

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7507093号
(P7507093)

(45)発行日 令和6年6月27日(2024.6.27)

(24)登録日 令和6年6月19日(2024.6.19)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113 1 3 0 Z
A 6 1 K	31/713 (2006.01)	A 6 1 K	31/713 Z N A
A 6 1 K	47/12 (2006.01)	A 6 1 K	47/12