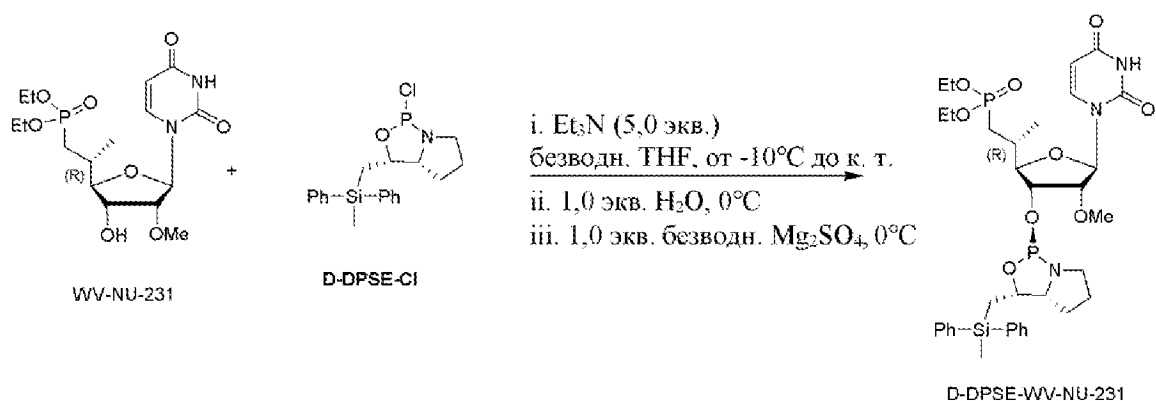
LCMS: C₃₅H₄₉N₃O₉P₂Si (M-H): 744,85.

¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 8,48 (s, 1H), 7,64 – 7,47 (m, 5H), 7,38 (ddt, *J* = 16,6, 8,8, 4,8 Гц, 5H), 7,27 (d, *J* = 8,1 Гц, 1H), 5,77 (d, *J* = 8,1 Гц, 1H), 5,72 (d, *J* = 3,2 Гц, 1H), 4,95 (q, *J* = 7,1 Гц, 1H), 4,21 (dt, *J* = 9,7, 6,5 Гц, 1H), 4,18 – 4,04 (m, 3H), 3,89 (t, *J* = 6,4 Гц, 1H), 3,69 (dd, *J* = 5,7, 3,2 Гц, 1H), 3,57 (ddt, *J* = 14,8, 10,5, 7,5 Гц, 1H), 3,46 – 3,39 (m, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,18 (tdt, *J* = 15,2, 10,6, 5,3 Гц, 1H), 2,34 – 2,22 (m, 1H), 2,10 – 1,97 (m, 2H), 1,85 (ddt, *J* = 12,2, 8,1, 3,3 Гц, 1H), 1,69 (pd, *J* = 16,4, 8,5 Гц, 4H), 1,51 (dd, *J* = 14,5, 7,8 Гц, 1H), 1,34 (td, *J* = 7,0, 2,2 Гц, 6H), 1,31 – 1,22 (m, 2H), 1,17 (d, *J* = 6,8 Гц, 3H), 0,67 (s, 3H).

³¹P ЯМР (243 МГц, CDCl₃) δ = 155,81, 30,61

¹³C ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 162,64, 149,63, 140,01, 136,33, 136,11, 134,55, 134,51, 134,48, 134,46, 134,42, 129,58, 129,53, 128,09, 128,01, 127,98, 127,87, 102,66, 88,98, 85,60, 85,57, 85,45, 82,70, 79,07, 79,01, 71,21, 71,11, 67,33, 67,31, 61,60, 61,55, 61,51, 58,45, 46,86, 46,63, 30,53, 30,50, 29,72, 28,78, 26,96, 25,97, 25,95, 18,03, 18,01, 16,52, 16,51, 16,48, 16,46, 15,85, 15,82, -3,40.

Получение амидита 3'-D-DPSE-5'-(R)-Ме-РО(ОEt)₂-фосфонат-У (3'-D-DPSE-WV-NU-231)



Нуклеозид 2'-OMe-5'-(R)-Me-PO(OEt)₂-фосфонат-U, WV-NU-231 (2,5 г), преобразовывали в амидит 3'-D-DPSE-2'-OMe-5'-(R)-Me-PO(OEt)₂-фосфонат-U (3'-D-DPSE-WV-NU-231) с помощью общей процедуры и получали (2,8 г, выход 83%) в виде грязно-белого твердого вещества.

LCMS: C₃₅H₄₉N₃O₉P₂Si (M-H): 744,85

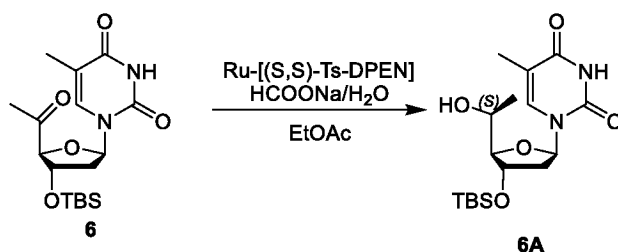
¹H ЯМР (600 МГц, CDCl₃) δ 9,24 (s, 1H), 7,54 (td, *J* = 7,4, 1,7 Гц, 5H), 7,42 – 7,32 (m, 5H), 7,27 (d, *J* = 8,1 Гц, 1H), 5,77 (d, *J* = 8,1 Гц, 1H), 5,73 (d, *J* = 3,1 Гц, 1H), 4,94 (td, *J* = 7,5, 5,3 Гц, 1H), 4,21 (ddd, *J* = 9,7, 7,2, 5,6 Гц, 1H), 4,11 (qdd, *J* = 15,1, 6,9, 4,1 Гц, 4H), 3,88 (dd, *J* = 7,3, 5,5 Гц, 1H), 3,69 (dd, *J* = 5,7, 3,1 Гц, 1H), 3,56 (ddt, *J* = 14,7, 10,6, 7,6 Гц, 1H), 3,41 (ddd, *J* = 12,3, 9,8, 5,5 Гц, 1H), 3,27 (s, 3H), 3,18 (tdd, *J* = 10,9, 8,8, 4,5 Гц, 1H), 2,29 (ttt, *J* = 8,8, 6,4, 3,0 Гц, 1H), 2,06 – 1,97 (m, 1H), 1,84 (dp, *J* = 12,7, 4,3 Гц, 1H), 1,68 (td, *J* = 15,5, 7,5 Гц, 3H), 1,51 (dd, *J* = 14,5, 7,8 Гц, 1H), 1,33 (td, *J* = 7,0, 1,8 Гц, 6H), 1,29 – 1,24 (m, 1H), 1,17 (d, *J* = 6,7 Гц, 3H), 0,68 (s, 3H).

³¹P ЯМР (243 МГц, CDCl₃) δ = 155,73, 30,66

¹³C ЯМР (151 МГц, CDCl₃) δ 163,22, 149,88, 139,98, 136,34, 136,11, 134,55, 134,51, 134,49, 134,45, 129,57, 129,52, 128,00, 127,97, 127,85, 102,68, 88,93, 82,73, 79,06, 79,00, 71,24, 71,14, 67,32, 67,30, 61,60, 61,56, 61,51, 58,45, 46,85, 46,62, 30,52, 30,50, 29,69, 28,75, 26,96, 25,97, 25,95, 18,03, 18,01, 16,52, 16,50, 16,48, 16,46, 15,86, 15,84, -3,40.

Селективное асимметричное восстановление метилкетонсодержащего промежуточного соединения (6) до соответствующего гидроксиметилсодержащего (6А и 6В) с применением хирального катализатора

Получение соединения 6А

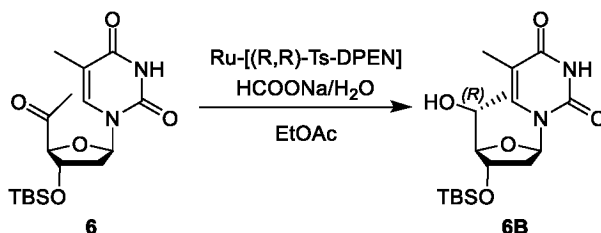


Раствор соединения **6** (46,00 г, 124,83 ммоль) в смеси EtOAc (460,00 мл) и формиата натрия (353,17 г, 5,19 моль) растворяли в воде (1,84 л), а затем добавляли N-[(1S,2S)-2-амино-1,2-дифенилэтил]-4-метилбензолсульфонамид; хлоррутения; 1-изопропил-4-метилбензол (1,59 г, 2,50 ммоль). Полученную двухфазную смесь перемешивали в течение 12 ч при 25°C в атмосфере N₂. TLC демонстрировала, что исходный материал был израсходован. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (500 мл * 3). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (300 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного вещества. Смесь очищали с помощью MPLC (петролейный эфир/MTBE = от 10:1 до 1:1) с получением соединения **6A** в виде желтого масла (25,60 г, выход 57,53%).

¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ = 11,28 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 6,16 (t, J=6,8 Гц, 1H), 5,04 (d, J=4,6 Гц, 1H), 4,46 - 4,29 (m, 1H), 3,79 (br t, J=6,8 Гц, 1H), 3,59 (br s, 1H), 3,32 (s, 1H), 2,21 - 2,09 (m, 1H), 2,06 - 1,97 (m, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,17 - 1,08 (m, 4H), 0,91 - 0,81 (m, 10H), 0,08 (s, 6H)

SFC: чистота согласно SFC: 98,6%;

Получение соединения **6B**



В круглодонную колбу объемом 100 мл, оснащенную закрытым перегородкой боковым отводом, загружали [[(1R,2R)-2-амино-1,2-дифенилэтил]-(*p*-толилсульфонил)амино]-хлоррутения; 1-изопропил-4-метилбензол (34,53 мг, 54,27 мкмоль) и соединение **6** (1,00 г, 2,71 ммоль) и систему продували азотом. Добавляли раствор дигидрата формиата натрия (11,75 г, 112,89 ммоль) в воде (40,00 мл), затем EtOAc (10,00 мл). Полученную двухфазную смесь перемешивали в течение 12 ч при 25°C. TLC демонстрировала, что исходный материал был израсходован. Смесь экстрагировали с помощью EtOAc (50 мл * 3). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (30 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением неочищенного вещества. Смесь очищали с помощью MPLC (петролейный эфир/MTBE = от 10:1 до 1:1) с получением соединения **6B** в виде желтого масла (1,00 г, выход 99,50%).

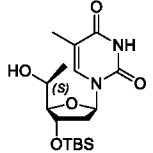
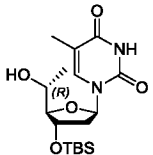
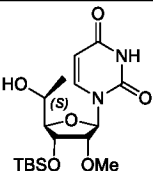
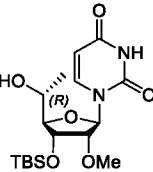
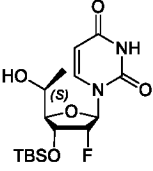
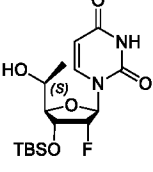
¹H ЯМР (400MHz, DMSO-d₆): δ = 11,30 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 6,16 (dd, J=5,6, 8,7 Гц, 1H), 5,04 (d, J=5,1 Гц, 1H), 4,49 (br d, J=5,1 Гц, 1H), 3,86 - 3,66 (m, 1H), 3,55 (d, J=4,2 Гц, 1H), 2,50 (br s, 12H), 2,22 - 2,05 (m, 1H), 1,96 (br dd, J=5,6, 12,9 Гц, 1H), 1,77 (s, 3H), 1,11 (d, J=6,2 Гц,

4H), 0,94 - 0,81 (m, 10H), 0,09 (s, 6H);

HPLC: чистота согласно HPLC: 84,4%;

TLC (петролейный эфир/этилацетат = 1:1) $R_f = 0,37$.

Таблица 20. Селективное асимметричное восстановление метилкетонсодержащих промежуточных соединений до соответствующих гидроксиметилсодержащих промежуточных соединений с применением хирального катализатора (без образования примесей согласно TLC, с примерно количественным преобразованием в спирт)

ID соединения	Структура	Катализатор	Загрузка метилкетона	Селективность (соотношение R/S в соответствии с Н ЯМР или SFC)
5'-(S)-C-Me-3'-OTBS-dT		RuCl(п-цимол)[(S,S)-Ts-DPEN]	0,35 г	13: 100
5'-(R)-C-Me-3'-OTBS-dT		RuCl(п-цимол)[(R,R)-Ts-DPEN]	0,35 г	100: 3,7
5'-(S)-C-Me-3'-OTBS-2'-OMe-U		RuCl(п-цимол)[(S,S)-Ts-DPEN]	0,08 г	17:100
5'-(R)-C-Me-3'-OTBS-2'-OMe-U		RuCl(п-цимол)[(R,R)-Ts-DPEN]	0,08 г	100: 3,8
5'-(S)-C-Me-3'-OTBS-2'-F-dU		RuCl(п-цимол)[(S,S)-Ts-DPEN]	0,05 г	58: 100
5'-(R)-C-Me-3'-OTBS-2'-F-dU		RuCl(п-цимол)[(R,R)-Ts-DPEN]	0,45 г	S-изомер не наблюдали

5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dA(Bz)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Ts-DPEN]	3,8 г	17,8: 100
5'-(R)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dA(Bz)		RuCl(п-цимол)[(R,R)- Ts-DPEN]	16,2 г	96,5: 3,5 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dA(Bz)		RuCl(мезитилен)[(S,S))-Ts-DPEN]	50 мг	15: 85 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dA(Bz)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Fs-DPEN]	50 мг	7,90: 92,10 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dA(Bz)		RuCl2[(S)- XylBINAP][(S,S)- DPEN]	50 мг	86,86:11,95 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-A(Bz)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Ts-DPEN]	50 мг	8,2: 91,8 согласно SFC
5'-(R)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-A(Bz)		RuCl(п-цимол)[(R,R)- Ts-DPEN]	50 мг	С помощью SFC S-изомер не наблюдали
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dG(iBu)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Ts-DPEN]	50 мг	31,3: 68,6 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dG(iBu)		RuCl(мезитилен)[(S,S))-Ts-DPEN]	50 мг	33,2: 66,8 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dG(iBu)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Fs-DPEN]	50 мг	17,46: 78,39 согласно SFC

5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dG(iBu)		RuCl ₂ [(S)- XylBINAP][(S,S)- DPEN]	50 мг	28,92: 71,08 согласно SFC
5'-(R)-C-Me- 3'-OTBS-2'- F-dG(iBu)		RuCl(п-цимол)[(R,R)- Ts-DPEN]	50 мг	99,76: 0,24 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Ts-DPEN]	35 мг 50 мг	18,19: 81,81, 12,67: 87,33 согласно SFC
5'-(R)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu)		RuCl(п-цимол)[(R,R)- Ts-DPEN]	35 мг 50 мг	98,78: 1,25, 99,11: 0,89 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu)		RuCl ₂ [(S)- XylBINAP][(S,S)- DPEN]]	50 мг	94,26:5,74 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Fs-DPEN]	50 мг	10: 90 согласно SFC
5'-(S)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu, CE)		RuCl(п-цимол)[(S,S)- Ts-DPEN]	50 мг	11: 89 согласно SFC
5'-(R)-C-Me- 3'-OTBS-2'- OMe-G(iBu, CE)		RuCl(п-цимол)[(R,R)- Ts-DPEN]	50 мг	86,7: 13,3 согласно SFC

ПРИМЕР 9. Представленные олигонуклеотиды и композиции могут эффективно обеспечивать нокдаун транскрипта мышца (mTTR) in vitro

Разрабатывали и конструировали различные siRNA для TTR мышца. Некоторое количество siRNA тестировали *in vitro* в первичных гепатоцитах мышца при одной концентрации или диапазоне концентраций. Некоторые siRNA также тестировали на мышцах (например, мышцах C57BL6 дикого типа).

Иллюстративный протокол для определения активности siRNA *in vitro*. Для определения активности siRNA, siRNA при конкретной концентрации доставляли гимнотическим способом в первичные гепатоциты мыши, высеянные в 96-луночные планшеты при 10000 клеток/луночка. После обработки в течение 48 часов экстрагировали общую РНК с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. В качестве нормализатора применяли HPRT мыши (прямой праймер 5'CAAACCTTGCTTCCCTGGTT3', обратный праймер 5'TGGCCTGTATCCAACAACCTTC3', зонд 5'/5HEX/ACCAGCAAG/Zen/CTTGCAACCTTAACC/3IABkFQ/3'. Уровни нокдауна мРНК рассчитывали в виде % оставшейся мРНК относительно имитационной обработки.

В **таблице 21** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 21.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	500 пМ			Среднее
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	
WV-49900	WV-49901	120,90	114,37	101,46	112,24
WV-20167	WV-40362	59,82	29,16	23,90	37,63
WV-38082	WV-40362	73,90	51,03	46,83	57,25
WV-38083	WV-40363	53,73	57,11	48,97	53,27
WV-38087	WV-40363	39,03	43,19	28,10	36,77
WV-38088	WV-40363	59,68	47,30	42,19	49,72
WV-38089	WV-40363	59,53	44,21	46,44	50,06
WV-38090	WV-40363	75,52	64,54	62,35	67,47
WV-38091	WV-40363	65,48	59,13	58,71	61,11
WV-38092	WV-40363	64,97	60,19	57,67	60,94

WV-38093	WV-40363	64,59	31,88	59,36	51,95
WV-38094	WV-40363	46,50	51,48	37,42	45,13
WV-38095	WV-40363	83,34	69,59	55,00	69,31
WV-38096	WV-40363	73,19	58,01	51,31	60,84
WV-38097	WV-40363	85,43	57,53	62,26	68,41
WV-38098	WV-40363	79,94	61,60	53,10	64,88
WV-38099	WV-40363	77,02	64,19	71,05	70,75
WV-38100	WV-40363	65,21	62,32	55,15	60,89
WV-38101	WV-40363	58,00	61,54	50,00	56,51
WV-38102	WV-40363	36,11	36,05	36,22	36,13
WV-38103	WV-40363	84,29	74,41	65,59	74,76
WV-38104	WV-40363	73,03	61,01	58,95	64,33
WV-38105	WV-40363	81,59	51,47	56,04	63,03
WV-38106	WV-40363	82,19	59,25	46,87	62,77
WV-38107	WV-40363	49,87	34,92	19,30	34,70
WV-38108	WV-40363	72,81	71,75	56,98	67,18
WV-38109	WV-40363	55,56	45,56	29,80	43,64
WV-38110	WV-40363	53,71	50,18	43,35	49,08
WV-38111	WV-40363	87,18	70,09	61,13	72,80
WV-38112	WV-40363	75,97	64,42	47,73	62,71
WV-38113	WV-40363	83,21	64,31	50,24	65,92
WV-38114	WV-40363	69,76	52,97	40,53	54,42
WV-38115	WV-40363	60,74	57,99	49,54	56,09
WV-38116	WV-40363	71,99	51,19	49,65	57,61
WV-38117	WV-40363	73,94	55,86	30,48	53,43
WV-38118	WV-40363	62,81	58,61	53,42	58,28
WV-38119	WV-40363	72,08	59,52	51,76	61,12
WV-38120	WV-40363	69,88	62,10	50,50	60,83
WV-38121	WV-40363	79,39	53,64	51,87	61,63
WV-38122	WV-40363	68,70	54,47	44,11	55,76
WV-38123	WV-40363	82,10	49,07	45,98	59,05
WV-38124	WV-40363	68,99	57,03	48,45	58,16
WV-38125	WV-40363	74,20	55,91	36,03	55,38
WV-38126	WV-40363	62,69	63,94	53,84	60,16

WV-38127	WV-40363	59,27	52,65	44,37	52,10
WV-38128	WV-40363	76,51	56,68	46,62	59,94
WV-38129	WV-40363	73,04	54,19	54,27	60,50
WV-38130	WV-40363	73,30	54,69	58,48	62,16
WV-38131	WV-40363	81,34	58,73	45,15	61,74
WV-38132	WV-40363	77,89	48,98	43,97	56,95
WV-38133	WV-40363	75,61	60,42	24,69	53,58
WV-38134	WV-40363	58,30	62,92	46,05	55,76
WV-38135	WV-40363	85,60	82,02	51,16	72,92
WV-38136	WV-40363	58,81	55,17	46,51	53,50
WV-38137	WV-40363	76,56	57,07	42,31	58,65
WV-38138	WV-40363	77,34	57,88	58,21	64,48
WV-38139	WV-40363	77,20	60,85	42,46	60,17
WV-38140	WV-40363	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
WV-38141	WV-40363	71,95	47,17	21,88	47,00
WV-38142	WV-40363	46,58	57,73	46,63	50,31
WV-38143	WV-40363	81,50	75,43	53,16	70,03
WV-38144	WV-40363	66,01	50,97	43,47	53,48
WV-38145	WV-40363	63,60	57,09	46,72	55,80
WV-38146	WV-40363	69,89	64,70	37,16	57,25

В **таблице 22** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 1000 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 22.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	1000 пМ			Среднее
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	
WV-49900	WV-49901	95,37	101,03	108,67	101,69
WV-20167	WV-40362	34,89	25,17	22,80	27,62
WV-37236	WV-40362	61,56	57,41	27,55	48,84
WV-20170	WV-40363	27,71	25,33	24,42	25,82

WV-20171	WV-40363	22,39	13,94	10,64	15,66
WV-36980	WV-40363	63,46	52,97	52,93	56,46
WV-36981	WV-40363	51,72	54,10	46,52	50,78
WV-36982	WV-40363	52,98	55,30	61,60	56,62
WV-36983	WV-40363	52,24	48,56	67,47	56,09
WV-36984	WV-40363	57,66	38,95	48,97	48,53
WV-36985	WV-40363	47,42	52,51	51,15	50,36
WV-36986	WV-40363	53,05	49,97	40,91	47,97
WV-36987	WV-40363	47,88	50,92	34,27	44,36
WV-36988	WV-40363	60,66	74,85	72,99	69,50
WV-36989	WV-40363	54,77	66,07	78,98	66,61
WV-36990	WV-40363	75,51	66,73	95,83	79,36
WV-36991	WV-40363	70,41	59,47	82,83	70,90
WV-36992	WV-40363	64,38	55,96	77,11	65,81
WV-36993	WV-40363	53,94	69,33	77,10	66,79
WV-36994	WV-40363	63,87	62,53	75,65	67,35
WV-36995	WV-40363	55,14	50,25	65,65	57,01
WV-36996	WV-40363	52,01	50,62	59,48	54,04
WV-36997	WV-40363	55,61	46,59	70,46	57,55
WV-36998	WV-40363	54,16	45,99	71,40	57,18
WV-36999	WV-40363	54,52	40,47	49,10	48,03
WV-37000	WV-40363	49,95	46,55	51,85	49,45
WV-37001	WV-40363	49,12	60,13	57,61	55,62
WV-37002	WV-40363	48,04	54,86	55,66	52,85
WV-37003	WV-40363	56,98	53,70	69,24	59,97
WV-37004	WV-40363	61,31	65,35	87,88	71,51
WV-37005	WV-40363	74,13	66,10	101,18	80,47
WV-37006	WV-40363	71,64	79,38	108,73	86,58
WV-37007	WV-40363	62,94	61,82	71,70	65,49
WV-37008	WV-40363	66,13	65,89	85,86	72,63
WV-37009	WV-40363	54,52	60,97	65,85	60,45
WV-37010	WV-40363	66,76	82,01	79,83	76,20
WV-37011	WV-40363	56,38	64,17	61,51	60,68
WV-37012	WV-40363	54,15	53,96	66,17	58,09

WV-37013	WV-40363	67,01	49,24	76,78	64,34
WV-37014	WV-40363	62,94	59,65	74,11	65,57
WV-37015	WV-40363	63,01	50,82	66,97	60,27
WV-37016	WV-40363	59,09	52,69	62,89	58,22
WV-37017	WV-40363	53,56	50,31	51,38	51,75
WV-37018	WV-40363	50,12	48,33	35,05	44,50
WV-37019	WV-40363	60,09	72,34	83,10	71,84
WV-37020	WV-40363	66,99	68,44	69,44	68,29
WV-37021	WV-40363	62,63	67,19	101,08	76,97
WV-37022	WV-40363	75,03	63,39	103,87	80,76
WV-37023	WV-40363	64,36	61,35	43,54	56,42
WV-37024	WV-40363	64,50	67,48	87,74	73,24
WV-37025	WV-40363	60,76	64,57	44,40	56,58
WV-37026	WV-40363	65,71	69,16	62,06	65,64
WV-37027	WV-40363	65,31	61,27	66,40	64,33
WV-37028	WV-40363	63,70	58,59	73,18	65,16
WV-37029	WV-40363	65,71	53,51	71,40	63,54
WV-37030	WV-40363	64,34	62,04	75,72	67,37
WV-37031	WV-40363	70,65	48,90	65,65	61,73
WV-37032	WV-40363	66,89	59,73	72,74	66,45
WV-37033	WV-40363	70,19	61,34	52,67	61,40
WV-37034	WV-40363	63,25	66,82	49,06	59,71
WV-37035	WV-40363	71,91	77,02	78,94	75,95
WV-37036	WV-40363	81,57	81,06	114,02	92,22
WV-37037	WV-40363	76,80	78,27	104,57	86,55
WV-37038	WV-40363	83,63	77,74	N.D.	80,69
WV-37039	WV-40363	87,33	72,36	78,02	79,24
WV-37040	WV-40363	78,91	62,83	106,89	82,88
WV-37041	WV-40363	75,13	77,56	92,26	81,65
WV-37042	WV-40363	77,87	72,59	64,49	71,65
WV-37043	WV-40363	59,88	62,39	41,31	54,53
WV-37044	WV-40363	59,28	56,73	67,16	61,06
WV-37045	WV-40363	63,79	53,40	77,62	64,93
WV-37046	WV-40363	69,88	52,44	62,98	61,77

WV-37047	WV-40363	67,02	60,15	53,36	60,18
WV-37048	WV-40363	56,29	43,39	54,35	51,34
WV-37049	WV-40363	54,74	50,80	35,31	46,95
WV-37050	WV-40363	58,86	50,76	37,26	48,96
WV-37051	WV-40363	59,45	61,74	46,74	55,97
WV-37052	WV-40363	71,45	64,11	67,47	67,68
WV-37053	WV-40363	76,67	59,85	88,02	74,85
WV-37054	WV-40363	83,63	65,28	78,83	75,91
WV-37055	WV-40363	67,58	65,63	82,96	72,05
WV-37056	WV-40363	73,16	55,23	74,02	67,47
WV-37057	WV-40363	76,89	60,29	50,44	62,54
WV-37058	WV-40363	75,63	62,13	57,65	65,13
WV-37059	WV-40363	58,11	55,87	39,97	51,31
WV-37060	WV-40363	56,41	57,62	65,15	59,72
WV-37061	WV-40363	76,32	62,43	52,35	63,70
WV-37062	WV-40363	70,13	58,31	67,32	65,25
WV-37063	WV-40363	68,62	55,62	56,01	60,08
WV-37064	WV-40363	64,47	45,83	53,15	54,48
WV-37065	WV-40363	71,72	48,67	36,39	52,26
WV-20167	WV-40362	37,19	16,85	20,75	24,93
WV-37236	WV-40362	51,32	4,37	50,75	35,48
WV-20170	WV-40363	28,43	16,24	15,22	19,96
WV-20171	WV-40363	24,24	16,75	10,96	17,31
WV-37066	WV-40363	72,94	58,81	40,92	57,56
WV-37067	WV-40363	66,96	65,85	60,36	64,39
WV-37068	WV-40363	73,66	72,30	71,41	72,46
WV-37069	WV-40363	87,13	89,14	50,75	75,67
WV-37070	WV-40363	84,22	105,77	63,05	84,34
WV-37071	WV-40363	62,83	73,71	41,78	59,44
WV-37072	WV-40363	75,03	77,78	52,60	68,47
WV-37073	WV-40363	85,10	55,41	65,89	68,80
WV-37074	WV-40363	88,38	71,51	69,74	76,54
WV-37075	WV-40363	68,79	67,16	50,63	62,19
WV-37076	WV-40363	62,02	55,05	52,91	56,66

WV-37077	WV-40363	76,72	65,53	32,37	58,21
WV-37078	WV-40363	78,74	79,92	37,11	65,25
WV-37079	WV-40363	65,36	78,81	29,79	57,99
WV-37080	WV-40363	63,19	55,56	36,07	51,60
WV-37081	WV-40363	65,59	61,12	39,69	55,47
WV-37082	WV-40363	72,40	59,86	52,69	61,65
WV-37083	WV-40363	85,98	78,86	64,36	76,40
WV-37084	WV-40363	75,67	93,25	61,72	76,88
WV-37085	WV-40363	86,04	107,79	50,80	81,54
WV-37086	WV-40363	95,36	111,85	58,16	88,46
WV-37087	WV-40363	89,45	103,95	52,61	82,00
WV-37088	WV-40363	87,91	76,75	64,01	76,22
WV-37089	WV-40363	100,36	92,30	65,95	86,20
WV-37090	WV-40363	86,67	88,29	65,24	80,06
WV-37091	WV-40363	74,12	66,72	51,23	64,02
WV-37092	WV-40363	60,39	57,35	46,99	54,91
WV-37093	WV-40363	83,99	88,96	44,62	72,52
WV-37094	WV-40363	79,91	75,07	45,25	66,74
WV-37095	WV-40363	63,93	86,93	38,91	63,25
WV-37096	WV-40363	81,75	65,29	45,46	64,17
WV-37097	WV-40363	78,27	78,26	62,99	73,17
WV-37098	WV-40363	86,22	69,64	62,67	72,84
WV-37099	WV-40363	92,84	102,91	75,28	90,34
WV-37100	WV-40363	86,80	105,87	80,65	91,11
WV-37101	WV-40363	90,09	N.D.	80,37	85,23
WV-37102	WV-40363	110,46	N.D.	79,64	95,05
WV-37103	WV-40363	91,38	N.D.	62,20	76,79
WV-37104	WV-40363	106,24	97,43	74,67	92,78
WV-37105	WV-40363	94,52	118,40	87,02	99,98
WV-37106	WV-40363	110,23	106,37	87,68	101,43
WV-37107	WV-40363	73,41	63,23	51,23	62,62
WV-37108	WV-40363	53,31	61,67	48,05	54,35
WV-37109	WV-40363	71,54	69,66	37,27	59,49
WV-37110	WV-40363	70,73	42,09	29,78	47,54

WV-37111	WV-40363	70,38	67,85	40,31	59,51
WV-37112	WV-40363	52,80	35,91	35,50	41,40
WV-37113	WV-40363	54,65	51,00	47,96	51,20
WV-37114	WV-40363	64,66	55,32	53,88	57,95
WV-37115	WV-40363	80,22	85,29	70,83	78,78
WV-37116	WV-40363	82,32	73,21	60,83	72,12
WV-37117	WV-40363	91,16	106,76	59,72	85,88
WV-37118	WV-40363	88,95	N.D.	61,73	75,34
WV-37119	WV-40363	87,06	108,90	61,37	85,77
WV-37120	WV-40363	69,33	47,63	57,36	58,11
WV-37121	WV-40363	83,06	64,63	61,87	69,86
WV-37122	WV-40363	89,04	74,15	66,60	76,60
WV-37123	WV-40363	66,61	67,70	55,68	63,33
WV-37124	WV-40363	54,72	51,03	44,47	50,07
WV-37125	WV-40363	68,04	75,16	43,85	62,35
WV-37126	WV-40363	81,19	38,73	43,76	54,56
WV-37127	WV-40363	69,97	65,19	42,54	59,23
WV-37128	WV-40363	54,50	31,02	46,52	44,01
WV-37129	WV-40363	69,74	31,66	45,79	49,06
WV-37130	WV-40363	63,26	64,17	53,82	60,41
WV-37131	WV-40363	85,74	81,85	64,21	77,27
WV-37132	WV-40363	74,41	72,40	61,94	69,58
WV-37133	WV-40363	76,35	109,05	68,49	84,63
WV-37134	WV-40363	80,81	61,10	68,98	70,29
WV-37135	WV-40363	70,27	88,91	67,45	75,54
WV-37136	WV-40363	71,74	49,72	63,42	61,63
WV-37137	WV-40363	74,75	39,95	57,70	57,47
WV-37138	WV-40363	76,91	78,79	71,99	75,90
WV-37139	WV-40363	85,10	118,16	82,25	95,17
WV-37140	WV-40363	65,22	85,65	79,36	76,74
WV-37141	WV-40363	82,89	98,23	77,03	86,05
WV-37142	WV-40363	78,05	94,95	76,48	83,16
WV-37143	WV-40363	72,73	96,10	76,22	81,68
WV-37144	WV-40363	72,45	67,03	81,19	73,55

WV-37145	WV-40363	87,85	41,90	69,26	66,34
WV-37146	WV-40363	68,25	110,87	77,03	85,38
WV-37147	WV-40363	91,35	111,82	88,71	97,29
WV-37148	WV-40363	81,26	100,21	83,63	88,37
WV-37149	WV-40363	81,23	N.D.	92,34	86,79
WV-37150	WV-40363	98,26	104,62	94,14	99,01
WV-37151	WV-40363	82,19	92,28	92,33	88,93
WV-20167	WV-40362	25,41	9,93	18,86	18,07
WV-37236	WV-40362	47,17	44,06	48,95	46,73
WV-20170	WV-40363	23,31	19,94	14,62	19,29
WV-20171	WV-40363	19,22	12,22	13,90	15,11
WV-37152	WV-40363	81,43	116,00	99,34	98,92
WV-37153	WV-40363	66,15	108,96	82,97	86,03
WV-37154	WV-40363	70,77	94,58	82,26	82,54
WV-37155	WV-40363	57,31	92,50	73,90	74,57
WV-37156	WV-40363	69,22	81,84	72,13	74,40
WV-37157	WV-40363	57,31	83,63	63,59	68,17
WV-37158	WV-40363	68,76	88,30	78,61	78,56
WV-37159	WV-40363	55,45	70,25	67,00	64,23
WV-37160	WV-40363	72,72	105,03	72,62	83,46
WV-37161	WV-40363	63,65	95,48	95,81	84,98
WV-37162	WV-40363	71,57	90,01	77,88	79,82
WV-37163	WV-40363	62,89	109,96	81,41	84,75
WV-37164	WV-40363	66,01	97,50	73,34	78,95
WV-37165	WV-40363	67,84	115,09	64,75	82,56
WV-37166	WV-40363	69,37	102,39	75,43	82,39
WV-37167	WV-40363	65,23	98,14	94,50	85,96
WV-37168	WV-40363	86,02	118,98	89,14	98,05
WV-37169	WV-40363	69,59	107,27	94,57	90,48
WV-37170	WV-40363	79,65	97,59	86,05	87,76
WV-37171	WV-40363	54,13	86,04	67,82	69,33
WV-37172	WV-40363	64,78	83,85	62,75	70,46
WV-37173	WV-40363	58,37	87,53	56,38	67,43
WV-37174	WV-40363	52,31	78,40	50,54	60,42

WV-37175	WV-40363	54,99	72,36	55,89	61,08
WV-37176	WV-40363	68,93	86,39	60,23	71,85
WV-37177	WV-40363	61,36	75,04	63,30	66,57
WV-37178	WV-40363	62,13	70,14	64,90	65,72
WV-37179	WV-40363	65,59	108,12	74,72	82,81
WV-37180	WV-40363	67,31	97,38	63,01	75,90
WV-37181	WV-40363	72,43	119,58	74,07	88,69
WV-37182	WV-40363	65,68	103,40	66,21	78,43
WV-37183	WV-40363	68,63	101,30	81,83	83,92
WV-37184	WV-40363	78,97	99,09	74,35	84,14
WV-37185	WV-40363	63,16	90,15	80,39	77,90
WV-37186	WV-40363	73,32	96,56	80,73	83,54
WV-37187	WV-40363	68,28	92,44	69,12	76,62
WV-37188	WV-40363	62,68	82,97	54,37	66,67
WV-37189	WV-40363	66,04	93,30	57,50	72,28
WV-37190	WV-40363	62,97	85,61	55,21	67,93
WV-37191	WV-40363	68,69	76,09	67,45	70,75
WV-37192	WV-40363	76,93	101,08	73,64	83,89
WV-37193	WV-40363	63,65	85,98	80,02	76,55
WV-37194	WV-40363	64,99	79,58	69,55	71,37
WV-37195	WV-40363	68,17	106,57	89,41	88,05
WV-37196	WV-40363	81,13	106,89	70,99	86,34
WV-37197	WV-40363	79,71	93,62	81,27	84,87
WV-37198	WV-40363	81,35	64,66	83,68	76,56
WV-37199	WV-40363	72,53	82,00	84,40	79,64
WV-37200	WV-40363	77,80	87,97	94,87	86,88
WV-37201	WV-40363	75,95	99,62	97,56	91,04
WV-37202	WV-40363	85,71	101,63	85,58	90,98
WV-37203	WV-40363	80,48	N.D.	96,39	88,43
WV-37204	WV-40363	88,68	N.D.	84,78	86,73
WV-37205	WV-40363	83,50	123,63	90,60	99,24
WV-37206	WV-40363	79,70	76,56	90,94	82,40
WV-37207	WV-40363	81,40	90,27	95,63	89,10
WV-37208	WV-40363	79,81	100,45	101,89	94,05

WV-37209	WV-40363	79,32	107,44	98,19	94,98
WV-37210	WV-40363	82,40	110,28	90,04	94,24
WV-37211	WV-40363	85,82	N.D.	110,27	98,04
WV-37212	WV-40363	90,48	N.D.	92,64	91,56
WV-37213	WV-40363	96,27	108,92	99,78	101,66
WV-37214	WV-40363	88,00	70,45	94,26	84,23
WV-37215	WV-40363	80,98	62,33	104,43	82,58
WV-37216	WV-40363	79,70	113,05	92,37	95,04
WV-37217	WV-40363	78,95	N.D.	123,31	101,13
WV-37218	WV-40363	91,30	N.D.	106,43	98,87
WV-37219	WV-40363	84,48	N.D.	108,47	96,47
WV-37220	WV-40363	94,09	N.D.	95,69	94,89
WV-37221	WV-40363	88,67	100,47	103,07	97,41
WV-37222	WV-40363	88,56	72,58	92,17	84,44
WV-37223	WV-40363	90,04	65,69	102,97	86,23
WV-37224	WV-40363	82,10	102,78	86,94	90,61
WV-37225	WV-40363	80,35	N.D.	115,22	97,79
WV-37226	WV-40363	84,62	117,30	85,02	95,65
WV-37227	WV-40363	88,98	N.D.	109,16	99,07
WV-37228	WV-40363	100,11	N.D.	87,09	93,60
WV-37229	WV-40363	94,02	93,66	111,07	99,58
WV-37230	WV-40363	93,38	61,69	88,98	81,35
WV-37231	WV-40363	93,62	55,05	108,66	85,78
WV-37232	WV-40363	79,85	117,65	106,50	101,33
WV-37233	WV-40363	83,92	N.D.	101,53	92,72
WV-37234	WV-40363	82,58	120,43	106,39	103,14
WV-37235	WV-40363	48,12	67,78	46,97	54,29
WV-20169	WV-40363	31,37	26,20	19,12	25,56
WV-20172	WV-40363	20,11	7,80	10,24	12,72
WV-49900	WV-49901	95,37	101,03	108,67	101,69

В таблице 23 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 500 и 1500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 23.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	500 пМ				1500 пМ			
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	Среднее
WV-49900	WV-49901	96,61	104,65	93,00	98,09	102,98	102,74	122,55	109,42
WV-20167	WV-40362	17,91	11,54	10,56	13,34	6,64	4,23	4,77	5,21
WV-36836	WV-40362	62,32	60,47	59,19	60,66	36,17	33,29	34,48	34,65
WV-36837	WV-40362	49,09	39,34	46,93	45,12	27,31	22,24	30,41	26,65
WV-36838	WV-40362	29,27	26,23	27,70	27,73	19,08	14,19	14,46	15,91
WV-36839	WV-40362	43,36	42,27	44,59	43,41	26,80	24,74	28,89	26,81
WV-36840	WV-40362	38,11	43,20	38,22	39,84	24,49	18,77	23,08	22,11
WV-36841	WV-40362	49,41	44,99	50,72	48,37	29,54	26,86	34,53	30,31
WV-36842	WV-40362	31,17	28,96	30,29	30,14	14,54	16,02	16,19	15,59
WV-36843	WV-40362	41,11	23,09	23,32	29,17	14,44	16,19	11,42	14,02
WV-36844	WV-40362	28,82	25,44	25,48	26,58	10,54	8,51	12,33	10,46
WV-36845	WV-40362	29,91	29,02	30,56	29,83	12,86	11,24	14,21	12,77
WV-36846	WV-40362	30,48	26,87	23,67	27,01	12,28	9,87	14,37	12,17
WV-36847	WV-40362	32,11	29,61	25,97	29,23	15,51	11,64	12,37	13,17
WV-36848	WV-40362	28,02	26,67	31,40	28,69	17,94	10,42	12,38	13,58

WV-36849	WV-40362	35,39	36,40	34,68	35,49	21,92	15,56	21,40	19,62
WV-36850	WV-40362	33,81	18,09	26,14	26,02	17,20	13,20	17,64	16,01
WV-36851	WV-40362	26,04	21,27	13,23	20,18	12,58	10,76	9,71	11,02
WV-36852	WV-40362	33,96	36,54	27,43	32,64	7,94	6,17	10,62	8,24
WV-36853	WV-40362	49,76	55,78	47,57	51,03	33,52	26,87	32,43	30,94
WV-36854	WV-40362	42,91	43,15	36,59	40,88	21,08	17,60	21,26	19,98
WV-36855	WV-40362	39,99	43,70	30,39	38,03	20,32	15,85	19,76	18,64
WV-36856	WV-40362	48,35	40,86	42,75	43,99	21,45	15,69	24,91	20,68
WV-36857	WV-40362	72,48	57,81	57,19	62,49	37,75	30,86	42,67	37,10

В таблице 24 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 500 и 1500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 24.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	500 пМ				1500 пМ			
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	Среднее
WV-49900	WV-49901	90,55	92,26	96,49	93,10	103,35	118,79	93,06	105,07
WV-20167	WV-40362	25,76	32,74	34,81	31,10	8,76	11,52	14,18	11,49
WV-36838	WV-40362	32,55	38,48	37,46	36,16	12,87	14,69	13,14	13,57
WV-36845	WV-40362	33,49	46,85	43,41	41,25	16,15	14,34	16,54	15,68

WV-36854	WV-40362	29,72	34,37	35,94	33,34	10,86	12,20	19,33	14,13
WV-38678	WV-40362	31,40	44,34	43,96	39,90	15,55	13,16	14,27	14,33
WV-38687	WV-40362	31,21	33,60	32,79	32,54	13,05	13,44	13,27	13,25
WV-20170	WV-40363	17,99	22,48	20,63	20,37	8,05	5,52	6,20	6,59
WV-38703	WV-40363	36,78	37,33	31,04	35,05	16,11	13,47	14,33	14,64
WV-38704	WV-40363	48,19	56,91	49,79	51,63	26,87	25,35	27,10	26,44
WV-41918	WV-40363	24,29	26,83	24,11	25,08	5,22	6,23	8,77	6,74
WV-41925	WV-40363	25,41	31,13	28,58	28,37	9,99	10,35	10,66	10,33
WV-41934	WV-40363	25,74	28,13	25,86	26,57	7,94	10,08	15,55	11,19
WV-38707	WV-40363	22,04	24,31	24,16	23,50	6,30	5,87	7,44	6,54
WV-38708	WV-40363	24,85	27,89	26,78	26,51	6,42	7,74	9,47	7,88
WV-40838	WV-40363	38,51	41,06	42,70	40,76	15,26	12,39	9,95	12,53
WV-40839	WV-40363	50,47	48,58	52,39	50,48	33,57	37,89	26,20	32,55
WV-40842	WV-40363	53,10	48,90	53,20	51,73	19,46	25,07	21,93	22,15
WV-40843	WV-40363	65,04	61,53	59,49	62,02	32,06	36,87	36,26	35,06
WV-41896	WV-40363	96,44	92,60	95,23	94,76	73,85	77,28	75,46	75,53
WV-41903	WV-40363	29,14	25,01	20,86	25,00	9,03	9,60	14,22	10,95
WV-41912	WV-40363	29,67	27,07	28,10	28,28	9,20	11,53	9,97	10,24
WV-38706	WV-40363	79,23	86,07	79,89	81,73	66,47	63,93	78,87	69,76

В таблице 25 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 150, 500, 1500, 5000 и 15000 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 25.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	Дозировка	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/ mHPRT)-3	Среднее
WV-49900	WV-49901	150 пМ	96,02	102,77	102,38	100,39
WV-20167	WV-40362	150 пМ	50,24	45,69	40,70	45,54
WV-20167	WV-36860	150 пМ	60,23	44,49	49,48	51,40
WV-20170	WV-40363	150 пМ	29,35	31,39	38,84	33,19
WV-41918	WV-40363	150 пМ	30,58	23,71	25,83	26,71
WV-38708	WV-40363	150 пМ	41,80	36,11	42,92	40,28
WV-41896	WV-40363	150 пМ	76,48	74,42	81,44	77,44
WV-38706	WV-40363	150 пМ	69,26	87,69	95,06	84,00
WV-20170	WV-36807	150 пМ	40,23	37,81	41,33	39,79
WV-41918	WV-36807	150 пМ	38,50	36,74	42,94	39,40
WV-38708	WV-36807	150 пМ	49,77	47,00	45,74	47,51
WV-41896	WV-36807	150 пМ	110,74	104,22	105,25	106,73
WV-38706	WV-36807	150 пМ	88,06	95,42	101,64	95,04
WV-49900	WV-49901	500 пМ	104,23	98,91	94,84	99,32
WV-20167	WV-40362	500 пМ	26,60	24,42	24,60	25,21
WV-20167	WV-36860	500 пМ	33,06	30,03	30,31	31,13
WV-20170	WV-40363	500 пМ	25,84	16,47	16,80	19,71
WV-41918	WV-40363	500 пМ	17,64	13,55	15,87	15,69
WV-38708	WV-40363	500 пМ	26,42	24,94	28,92	26,76

WV-41896	WV-40363	500 пМ	87,12	85,93	78,95	84,00
WV-38706	WV-40363	500 пМ	81,56	74,33	71,97	75,95
WV-20170	WV-36807	500 пМ	26,76	22,18	23,85	24,26
WV-41918	WV-36807	500 пМ	24,84	21,85	22,05	22,91
WV-38708	WV-36807	500 пМ	29,50	31,09	28,94	29,84
WV-41896	WV-36807	500 пМ	103,68	143,26	143,16	130,03
WV-38706	WV-36807	500 пМ	107,55	100,97	88,24	98,92
WV-49900	WV-49901	1500 пМ	112,91	134,40	122,26	123,19
WV-20167	WV-40362	1500 пМ	8,19	7,67	8,29	8,05
WV-20167	WV-36860	1500 пМ	12,51	9,71	9,84	10,69
WV-20170	WV-40363	1500 пМ	5,16	4,74	4,53	4,81
WV-41918	WV-40363	1500 пМ	3,58	3,24	3,22	3,35
WV-38708	WV-40363	1500 пМ	8,26	5,16	6,62	6,68
WV-41896	WV-40363	1500 пМ	69,38	64,42	64,29	66,03
WV-38706	WV-40363	1500 пМ	51,02	55,38	54,11	53,50
WV-20170	WV-36807	1500 пМ	9,50	10,57	8,88	9,65
WV-41918	WV-36807	1500 пМ	7,08	5,12	6,06	6,09
WV-38708	WV-36807	1500 пМ	9,03	9,38	9,41	9,27
WV-41896	WV-36807	1500 пМ	98,23	95,36	99,42	97,67
WV-38706	WV-36807	1500 пМ	80,66	91,38	86,02	86,02
WV-49900	WV-49901	5000 пМ	100,07	102,27	81,87	94,73
WV-20167	WV-40362	5000 пМ	0,85	0,82	1,10	0,92

WV-20167	WV-36860	5000 пМ	0,99	1,57	1,37	1,31
WV-20170	WV-40363	5000 пМ	0,39	0,49	0,47	0,45
WV-41918	WV-40363	5000 пМ	0,29	0,25	0,29	0,28
WV-38708	WV-40363	5000 пМ	1,03	0,87	1,15	1,02
WV-41896	WV-40363	5000 пМ	27,21	32,14	31,79	30,38
WV-38706	WV-40363	5000 пМ	24,76	24,66	22,34	23,92
WV-20170	WV-36807	5000 пМ	0,94	0,80	0,71	0,81
WV-41918	WV-36807	5000 пМ	0,76	0,66	0,81	0,74
WV-38708	WV-36807	5000 пМ	1,62	1,33	1,50	1,48
WV-41896	WV-36807	5000 пМ	62,88	65,19	49,27	59,11
WV-38706	WV-36807	5000 пМ	48,98	47,68	43,73	46,80
WV-49900	WV-49901	15000 пМ	82,04	92,45	97,28	90,59
WV-20167	WV-40362	15000 пМ	0,13	0,11	0,11	0,12
WV-20167	WV-36860	15000 пМ	0,14	0,15	0,12	0,14
WV-20170	WV-40363	15000 пМ	0,07	0,07	0,08	0,08
WV-41918	WV-40363	15000 пМ	0,09	0,09	0,08	0,09
WV-38708	WV-40363	15000 пМ	0,10	0,09	0,13	0,11
WV-41896	WV-40363	15000 пМ	5,62	4,76	5,78	5,39
WV-38706	WV-40363	15000 пМ	2,85	3,86	3,30	3,34
WV-20170	WV-36807	15000 пМ	0,12	0,11	0,11	0,11
WV-41918	WV-36807	15000 пМ	0,12	0,10	0,10	0,11
WV-38708	WV-36807	15000 пМ	0,12	0,11	0,12	0,12

WV-41896	WV-36807	15000 пM	15,33	16,07	19,18	16,86
WV-38706	WV-36807	15000 пM	10,75	9,67	12,04	10,82

В таблице 26 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 1500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 3. N.D.: не определяли.

Таблица 26

Направляющая нить	Сопровождающая нить	1500 пМ			Среднее
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-3	
WV-49900	WV-49901	107,54	115,74	117,06	113,45
WV-20167	WV-40362	3,34	1,93	3,08	2,78
WV-20167	WV-36860	8,82	5,79	6,40	7,00
WV-20170	WV-40363	1,44	1,22	1,06	1,24
WV-20171	WV-40363	0,68	1,12	0,93	0,91
WV-41896	WV-40363	60,04	57,71	52,98	56,91
WV-41918	WV-40363	1,01	0,80	1,27	1,03
WV-41940	WV-40363	62,58	62,64	56,27	60,50
WV-41962	WV-40363	1,08	0,86	1,09	1,01
WV-41898	WV-40363	49,00	52,27	42,96	48,08
WV-41920	WV-40363	5,56	4,74	5,00	5,10
WV-41942	WV-40363	66,92	60,95	44,46	57,44
WV-41964	WV-40363	4,70	3,14	3,41	3,75
WV-41903	WV-40363	2,94	1,81	1,21	1,98
WV-41925	WV-40363	1,72	1,57	2,02	1,77
WV-41947	WV-40363	1,80	1,66	1,55	1,67
WV-41969	WV-40363	2,18	1,37	1,39	1,65
WV-41912	WV-40363	4,06	2,98	2,43	3,16
WV-41934	WV-40363	5,91	4,85	3,83	4,86
WV-41956	WV-40363	1,99	1,37	1,11	1,49
WV-41978	WV-40363	3,57	3,91	2,67	3,38
WV-38707	WV-40363	2,46	1,84	1,66	1,99
WV-38705	WV-40363	39,28	44,35	46,34	43,32
WV-38708	WV-40363	3,71	3,33	3,31	3,45

WV-38706	WV-40363	52,95	64,35	54,93	57,41
WV-40838	WV-40363	10,86	12,30	10,00	11,05
WV-40839	WV-40363	22,46	21,43	21,70	21,86
WV-40842	WV-40363	12,05	10,97	9,13	10,72
WV-40843	WV-40363	27,11	25,19	22,55	24,95
WV-40552	WV-40363	2,27	1,87	1,93	2,02
WV-40796	WV-40363	53,50	49,82	46,08	49,80
WV-40553	WV-40363	35,91	37,91	27,48	33,77
WV-40797	WV-40363	2,28	2,29	2,39	2,32
WV-40555	WV-40363	41,17	32,79	29,76	34,57
WV-40556	WV-40363	4,22	3,08	2,88	3,39
WV-20170	WV-36807	3,75	3,54	2,68	3,33
WV-20171	WV-36807	3,55	2,86	3,09	3,17
WV-41896	WV-36807	82,67	81,17	68,35	77,40
WV-41918	WV-36807	2,96	3,02	2,89	2,96
WV-41940	WV-36807	86,80	81,43	58,67	75,63
WV-41962	WV-36807	2,37	2,40	2,89	2,55
WV-41898	WV-36807	63,54	70,06	48,58	60,73
WV-41920	WV-36807	7,33	6,92	7,30	7,19
WV-41942	WV-36807	82,75	81,08	62,78	75,54
WV-41964	WV-36807	12,51	10,66	11,10	11,42
WV-41903	WV-36807	11,77	6,75	6,18	8,23
WV-41925	WV-36807	9,43	6,50	6,86	7,60
WV-41947	WV-36807	3,90	3,70	4,76	4,12
WV-41969	WV-36807	3,25	4,68	3,79	3,91
WV-41912	WV-36807	5,70	5,49	5,55	5,58
WV-41934	WV-36807	8,70	6,24	6,85	7,27
WV-41956	WV-36807	4,74	4,67	3,59	4,33
WV-41978	WV-36807	10,22	8,28	4,95	7,82
WV-38707	WV-36807	6,97	6,90	6,17	6,68
WV-38705	WV-36807	89,45	93,28	95,44	92,72
WV-38708	WV-36807	5,43	7,21	7,29	6,64
WV-38706	WV-36807	74,66	72,74	88,37	78,59
WV-40838	WV-36807	13,29	14,64	14,92	14,28

WV-40839	WV-36807	24,03	27,29	27,16	26,16
WV-40842	WV-36807	16,33	21,71	16,66	18,23
WV-40843	WV-36807	28,61	25,99	29,22	27,94
WV-40552	WV-36807	7,05	6,72	6,35	6,71
WV-40796	WV-36807	97,37	94,73	98,84	96,98
WV-40553	WV-36807	65,82	67,99	66,69	66,83
WV-40797	WV-36807	3,85	3,85	3,47	3,72
WV-40555	WV-36807	73,07	67,36	72,64	71,02
WV-40556	WV-36807	6,01	5,13	4,26	5,13

В таблице 27 показана IC50 нокдауна мРНК TTR мыши в первичном гепатоците мыши в %

Таблица 27.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	IC50 (пМ)	95% CI
WV-20167	WV-40362	229,6	От 164,6 до 320,7
WV-43991	WV-40363	230,4	От 166,7 до 319,8
WV-43992	WV-40363	233,4	От 126,6 до 436,7
WV-43993	WV-40363	132,4	От 90,62 до 194,4
WV-43256	WV-40363	157,7	От 97,46 до 108,5
WV-43994	WV-40363	150,8	От 106,3 до 214,1
WV-41826	WV-41828	158,7	От 113,8 до 221,6
WV-42079	WV-42080	89,14	От 98,86 до 112,9
WV-43987	WV-42080	115,7	От 60,19 до 219,5
WV-43988	WV-42080	77,39	От 53,21 до 113,0
WV-43989	WV-42080	176,9	От 95,86 до 326,1
WV-43990	WV-42080	181,4	От 96,94 до 345,4

В таблице 28 показана IC50 нокдауна мРНК TTR мыши в первичном гепатоците мыши в %

Таблица 28.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	IC50 (пМ)	95% CI
WV-41826	WV-41828	235,5	От 150,8 до 366,9
WV-49611	WV-41828	122,9	От 77,73 до 194,4
WV-49612	WV-41828	279,2	От 117,4 до 704,7

WV-50481	WV-41828	83,49	От 49,54 до 141,7
WV-50482	WV-41828	123	От 63,11 до 244,6
WV-49626	WV-42080	179,6	От 122,8 до 261,3
WV-50485	WV-42080	81,39	От 56,07 до 118,6
WV-50486	WV-42080	140,1	От 70,54 до 280,8
WV-43775	WV-42080	68,77	От 19,09 до 260,1
WV-42079	WV-42080	52,2	От 28,80 до 94,41
WV-47145	WV-42080	395,6	От 167,2 до 947,3
WV-48528	WV-42080	96,52	От 29,30 до 67,14
WV-43988	WV-42080	52,02	От 33,27 до 81,97
WV-43989	WV-42080	38,46	От 26,07 до 57,05

В **таблице 29** показана IC₅₀ нокдауна мРНК TTR мыши в первичном гепатоците мыши в %

Таблица 29.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	IC ₅₀ (пМ)	95% CI
WV-49611	WV-41828	99,01	От 78,70 до 124,6
WV-49612	WV-41828	202,5	От 118,4 до 343,8
WV-51122	WV-42080	60,81	От 43,14 до 85,75
WV-47145	WV-42080	80,05	От 67,43 до 94,97
WV-48528	WV-42080	78,69	От 50,64 до 122,2

В **таблице 30** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 50, 150 и 500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 30.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	50 пМ			150 пМ			500 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-47145	WV-42080	18,54	58,03	38,29	40,40	31,69	36,05	18,91	11,89	15,40
WV-48528	WV-42080	66,14	66,80	66,47	52,11	34,67	43,39	25,05	12,72	18,88
WV-43775	WV-42080	64,57	54,38	59,47	46,50	29,62	38,06	19,48	11,18	15,33
WV-50034	WV-42080	17,77	61,43	39,60	42,33	37,07	39,70	10,11	15,08	12,60
WV-50035	WV-42080	88,76	63,78	76,27	48,30	42,39	45,34	17,35	11,65	14,50
WV-50036	WV-42080	83,38	61,35	72,36	54,55	32,65	43,60	16,24	17,73	16,99
WV-50037	WV-42080	98,10	58,76	78,43	55,32	34,08	44,70	17,56	15,86	16,71
WV-50040	WV-42080	84,62	71,78	78,20	59,95	46,31	53,13	19,75	18,18	18,96
WV-50041	WV-42080	84,67	64,98	74,82	55,01	33,60	44,30	14,27	10,92	12,60
WV-50042	WV-42080	96,57	56,59	76,58	42,37	37,27	39,82	15,71	9,42	12,57
WV-50043	WV-42080	74,49	57,63	66,06	43,91	24,10	34,00	15,77	0,74	8,25
WV-50044	WV-42080	80,75	75,71	78,23	42,51	36,57	39,54	17,82	11,97	14,90
WV-50045	WV-42080	87,50	69,84	78,67	51,25	41,11	46,18	22,49	15,26	18,88
WV-50046	WV-42080	83,16	59,91	71,54	49,10	32,75	40,92	16,77	10,74	13,76

WV-50047	WV-42080	89,67	57,42	73,54	54,10	32,49	43,29	20,16	12,08	16,12
WV-50048	WV-42080	67,39	67,33	67,36	39,72	36,22	37,97	20,67	13,05	16,86
WV-50049	WV-42080	90,06	56,04	73,05	47,87	30,22	39,04	19,52	9,84	14,68
WV-50113	WV-42080	80,29	64,17	72,23	56,55	46,21	51,38	26,75	18,92	22,83
WV-50114	WV-42080	10,59	59,41	35,00	59,48	34,77	47,12	16,93	12,84	14,88
WV-50115	WV-42080	83,46	73,69	78,57	61,56	50,80	56,18	27,45	22,91	25,18
WV-50116	WV-42080	115,59	92,95	104,27	84,73	60,89	72,81	41,78	34,24	38,01

В таблице 31 показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 50, 150 и 500 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 31.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	50 пМ			150 пМ			500 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
WV-47145	WV-42080	66,90	52,48	59,69	40,32	34,62	37,47	10,54	12,78	11,66
WV-48528	WV-42080	58,46	50,72	54,59	40,14	38,56	39,35	10,14	12,57	11,36
WV-50101	WV-42080	54,15	54,27	54,21	44,02	38,81	41,41	11,45	14,96	13,21
WV-50102	WV-42080	56,36	48,10	52,23	33,41	34,93	34,17	6,81	10,96	8,89
WV-50103	WV-42080	79,14	75,75	77,44	51,09	61,68	56,38	16,49	23,00	19,74

WV-50104	WV-42080	61,00	56,12	58,56	35,55	40,89	38,22	11,85	14,93	13,39
WV-50105	WV-42080	62,71	56,09	59,40	46,62	37,68	42,15	10,24	15,09	12,66
WV-50106	WV-42080	67,49	51,39	59,44	41,58	35,45	38,51	12,35	10,67	11,51
WV-50108	WV-42080	65,67	52,18	58,92	35,21	39,04	37,12	11,30	10,41	10,86
WV-50110	WV-42080	71,41	52,67	62,04	38,74	47,09	42,91	8,84	12,17	10,50
WV-50112	WV-42080	60,47	52,99	56,73	37,03	35,37	36,20	9,84	10,07	9,95

ПРИМЕР 10. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными *in vivo*

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки действенности и воздействия в печени представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 2 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 8 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. После перфузии сердца с помощью PBS собирали образцы печени и подвергали мгновенной заморозке в сухом льду. После лизиса ткани с помощью TRIzol и бромхлорпропана общую РНК печени экстрагировали с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. Накопление олигонуклеотида в печени определяли с помощью гибридного ELISA.

Анализ с помощью иммунопреципитации Ago2. Ткани (в которые вводили дозу 1 мг/кг) лизировали в буфере для лизиса, 50 mM Tris-HCl с pH 7,5, 200 mM NaCl, 0,5% Triton X-100, 2 mM EDTA, 1 мг/мл гепарина), с ингибитором протеаз (Sigma-Aldrich). Концентрацию в лизате измеряли с помощью набора для количественного определения белка с помощью BCA (Pierce BCA protein assay kit или Bradford protein assay kit). Антитело к Ago2 приобретали у Wako Chemicals. Контрольные IgG мыши получали от eBioscience. Для осаждения антител применяли Dynabeads (Invitrogen). Уровень ассоциированной с Ago2 siRNA и эндогенной miR122 измеряли с помощью Stem-Loop RT с последующим ПЦР-анализом TaqMan с применением miRNA Taqman и набора для анализа siRNA (Thermo fisher) на основе способов изготовителя.

Для оценки долговременной устойчивости представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 6 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. В день 1 (введение предварительной дозы), а затем каждую неделю собирали цельную кровь путем извлечения крови из подчелюстной зоны в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Crystal Chem) и следовали инструкциям производителя.

В таблице 32 показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 32.

PBS		WV-49900/WV-49901		WV-20167/WV-40362		WV-20169/WV-40363	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR
1	118	6	120	11	9	16	8
2	107	7	113	12	8	17	16
3	59	8	126	13	4	18	6
4	121	9	128	14	7	19	9
5	94	10	121	15	9	20	12
Среднее	100	Среднее	122	Среднее	7	Среднее	10
WV-20170/WV-40363		WV-20171/WV-40363		WV-20172/WV-40363		WV-20183/WV-40363	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR
21	4	26	2	31	1	36	36
22	5	27	2	32	4	37	42
23	3	28	1	33	2	38	31
24	2	29	2	34	3	39	57
25	4	30	2	35	4	40	44
Среднее	4	Среднее	2	Среднее	3	Среднее	42

В таблице 33 показано накопление антисмысловой нити в ткани печени. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 33.

PBS	WV-49900/WV-49901	WV-20167/WV-40362	WV-20169/WV-40363
-----	-------------------	-------------------	-------------------

№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)
1	0	6	0,684	11	0,309	16	0,568
2	0	7	0,588	12	0,255	17	0,733
3	0	8	0,527	13	0,653	18	0,599
4	0	9	0,517	14	0,388	19	0,470
5	0	10	0,547	15	0,540	20	0,250
Среднее	0	Среднее	0,573	Среднее	0,429	Среднее	0,524
WV-20170/WV-40363		WV-20171/WV-40363		WV-20172/WV-40363		WV-20183/WV-40363	
№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)
21	0,676	26	0,526	31	0,753	36	0,034
22	0,671	27	1,352	32	0,771	37	0,032
23	0,798	28	1,038	33	0,880	38	0,023
24	0,685	29	0,570	34	0,820	39	0,041
25	0,707	30	1,156	35	0,900	40	0,045
Среднее	0,707	Среднее	0,929	Среднее	0,825	Среднее	0,035

В таблице 34 показана загрузка в Ago2 направляющей нити относительно miR-122. N = 5.

Таблица 34.

	Ct: mTTR/Ago 2	Ct: miR-122/Ago2	Ct: mTTR/Ig G	Ct: miR-122/IgG	Отношение mTTR/miR122
WV-20167/WV-40362-1	36,99	20,84	38,11	28,72	0,04
WV-20167/WV-40362-2	32,95	20,68	37,78	28,61	1,16

WV-20167/WV-40362-3	32,44	21,38	37,74	28,58	2,72
WV-20167/WV-40362-4	31,97	20,51	37,73	28,48	2,08
WV-20167/WV-40362-5	32,51	20,75	38,11	29,11	1,68
WV-20169/WV-40363-1	32,81	22,55	38,27	29,45	4,75
WV-20169/WV-40363-2	31,81	21,3	38,15	30,17	4,03
WV-20169/WV-40363-3	36,63	22,06	38,57	30,52	0,18
WV-20169/WV-40363-4	32,53	21,4	38,83	32,01	2,62
WV-20169/WV-40363-5	36,71	21,99	38,68	31,27	0,16
WV-20170/WV-40363-1	31,19	20,39	37,56	29,95	3,30
WV-20170/WV-40363-2	30,54	20,17	37,51	29,97	4,46
WV-20170/WV-40363-3	38,05	24,81	37,53	29,95	-0,27
WV-20170/WV-40363-4	30,67	20,08	37,5	30,39	3,83
WV-20170/WV-40363-5	30,62	20,52	37,55	30,63	5,38
WV-20171/WV-40363-1	31,62	22,04	37,87	31,14	7,68
WV-20171/WV-40363-2	36,56	22,62	38,11	31,25	0,25
WV-20171/WV-40363-3	30,75	21,16	38,33	31,52	7,69
WV-20171/WV-40363-4	32,62	22,61	38,27	32,34	5,66

WV-20171/WV-40363-5	36,86	23,58	38,61	32,52	0,42
WV-20172/WV-40363-1	32,2	20,94	38,03	29,18	2,39
WV-20172/WV-40363-2	32,82	22,25	37,67	28,15	3,78
WV-20172/WV-40363-3	31,19	21,11	37,74	28,52	5,44
WV-20172/WV-40363-4	31,57	20,4	37,96	29,1	2,55
WV-20172/WV-40363-5	31,65	20,84	37,84	29,14	3,27
WV-20183/WV-40363-1	37,62	20,1	38,11	29,18	0,01
WV-20183/WV-40363-2	38,09	21,49	38,08	29,06	0,00
WV-20183/WV-40363-3	38,24	22,65	38,04	29,28	-0,02
WV-20183/WV-40363-4	38,4	23,17	38,12	28,22	-0,03
WV-20183/WV-40363-5	38,53	24,65	38,5	29,43	-0,01

В таблице 35 показан % оставшегося белка TTR мышцы относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 35.

День	PBS					Среднее
	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	
1	105	102	89	102	103	100
8	109	81	103	99	109	100
15	94	111	92	100	103	100
22	82	115	110	79	113	100
29	117	93	91	98	101	100
36	122	79	94	96	109	100

43	123	97	109	82	89	100
50	112	105	87	97	98	100
64	104	98	95	94	108	100
WV-20167/WV-40362						
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	121	102	103	N.D.	106	108
8	2	2	2	N.D.	2	2
15	2	2	3	N.D.	2	2
22	3	5	3	N.D.	2	3
29	5	16	10	N.D.	7	10
36	21	34	21	N.D.	15	23
43	41	56	40	N.D.	35	43
50	76	107	91	N.D.	68	86
64	77	98	114	N.D.	85	93
WV-49900/WV-49901						
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее
1	109	121	79	114	136	112
8	100	109	77	108	107	100
15	103	92	79	111	92	96
22	82	86	86	78	142	95
29	110	99	87	95	113	101
36	96	87	83	107	93	93
43	91	99	49	79	88	81
50	106	112	80	100	144	108
64	101	103	83	99	120	101
WV-20169/WV-40363						
День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	78	126	111	96	124	107
8	2	2	2	3	2	2
15	3	2	2	8	8	5
22	12	4	5	30	6	11

29	49	21	24	69	29	38
36	64	40	49	68	42	53
43	72	60	72	87	89	76
50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
WV-20170/WV-40363						
Ден ь	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Средне е
1	132	110	74	106	85	102
8	2	1	2	2	2	2
15	2	2	1	2	2	2
22	2	1	1	1	1	1
29	2	2	2	2	2	2
36	2	5	4	3	3	3
43	4	10	10	6	6	7
50	18	28	33	19	20	23
64	60	80	68	62	56	65
WV-20171/WV-40363						
Ден ь	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Средне е
1	91	76	82	73	96	83
8	1	1	1	1	2	1
15	1	1	1	1	1	1
22	1	1	1	2	1	1
29	5	5	3	11	3	5
36	14	14	9	20	12	14
43	32	39	21	40	27	32
50	69	75	59	77	74	71
64	97	94	79	75	89	87
WV-20172/WV-40363						
Ден ь	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Средне е
1	97	78	97	87	103	92
8	2	2	2	2	2	2

15	1	1	1	1	2	1
22	1	1	1	1	1	1
29	4	3	2	2	2	3
36	9	6	5	4	4	6
43	27	14	13	7	11	14
50	57	35	36	28	34	38
64	90	94	81	87	76	86
WV-20183/WV-40363						
День	Животное	Животное	Животное	Животное	Животное	Среднее
	36	37	38	39	40	е
1	91	81	117	106	86	96
8	7	6	7	6	6	6
15	16	13	19	14	17	16
22	25	24	30	25	23	26
29	81	79	84	76	80	80
36	83	89	84	79	83	84
43	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
50	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
64	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

ПРИМЕР 11. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными *in vivo*

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки долговременной устойчивости представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 2 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. В день 1 (введение предварительной дозы), а затем каждую неделю собирали цельную кровь путем извлечения крови из подчелюстной зоны в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Crystal Chem) и следовали инструкциям производителя.

В **таблице 36** показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 36.

PBS						
День	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	Среднее
1	99	95	98	98	110	100
8	98	103	121	89	88	100
15	83	100	115	88	113	100
22	78	104	126	96	96	100
29	96	104	113	97	90	100
36	102	95	118	83	102	100
43	98	82	116	86	118	100
50	94	92	112	99	103	100
WV-49900/WV-49901						
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	116	89	92	71	108	95
8	120	80	74	75	113	92
15	112	97	102	87	108	101
22	134	108	109	107	117	115
29	113	91	100	108	123	107
36	113	86	84	76	113	94
43	119	97	127	117	113	115
50	119	90	89	83	111	99
WV-20167/WV-40362						
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее
1	100	79	97	96	91	93
8	6	6	3	4	4	5
15	11	16	5	8	11	10
22	30	59	18	24	25	31
29	67	85	39	68	64	65
36	79	78	54	74	72	71
43	113	69	104	108	111	101
50	106	93	97	95	95	97
WV-20171/WV-40363						
День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	92	103	66	86	102	90
8	3	2	4	3	2	3

15	4	5	9	4	5	5
22	7	15	29	14	18	16
29	29	54	70	49	45	49
36	59	94	76	87	77	79
43	112	112	99	110	102	107
50	99	109	93	110	94	101
WV-43256/WV-40363						
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	90	84	92	93	99	92
8	3	4	4	4	4	4
15	5	5	5	4	7	5
22	13	13	13	14	12	13
29	37	35	32	35	36	35
36	64	64	56	60	63	61
43	88	96	95	101	103	97
50	101	101	97	99	104	100
WV-20170/WV-40363						
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	81	61	62	84	101	78
8	4	4	6	3	3	4
15	3	9	9	5	3	6
22	7	16	19	11	6	12
29	20	40	40	24	16	28
36	37	48	56	34	35	42
43	69	86	70	79	127	86
50	87	82	67	94	84	83
WV-38708/WV-40363						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	87	98	75	53	77	78
8	3	3	4	5	3	3
15	5	4	5	8	3	5
22	11	4	8	16	9	10
29	27	12	22	43	27	26
36	52	22	41	50	47	42

43	91	44	61	78	91	73
50	87	62	91	71	89	80
WV-38708/WV-36807						
День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	83	81	87	106	104	92
8	N.D.	16	13	21	11	15
15	27	32	29	36	23	29
22	52	53	47	58	56	53
29	84	89	98	92	77	88
36	94	81	96	89	83	88
43	101	102	113	115	99	106
50	96	103	99	99	91	97

ПРИМЕР 12. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными

in vivo

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки действенности и воздействия в печени представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 0,5 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 8 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. После перфузии сердца с помощью PBS собирали образцы печени и подвергали мгновенной заморозке в сухом льду. После лизиса ткани с помощью TRIzol и бромхлорпропана общую РНК печени экстрагировали с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. Накопление олигонуклеотида в печени определяли с помощью гибридного ELISA.

Анализ с помощью иммунопреципитации Ago2. Ткани (в которые вводили дозу 1 мг/кг) лизировали в буфере для лизиса, 50 mM Tris-HCl с pH 7,5, 200 mM NaCl, 0,5% Triton X-100, 2 mM EDTA, 1 мг/мл гепарина), с ингибитором протеаз (Sigma-Aldrich). Концентрацию в лизате измеряли с помощью набора для количественного определения белка с помощью BCA (Pierce BCA protein assay kit или Bradford protein assay kit). Антитело к Ago2 приобретали у Wako Chemicals. Контрольные IgG мыши получали от eBioscience. Для

осаждения антител применяли Dynabeads (Invitrogen). Уровень ассоциированной с Ago2 siRNA и эндогенной miR122 измеряли с помощью Stem-Loop RT с последующим ПЦР-анализом TaqMan с применением miRNA Taqman и набора для анализа siRNA (Thermo fisher) на основе способов изготовителя.

Для оценки долговременной устойчивости представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 0,5 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. В день 1 (введение предварительной дозы), а затем каждую неделю собирали цельную кровь путем извлечения крови из подчелюстной зоны в пробирки для отделения сыворотки крови и обработанные образцы сыворотки крови сохраняли при -70°C. Концентрацию белка TTR мыши в сыворотке крови оценивали с применением набора Mouse Prealbumin ELISA (Crystal Chem) и следовали инструкциям производителя.

В **таблице 37** показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 37.

PBS		WV-49613/WV-49615		WV-49614/WV-49615		WV-49611/WV-41828	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR
1	69	6	85	11	96	16	14
2	66	7	94	12	103	17	10
3	147	8	112	13	62	18	20
4	103	9	91	14	109	19	18
5	116	10	100	15	84	20	23
Среднее	100	Среднее	96	Среднее	91	Среднее	17
WV-49612/WV-41828		WV-51122/WV-42080		WV-47145/WV-42080		WV-48528/WV-42080	
№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR	№ животного	% оставшегося белка mTTR

21	25	26	8	31	14	36	8
22	15	27	16	32	4	37	6
23	38	28	8	33	7	38	5
24	11	29	5	34	5	39	7
25	18	30	12	35	9	40	9
Среднее	22	Среднее	10	Среднее	8	Среднее	7

В таблице 38 показано накопление антисмысловой нити в ткани печени. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 38.

PBS		WV-49613/WV-49615		WV-49614/WV-49615		WV-49611/WV-41828	
№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)
1	0	6	0,059	11	0,098	16	0,015
2	0	7	0,066	12	0,109	17	0,018
3	0	8	0,069	13	0,103	18	0,023
4	0	9	0,060	14	0,107	19	0,019
5	0	10	0,063	15	0,108	20	0,024
Среднее	0	Среднее	0,063	Среднее	0,105	Среднее	0,020
WV-49612/WV-41828		WV-51122/WV-42080		WV-47145/WV-42080		WV-48528/WV-42080	
№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)	№ животного	Антисмысл овая нить (мкг/г ткани)
21	0,038	26	0,023	31	0,053	36	0,077
22	0,047	27	0,017	32	0,065	37	0,071
23	0,041	28	0,044	33	0,073	38	0,060
24	0,014	29	0,050	34	0,057	39	0,061
25	0,063	30	0,044	35	0,066	40	0,062
Среднее	0,040	Среднее	0,036	Среднее	0,063	Среднее	0,066

В таблице 39 показана загрузка в Ago2 направляющей нити относительно miR-122. N = 5.

Таблица 39.

	Ct: mTTR/Ago2	Ct: miR- 122/Ago2	Ct: mTTR/IgG	Ct: miR- 122/IgG	Отношение mTTR/miR122
WV- 49611/WV- 41828-1	39,03	21,41	39,3	32,01	0,18
WV- 49611/WV- 41828-2	38,49	20,14	39,37	30,37	0,28
WV- 49611/WV- 41828-3	38,15	20,46	39,35	31,72	0,55
WV- 49611/WV- 41828-4	38,35	20,2	39,4	30,51	0,37
WV- 49611/WV- 41828-5	38,64	22,15	39,36	29,69	0,88
WV- 49612/WV- 41828-1	38,35	20,91	39,57	29,59	0,66
WV- 49612/WV- 41828-2	38,92	21,82	39,73	29,81	0,63
WV- 49612/WV- 41828-3	38,73	20,9	39,26	30,62	0,27
WV- 49612/WV- 41828-4	37,57	20,78	39,68	30,29	1,40

WV- 49612/WV- 41828-5	38,63	21,32	39,65	32,23	0,65
WV- 51122/WV- 42080-1	39,43	23,27	39,39	30,26	-0,08
WV- 51122/WV- 42080-2	38,69	21,45	39,52	30,24	0,59
WV- 51122/WV- 42080-3	38,11	21,58	39,49	30,93	1,35
WV- 51122/WV- 42080-4	37,48	21,79	39,35	30,74	2,85
WV- 51122/WV- 42080-5	37,67	21,54	39,23	30,61	1,91
WV- 47145/WV- 42080-1	37,54	21,76	39,43	30,89	2,69
WV- 47145/WV- 42080-2	37,19	21,63	39,19	31,43	3,22
WV- 47145/WV- 42080-3	37,67	21,18	39,53	31,39	1,63
WV- 47145/WV- 42080-4	37,54	21,68	39,23	32,22	2,40
WV- 47145/WV- 42080-5	38,04	22,62	39,22	30,66	2,64

WV- 48528/WV- 40363-1	37,47	21,51	39,68	30,15	2,55
WV- 48528/WV- 40363-2	37,14	20,67	39,05	29,81	1,67
WV- 48528/WV- 40363-3	37,15	20,74	39,1	30,03	1,76
WV- 48528/WV- 40363-4	37,35	21,03	39,35	29,6	1,90
WV- 48528/WV- 40363-5	37,1	20,69	39,55	30,47	1,94

В таблице 40 показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 40.

	PBS					
День	Животное 1	Животное 2	Животное 3	Животное 4	Животное 5	Среднее
1	105	85	100	101	109	100
8	115	89	100	95	101	100
15	110	91	97	98	103	100
29	114	100	91	89	106	100
43	143	80	87	85	105	100
	WV-49613/WV-49615					
День	Животное 6	Животное 7	Животное 8	Животное 9	Животное 10	Среднее
1	71	94	104	129	99	99
8	73	81	89	79	76	79
15	93	90	91	112	103	98
29	81	76	84	86	79	81
43	77	79	99	N.D.	98	88
	WV-49614/WV-49615					
День	Животное 11	Животное 12	Животное 13	Животное 14	Животное 15	Среднее

1	119	83	110	105	107	105
8	62	N.D.	72	60	73	67
15	79	78	105	90	100	90
29	78	64	89	82	86	80
43	106	68	103	116	106	100
WV-49611/WV-41828						
День	Животное 16	Животное 17	Животное 18	Животное 19	Животное 20	Среднее
1	110	100	120	114	116	112
8	16	19	22	18	26	21
15	26	34	29	24	42	31
29	39	49	65	54	65	54
43	80	99	76	82	76	83
WV-49612/WV-41828						
День	Животное 21	Животное 22	Животное 23	Животное 24	Животное 25	Среднее
1	114	117	103	122	134	118
8	66	66	84	50	48	63
15	46	52	79	54	35	53
29	70	53	66	54	47	58
43	87	119	88	100	90	97
WV-51122/WV-42080						
День	Животное 26	Животное 27	Животное 28	Животное 29	Животное 30	Среднее
1	143	120	126	115	118	124
8	13	13	8	15	12	12
15	15	33	14	25	15	20
22	52	N.D.	44	69	39	51
29	86	83	84	96	99	90
WV-47145/WV-42080						
День	Животное 31	Животное 32	Животное 33	Животное 34	Животное 35	Среднее
1	111	121	114	116	95	111
8	9	6	11	16	11	11
15	13	13	9	17	17	14
29	42	32	30	37	43	37
43	71	69	77	69	80	73
WV-48528/WV-42080						

День	Животное 36	Животное 37	Животное 38	Животное 39	Животное 40	Среднее
1	90	83	98	94	95	92
8	10	16	7	5	10	9
15	11	21	17	9	10	14
29	28	40	42	28	24	32
43	61	88	120	69	61	80

ПРИМЕР 13. Представленные олигонуклеотиды и композиции являются активными

in vivo

Определение активности siRNA к TTR мыши *in vivo*. Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки действенности и воздействия в печени представленных олигонуклеотидов и композиций самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 2 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 8 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. После перфузии сердца с помощью PBS собирали образцы печени и подвергали мгновенной заморозке в сухом льду. После лизиса ткани с помощью TRIzol и бромхлорпропана общую РНК печени экстрагировали с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. Накопление олигонуклеотида в печени определяли с помощью гибридного ELISA.

Анализ с помощью иммунопреципитации Ago2. Ткани (в которые вводили дозу 1 мг/кг) лизировали в буфере для лизиса, 50 mM Tris-HCl с pH 7,5, 200 mM NaCl, 0,5% Triton X-100, 2 mM EDTA, 1 мг/мл гепарина), с ингибитором протеаз (Sigma-Aldrich). Концентрацию в лизате измеряли с помощью набора для количественного определения белка с помощью BCA (Pierce BCA protein assay kit или Bradford protein assay kit). Антитело к Ago2 приобретали у Wako Chemicals. Контрольные IgG мыши получали от eBioscience. Для осаждения антител применяли Dynabeads (Invitrogen). Уровень ассоциированной с Ago2 siRNA и эндогенной miR122 измеряли с помощью Stem-Loop RT с последующим ПЦР-анализом TaqMan с применением miRNA Taqman и набора для анализа siRNA (Thermo fisher) на основе способов изготовителя.

В **таблице 41** показан % оставшегося белка TTR мыши относительно контроля с PBS. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 41.

PBS		WV-49900/WV-49901		WV-20167/WV-40362		WV-20170/WV-40363	
№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР
1	112	6	111	11	9	16	6
2	122	7	100	12	11	17	8
3	85	8	112	13	9	18	8
4	74	9	113	14	5	19	6
5	106	10	116	15	6	20	5
Среднее	100	Среднее	110	Среднее	8	Среднее	7
WV-41918/WV-40363		WV-41896/WV-40363		WV-38708/WV-40363		WV-38706/WV-40363	
№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР	№ животного	% оставшегося белка мТТР
21	1	26	117	31	6	36	120
22	3	27	99	32	6	37	117
23	2	28	96	33	7	38	124
24	1	29	110	34	8	39	132
25	4	30	105	35	6	40	111
Среднее	2	Среднее	105	Среднее	6	Среднее	121

В таблице 42 показано накопление антисмысловой нити в ткани печени. N = 5. N.D.: не определяли.

Таблица 42.

PBS		WV-49900/WV-49901		WV-20167/WV-40362		WV-20170/WV-40363	
№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г)	№ животного	Антисмысловая нить (мкг/г)

	ткани)		ткани)		ткани)		ткани)
1	0	6	0,073	11	0,051	16	0,053
2	0	7	0,072	12	0,064	17	0,152
3	0	8	0,085	13	0,070	18	0,078
4	0	9	0,087	14	0,076	19	0,043
5	0	10	0,087	15	0,110	20	0,105
Средне е	0	Средне е	0,081	Средне е	0,074	Средне е	0,086
WV-41918/WV-40363							
WV-41918/WV-40363		WV-41896/WV-40363		WV-38708/WV-40363		WV-38706/WV-40363	
№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)	№ животн ого	Антисмыс ловая нить (мкг/г ткани)
21	0,337	26	0,148	31	0,195	36	0,080
22	0,242	27	0,059	32	0,149	37	0,164
23	0,205	28	0,134	33	0,257	38	0,053
24	0,181	29	0,165	34	0,144	39	0,049
25	0,145	30	0,120	35	0,259	40	0,030
Средне е	0,222	Средне е	0,125	Средне е	0,201	Средне е	0,075

В таблице 43 показана загрузка в Ago2 направляющей нити относительно miR-122. N = 5.

Таблица 43.

	Ct: mTTR/Ago2	Ct: miR- 122/Ago2	Ct: mTTR/IgG	Ct: miR- 122/IgG	Отношение mTTR/miR122
WV- 20167/WV- 40362-1	28,82	17,83	34,06	29,89	0,80
WV- 20167/WV- 40362-2	28,9	18,14	33,62	29,13	0,93

WV- 20167/WV- 40362-3	28,88	17,27	32,91	28,41	0,50
WV- 20167/WV- 40362-4	27,79	17,45	32,57	29,09	1,25
WV- 20167/WV- 40362-5	28,03	18,17	32	24,73	1,69
WV- 20170/WV- 40363-1	29,36	20,25	32,49	30,44	2,69
WV- 20170/WV- 40363-2	28,76	18,36	34,63	30,96	1,22
WV- 20170/WV- 40363-3	30,14	18,21	33,17	31,1	0,38
WV- 20170/WV- 40363-4	29,38	19,09	32,85	30,55	1,22
WV- 20170/WV- 40363-5	28,91	18,37	32,48	30,09	1,03
WV- 41918/WV- 40363-1	29,03	18,41	31,51	29,47	0,87
WV- 41918/WV- 40363-2	28,7	18,17	31,76	29,68	1,00
WV- 41918/WV- 40363-3	29,1	19,86	32	29,84	2,40

WV- 41918/WV- 40363-4	28,36	18,2	31,11	29,57	1,25
WV- 41918/WV- 40363-5	28,45	18,46	31,4	30,18	1,44
WV- 41896/WV- 40363-1	26,69	18,14	31,81	29,42	4,35
WV- 41896/WV- 40363-2	26,74	18,31	33,12	30,13	4,81
WV- 41896/WV- 40363-3	27	18,11	31,98	30,09	3,42
WV- 41896/WV- 40363-4	27,18	17,38	31,65	29,45	1,80
WV- 41896/WV- 40363-5	26,17	18,1	32,28	28,84	6,15
WV- 38708/WV- 40363-1	29,84	17,74	32,16	28,71	0,31
WV- 38708/WV- 40363-2	30,07	17,6	32,23	29,24	0,23
WV- 38708/WV- 40363-3	30,75	17,42	31,54	29,35	0,07
WV- 38708/WV- 40363-4	30,1	17,94	31,59	30,05	0,24

WV- 38708/WV- 40363-5	30,61	19,05	31,2	30,81	0,19
WV- 38706/WV- 40363-1	28,36	19,26	31,79	29,26	2,77
WV- 38706/WV- 40363-2	28,07	18,96	30,91	28,21	2,61
WV- 38706/WV- 40363-3	27,6	19,48	31,88	28,47	5,72
WV- 38706/WV- 40363-4	28,26	18,68	31,65	28,19	1,98
WV- 38706/WV- 40363-5	28,21	18,34	31,91	28,65	1,65

ПРИМЕР 14. Анализ нецелевых эффектов представленных олигонуклеотидов и композиций *in vitro* с помощью RNAseq

Разрабатывали и конструировали различные siRNA для TTR мыши. Для оценки нецелевых эффектов стереохимии ряд siRNA тестировали *in vitro* на первичных гепатоцитах мыши. siRNA доставляли гипнотическим способом в первичные гепатоциты мыши, высеянные в 24-луночные планшеты при 40000 клеток/луночка. Конечная концентрация siRNA составляла либо 0,2, либо 2 мкМ. После обработки в течение 48 часов экстрагировали общую РНК с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Библиотеку получали с применением набора для получения библиотек 3'-mRNA-Seq QuantSeq (Lexogen GmbH) в соответствии с протоколом изготовителя. Секвенирование проводили на чипе NovaSeq SP в центральной лаборатории Гарвардского университета. Нецелевые эффекты оценивали путем применения DEseq2 с определением генов с дифференциальной экспрессией по сравнению с образцом, обработанным PBS.

В таблице 44 показано количество генов со сниженной, неизменной и повышенной экспрессией.

Таблица 44.

	0,2 мкМ siRNA			2 мкМ siRNA		
	Сниженная экспрессия	Неизменная экспрессия	Повышенная экспрессия	Сниженная экспрессия	Неизменная экспрессия	Повышенная экспрессия
WV-49613/WV-49615	0	55421	0	1	55420	0
WV-49614/WV-49615	0	55421	0	2	55419	0
WV-41826/WV-41828	3	55418	0	9	55403	9
WV-49611/WV-41828	9	55409	3	48	55370	3
WV-49612/WV-41828	1	55419	1	8	55411	2
WV-49626/WV-42080	1	55420	0	127	55288	6
WV-43775/WV-42080	4	55415	2	7	55413	1
WV-51122/WV-42080	3	55416	2	96	55312	13

WV-47145/WV-42080	2	55418	1	9	55411	1
WV-48528/WV-42080	5	55413	3	6	55411	4

ПРИМЕР 15. Представленные олигонуклеотиды и композиции хорошо переносятся мышами дикого типа

Все процедуры на животных выполняли в соответствии с рекомендациями IACUC. Для оценки влияния представленных олигонуклеотидов и композиции на функцию печени самцам мышей C57BL/6 возрастом 8-10 недель вводили дозу 1,5 или 15 мг/кг при требуемой концентрации олигонуклеотида в день 1, 8 и 15 путем подкожного введения. Животных умерщвляли в день 16 путем удушения с помощью CO₂ с последующими торакотомией и конечным сбором крови. Конечный образец сыворотки крови анализировали в Charles River Laboratories (CRL, Шрусбери, Массачусетс) с применением клинически валидированных анализов на приборе AU640.

В **таблице 45** показаны результаты оценки биомаркеров в сыворотке крови после повторного введения дозы у мышей дикого типа. N = 5. N.D.: не определяли. ALT: аланинтрансаминаза; AST: аспартаттрансаминаза; ALP: щелочная фосфатаза; ALB: альбумин; TP: общий уровень белка.

Таблица 45.

PBS					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
1	29	54	52	3,8	6,1
2	23	43	47	3,7	5,5
3	22	54	53	3,8	6
4	24	116	73	4,3	6,7
5	27	59	97	3,8	6,2
Среднее	25	65	64	3,9	6,1
WV-49611/WV-41828, 1,5 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
6	30	67	47	3,4	5,7
7	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	6,1
8	22	51	52	3,8	5,9
9	34	89	68	3,7	5,8
10	25	84	86	4,1	5,9
Среднее	28	73	63	3,8	5,9
WV-49611/WV-41828, 15 мг/кг					

№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
11	63	188	77	4	6,2
12	25	39	66	4	6,3
13	35	76	52	3,7	5,6
14	27	40	61	3,6	6
15	25	69	65	4,1	6,1
Среднее	35	82	64	3,9	6
WV-51122/WV-42080, 1,5 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
16	32	45	47	3,5	5,9
17	216	182	67	3,8	6,2
18	18	67	45	3,6	5,7
19	28	79	73	3,9	6,3
20	49	72	75	4	6,1
Среднее	69	89	61	3,8	6
WV-51122/WV-42080, 15 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
21	26	61	68	3,8	6,1
22	34	77	75	3,7	6,2
23	87	86	77	3,7	5,6
24	27	57	84	4,1	6,2
25	25	70	49	4,2	6,6
Среднее	40	70	71	3,9	6,1
WV-47145/WV-42080, 1,5 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
26	25	51	51	3,6	6
27	25	46	57	3,5	5,8
28	24	43	62	4	6,5
29	45	61	82	3,8	6
30	53	145	83	4	6,4

Среднее	34	69	67	3,8	6,1
WV-47145/WV-42080, 15 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
31	27	94	71	3,7	5,9
32	19	48	72	3,8	6,1
33	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
34	44	157	61	4,3	6,8
35	41	90	119	4,1	6,3
Среднее	33	97	81	4	6,3
WV-48528/WV-42080, 1,5 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
36	22	34	71	3,5	5,7
37	37	55	130	3,4	5,7
38	31	153	46	3,1	6,6
39	23	52	52	3,8	5,9
40	25	74	66	3,8	6
Среднее	28	74	73	3,5	6
WV-48528/WV-42080, 15 мг/кг					
№ животного	ALT (Ед./л)	AST (Ед./л)	ALP (Ед./л)	ALB (г/дл)	TP (г/дл)
41	31	41	59	4,2	6,9
42	26	48	62	4	6,6
43	32	47	66	3,3	5,5
44	45	55	72	3,5	6
45	29	53	96	4	6,2
Среднее	33	49	71	3,8	6,2

ПРИМЕР 16. Представленные олигонуклеотиды и композиции могут эффективно обеспечивать нокдаун транскрипта мышья (mTTR) *in vitro*

Разрабатывали и конструировали различные siRNA для TTR мышья. Некоторое количество siRNA тестировали *in vitro* в первичных гепатоцитах мышья при одной концентрации или диапазоне концентраций. Некоторые siRNA также тестировали на мышьях (например, мышьях C57BL6 дикого типа).

Иллюстративный протокол для определения активности siRNA *in vitro*. Для определения активности siRNA, siRNA при конкретной концентрации доставляли гипнотическим способом в первичные гепатоциты мыши, высеянные в 96-луночные планшеты при 10000 клеток/луночка. После обработки в течение 48 часов экстрагировали общую РНК с применением набора SV96 Total RNA Isolation kit (Promega). Получение cDNA из образцов РНК проводили с применением набора High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher) в соответствии с инструкциями производителя и qPCR-анализ проводили в системе CFX с применением iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad). Для мРНК TTR мыши использовали следующий qPCR-анализ: ID IDT Taqman qPCR-анализ Mm.PT.58.11922308. В качестве нормализатора применяли HPRT мыши (прямой праймер 5'CAAACCTTTGCTTCCCTGGTT3', обратный праймер 5'TGGCCTGTATCCAACACTTC3', зонд 5'/5HEX/ACCAGCAAG/Zen/CTTGCAACCTTAACC/3IABkFQ/3'. Уровни нокдауна мРНК рассчитывали в виде % оставшейся мРНК относительно имитационной обработки.

В **таблице 46** показан % оставшейся мРНК TTR мыши (при обработке с помощью 300 и 100 пМ siRNA) относительно контроля, представляющего собой HPRT мыши. N = 2. N.D.: не определяли.

Таблица 46.

Направляющая нить	Сопровождающая нить	300 пМ			100 пМ		
		% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-1	% оставшейся мРНК (mTTR/mHPRT)-2	Среднее
SSR-0106266	SSR-0101599	40,58	39,32	39,95	77,48	73,72	75,60
SSR-0106267	SSR-0101599	61,23	50,89	56,06	61,81	78,26	70,03
SSR-0106268	SSR-0101599	55,89	43,04	49,47	66,19	70,50	68,35
SSR-0106269	SSR-0101599	60,70	53,03	56,86	74,07	81,77	77,92
SSR-0106270	SSR-0101599	60,63	45,75	53,19	64,28	81,32	72,80
SSR-0106271	SSR-0101599	62,29	51,39	56,84	70,23	84,40	77,31
SSR-0106272	SSR-0101599	62,17	45,95	54,06	69,93	69,11	69,52
SSR-0106273	SSR-0101599	51,62	43,00	47,31	67,08	75,29	71,18
SSR-0106274	SSR-0101599	51,90	51,53	51,71	77,55	77,38	77,46
SSR-0106275	SSR-0101599	58,87	59,18	59,03	81,56	77,43	79,50
SSR-0106276	SSR-0101599	59,69	57,31	58,50	85,75	71,66	78,70
SSR-0106277	SSR-0101599	70,71	66,60	68,65	95,92	87,92	91,92
SSR-0106278	SSR-0101599	78,51	66,29	72,40	81,03	84,23	82,63
SSR-0106279	SSR-0101599	81,88	79,31	80,59	96,76	100,94	98,85
SSR-0106280	SSR-0101599	58,73	59,88	59,30	85,01	72,46	78,74
SSR-0106281	SSR-0101599	70,08	64,65	67,37	97,21	86,00	91,60
SSR-0106282	SSR-0101599	76,71	69,28	72,99	93,72	83,25	88,48

SSR-0106283	SSR-0101599	82,89	81,53	82,21	98,28	94,37	96,33
SSR-0106284	SSR-0101599	79,96	81,80	80,88	96,89	107,03	101,96
SSR-0106285	SSR-0101599	98,91	92,59	95,75	110,51	113,56	112,04
SSR-0106286	SSR-0101599	76,18	81,74	78,96	88,76	82,92	85,84
SSR-0106287	SSR-0101599	88,73	86,85	87,79	96,76	104,80	100,78
SSR-0106288	SSR-0101599	70,00	64,80	67,40	77,55	83,51	80,53
SSR-0106289	SSR-0101599	95,29	95,15	95,22	106,41	109,41	107,91
SSR-0106290	SSR-0101599	80,90	73,32	77,11	101,59	87,39	94,49
SSR-0106291	SSR-0101599	83,20	80,52	81,86	95,17	102,12	98,64
SSR-0106292	SSR-0101599	80,25	72,07	76,16	89,74	90,97	90,35
SSR-0106293	SSR-0101599	58,71	49,16	53,94	82,30	67,99	75,15
SSR-0106294	SSR-0101599	47,10	34,88	40,99	67,35	54,49	60,92
SSR-0106295	SSR-0101599	53,22	46,58	49,90	73,00	70,51	71,76
SSR-0106296	SSR-0101599	42,81	33,27	38,04	60,21	56,17	58,19
SSR-0106297	SSR-0101599	47,67	38,22	42,94	68,02	65,28	66,65
SSR-0106298	SSR-0101599	51,69	51,32	51,50	81,79	68,44	75,11
SSR-0106299	SSR-0101599	58,72	47,42	53,07	87,20	62,27	74,74
SSR-0106300	SSR-0101599	48,41	39,91	44,16	81,10	66,15	73,62
SSR-0106301	SSR-0101599	53,61	41,37	47,49	79,49	60,58	70,04
SSR-0106302	SSR-0101599	45,55	42,05	43,80	58,89	68,95	63,92
SSR-0106303	SSR-0101599	52,21	48,96	50,58	78,58	67,93	73,25
SSR-0106304	SSR-0101599	44,07	38,67	41,37	58,24	68,80	63,52

SSR-0106305	SSR-0101599	47,40	41,73	44,56	75,26	62,85	69,05
SSR-0106306	SSR-0101599	55,08	47,51	51,29	76,38	85,70	81,04
SSR-0104474	SSR-0101599	57,79	45,72	51,76	91,94	60,26	76,10
SSR-0106307	SSR-0101599	53,02	46,22	49,62	66,65	85,31	75,98
SSR-0104475	SSR-0101599	46,39	34,31	40,35	76,22	57,87	67,04
SSR-0104720	SSR-0101596	56,11	54,66	55,39	70,93	79,09	75,01

Несмотря на то, что в данном документе были описаны и проиллюстрированы различные варианты осуществления, специалисты средней квалификации в данной области техники с легкостью увидят множество других средств и/или структур для осуществления действий и/или получения результатов и/или одного или нескольких преимуществ, описанных в настоящем изобретении, и каждый из таких вариантов и/или модификаций считается включенным. В более общем смысле специалисты в данной области техники легко поймут, что все параметры, величины, материалы и конфигурации, описанные в данном документе, предназначены для примера, и что фактические параметры, величины, материалы и/или конфигурации могут зависеть от конкретного применения или вариантов применения, для которых используются идеи настоящего изобретения. Посредством проведения не более чем обычных экспериментов специалисты в данной области техники поймут или смогут установить многие эквиваленты вариантов осуществления настоящего изобретения. Следовательно, следует понимать, что вышеупомянутые варианты осуществления представлены только в качестве примера и что в рамках прилагаемой формулы изобретения и ее эквивалентов заявленные технологии могут осуществляться на практике иным образом, чем конкретно описано и заявлено. В дополнение, любая комбинация двух или более признаков, систем, изделий, материалов, наборов и/или способов, если такие признаки, системы, изделия, материалы, наборы и/или способы не являются взаимно противоречащими, входит в объем настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Двухнитевое средство для RNAi (dsRNAi), содержащее направляющую нить и сопровождающую нить, где

а) направляющая нить является комплементарной или по сути комплементарной последовательности РНК-мишени и содержит:

i. фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности,

ii. фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

iii. один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности; и/или

iv. один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между нуклеотидом (+2) и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (а) нуклеотид (+3) и нуклеотид (+4) и (b) нуклеотид (+5) и нуклеотид (+6);

б) направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

с) направляющая нить содержит 2'-модификацию 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной;

д) сопровождающая нить содержит одно или оба из следующего:

i. 0-п межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и

ii. одного или нескольких хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации,

е) каждая нить dsRNAi-средства независимо характеризуется длиной от приблизительно 15 до приблизительно 49 нуклеотидов,

ф) dsRNAi способно направлять мишень-специфическую РНК-интерференцию.

2. Композиция на основе олигонуклеотидов с контролируемой хиральностью, содержащая двухнитевые олигонуклеотиды, где направляющая и сопровождающая нити двухнитевых олигонуклеотидов независимо характеризуются следующим:

а) общей последовательностью оснований и длиной;

б) общим паттерном связей в остове и

с) общим паттерном хиральных центров остова;

при этом композиция характеризуется контролируемой хиральностью в том смысле, что она является обогащенной по сравнению с по сути рацемическим препаратом на основе направляющих нитей, имеющих такую же общую последовательность оснований и длину, олигонуклеотидами, характеризующимися общим паттерном хиральных центров; и

а) при этом направляющие нити являются комплементарными или по сути комплементарными последовательности РНК-мишени и содержат:

i. фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности,

ii. фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности;

iii. один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности; и/или

iv. один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между нуклеотидом (+2) и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (а) нуклеотид (+3) и нуклеотид (+4) и (б) нуклеотид (+5) и нуклеотид (+6); или

б) направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между

любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид;

с) направляющая нить содержит 2'-модификацию 3'-нуклеотида в паре нуклеотидов, связанных межнуклеотидной Rp-, Sp- или стереослучайной связью, отличной от отрицательно заряженной;

d) сопровождающие нити содержат одно или оба из следующего:

i. 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и

ii. одного или нескольких хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации,

e) при этом направляющая и сопровождающая нити характеризуются длиной от приблизительно 15 до приблизительно 49 нуклеотидов; и

f) направляющая и сопровождающая нити способны направлять мишень-специфическую РНК-интерференцию.

3. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49.

4. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49.

5. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно

заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49.

6. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, и сопровождающая нить содержит 0- n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49.

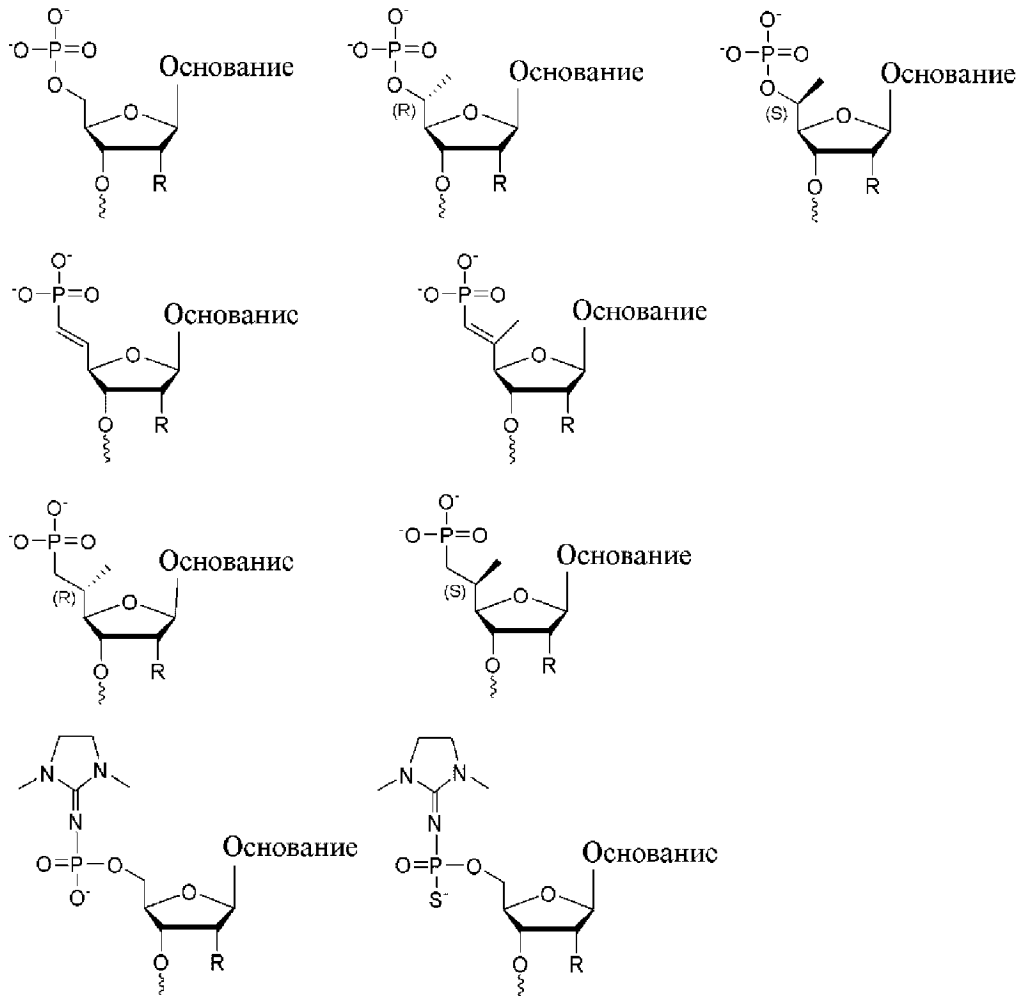
7. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

8. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

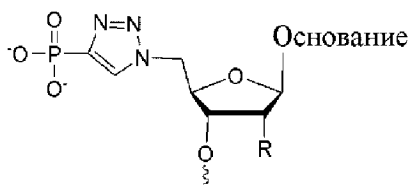
9. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

10. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между нуклеотидом (+2) и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, а также между нуклеотидами одной или обеих из следующих пар: (a) нуклеотид (+3) и нуклеотид (+4) и (b) нуклеотид (+5) и нуклеотид (+6); или

11. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит 5'-концевую модификацию, выбранную из:



и



причем основание: A, C, G, T, U, удаленное азотистое основание и модифицированные нуклеиновые основания;

R: H, OH, O-алкил, F, MOE, LNA-мостик к 4'-положению, BNA-мостик к 4'-положению.

12. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, и сопровождающая нить содержит один или

несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

13. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

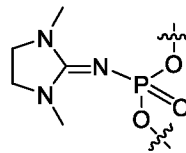
14. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит фосфотиоатные хиральные центры остова в Rp-, Sp- или чередующихся конфигурациях между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и между +2-нуклеотидом и нуклеотидом (+3), находящимся непосредственно ниже по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

15. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит один или несколько фосфотиоатных хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации выше по последовательности от фосфотиоатных хиральных центров остова в Sp-конфигурации между 3'-концевым нуклеотидом и предпоследним нуклеотидом (N-1) и между предпоследним нуклеотидом (N-1) и нуклеотидом (N-2), находящимся непосредственно выше по последовательности, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

16. Двухнитевой олигонуклеотид по п. 1 или композиция по п. 2, где направляющая нить содержит одну или несколько межнуклеотидных Rp-, Sp- или стереослучайных связей, отличных от отрицательно заряженных, находящихся между любыми двумя смежными нуклеотидами от второго нуклеотида (+2) относительно 5'-концевого нуклеотида направляющей нити до предпоследнего 3'-нуклеотида (N-1) направляющей нити, где N представляет собой 3'-концевой нуклеотид, и сопровождающая нить содержит 0-n межнуклеотидных связей, отличных от отрицательно заряженных, где n составляет от приблизительно 1 до 49, и один или несколько хиральных центров остова в Rp- или Sp-конфигурации.

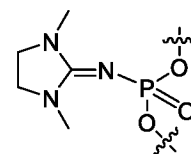
17. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где межнуклеотидные Rp-, Sp- или стереослучайные связи, отличные от отрицательно заряженных, в остове характеризуются нейтральным зарядом.

18. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по п. 17, где нейтральные



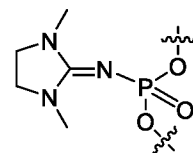
межнуклеотидные связи в остове представляют собой

19. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по п. 18, где направляющая нить



содержит связь, характеризующуюся следующей структурой, , между третьим (+3) и четвертым (+4) нуклеотидами направляющей нити, между десятым (+10) и одиннадцатым (+11) нуклеотидами направляющей нити или в обоих положениях.

20. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по п. 19, где сопровождающая нить



содержит связь, характеризующуюся следующей структурой, , находящуюся в направлении 5' от центрального нуклеотида сопровождающей нити, находящуюся в направлении 3' от центрального нуклеотида сопровождающей нити или в обоих положениях.

21. Композиция по п. 2, где направляющая и сопровождающая нити в композиции, которые независимо характеризуются общей последовательностью оснований, общим паттерном модификации оснований, общим паттерном модификации сахаров и/или общим паттерном межнуклеотидных связей, составляют по меньшей мере 90% от всех направляющих и сопровождающих нитей в композиции.

22. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где двухнитевой олигонуклеотид содержит углеводный фрагмент, присоединенный при нуклеозиде или межнуклеотидной связи, необязательно с помощью линкера.

23. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где двухнитевой олигонуклеотид содержит липидный фрагмент, присоединенный к двухнитевому олигонуклеотиду при нуклеозиде или межнуклеотидной связи, необязательно с помощью линкера.

24. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где одна или обе нити двухнитевого олигонуклеотида содержат фрагмент для нацеливания,

присоединенный при нуклеозиде или межнуклеотидной связи, необязательно с помощью линкера.

25. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где по меньшей мере 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% межнуклеотидных связей двухнитевого олигонуклеотида независимо представляют собой хиральные межнуклеотидные связи.

26. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где по меньшей мере 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 97% нуклеотидных звеньев двухнитевого олигонуклеотида независимо содержат 2'-замещение.

27. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где 2'-замещение в олигонуклеотиде представляет собой 2'-F.

28. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где 2'-замещение в олигонуклеотиде представляет собой 2'-OR1.

29. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где 2'-замещение в олигонуклеотиде представляет собой -L-, где L соединяет C2 и C4 сахарного звена.

30. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где по меньшей мере 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 97% нуклеотидных звеньев двухнитевого олигонуклеотида не содержат 2'-замещения.

31. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где направляющая нить содержит последовательность, связывающую мишень, которая является полностью комплементарной последовательности-мишени, где последовательность, связывающая мишень, характеризуется длиной, составляющей по меньшей мере 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 оснований, где каждое основание представляет собой необязательно замещенные аденин, цитозин, гуанозин, тимин или урацил, и где последовательность-мишень содержит один или несколько аллельных сайтов, где аллельный сайт представляет собой SNP или мутацию.

32. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где последовательность-мишень содержит два SNP.

33. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где последовательность-мишень содержит аллельный сайт, и последовательность, связывающая мишень, является полностью комплементарной последовательности-мишени аллеля, ассоциированного с заболеванием, но не аллеля, в меньшей степени

ассоциированного с заболеванием.

34. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где

двухнитевой олигонуклеотид содержит направляющую нить, которая связывается с транскриптом последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, для которой в популяции существует совокупность аллелей, каждый из которых содержит специфический характерный элемент последовательности нуклеотидов, который определяет аллель относительно других аллелей той же последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью,

где последовательность оснований направляющей нити представляет собой или содержит последовательность, которая является комплементарной характерному элементу последовательности, который определяет конкретный аллель, и

направляющая нить характеризуется тем, что при приведении ее в контакт с клеткой, содержащей транскрипты последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, демонстрируется подавление транскриптов конкретного аллеля или белка, кодируемого им, на уровне, который превышает уровень подавления, наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты.

35. Двухнитевой олигонуклеотид или композиция по любому из предыдущих пунктов, где сопровождающая нить содержит:

фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между 5'-концевым нуклеотидом (+1) и нуклеотидом (+2), находящимся непосредственно ниже по последовательности; и

фосфотиоатный Sp-хиральный центр остова между предпоследним нуклеотидом (N-1) и 3'-концевым нуклеотидом (N).

36. Способ обеспечения снижения уровня и/или активности транскрипта или белка, кодируемого им, включающий введение в клетку, экспрессирующую транскрипт, двухнитевого олигонуклеотида или композиции по любому из предыдущих пунктов, где направляющая нить двухнитевого олигонуклеотида или композиции содержит последовательность, связывающую мишень, которая является полностью комплементарной последовательности-мишени в транскрипте.

37. Способ по п. 36, где клетка представляет собой иммунную клетку, клетку крови, клетку сердца, клетку легкого, клетку глаза, мышечную клетку, клетку печени, клетку почки, клетку головного мозга, клетку центральной нервной системы или клетку периферической нервной системы.

38. Способ обеспечения аллель-специфического подавления транскрипта из последовательности нуклеиновой кислоты, для которой в популяции существует

совокупность аллелей, каждый из которых содержит специфический характерный элемент последовательности нуклеотидов, который определяет аллель относительно других аллелей той же последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, при этом способ включает стадии:

приведения образца, содержащего транскрипты последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, в контакт с двухнитевым олигонуклеотидом или композицией по любому из предыдущих пунктов,

где направляющая нить двухнитевого олигонуклеотида или композиции содержит последовательность, связывающую мишень, которая является идентичной или полностью комплементарной последовательности-мишени в последовательности нуклеиновой кислоты, при этом последовательность-мишень содержит характерный элемент последовательности, который определяет конкретный аллель, и

где при приведении направляющей нити двухнитевого олигонуклеотида или композиции в контакт с клеткой, содержащей транскрипты как аллеля-мишени, так и другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты, транскрипты конкретного аллеля подавляются при более высоком уровне, чем уровень подавления, наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты.

39. Способ обеспечения аллель-специфического подавления транскрипта из последовательности нуклеиновой кислоты, для которой в популяции существует совокупность аллелей, каждый из которых содержит специфический характерный элемент последовательности нуклеотидов, который определяет аллель относительно других аллелей той же последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, при этом способ включает стадии:

введения субъекту, содержащему транскрипты последовательности нуклеиновой кислоты, являющейся мишенью, двухнитевого олигонуклеотида или композиции по любому из предыдущих пунктов,

где направляющая нить двухнитевого олигонуклеотида или композиции содержит последовательность, связывающую мишень, которая является идентичной или полностью комплементарной последовательности-мишени в последовательности нуклеиновой кислоты, при этом последовательность-мишень содержит характерный элемент последовательности, который определяет конкретный аллель, и

где при приведении направляющей нити двухнитевого олигонуклеотида или композиции в контакт с клеткой, содержащей транскрипты как аллеля-мишени, так и другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты, транскрипты конкретного аллеля подавляются при более высоком уровне, чем уровень подавления,

наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты.

40. Способ по любому из пп. 36-39, где при приведении олигонуклеотида или олигонуклеотида из композиции в контакт с клеткой, содержащей транскрипты как аллеля-мишени, так и другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты, демонстрируется подавление транскриптов конкретного аллеля на уровне,

- а) превышающем уровень подавления при отсутствии композиции;
- б) превышающем уровень подавления, наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты; или
- с) как превышающем уровень подавления при отсутствии композиции, так и превышающем уровень подавления, наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты.

41. Способ по п. 40, где клетка представляет собой иммунную клетку, клетку крови, клетку сердца, клетку легкого, клетку глаза, мышечную клетку, клетку печени, клетку почки, клетку головного мозга, клетку центральной нервной системы или клетку периферической нервной системы.

42. Способ по любому из пп. 36-39, где подавление транскриптов конкретного аллеля обеспечивается на уровне, который как превышает уровень подавления при отсутствии композиции, так и превышает уровень подавления, наблюдаемый для другого аллеля той же последовательности нуклеиновой кислоты.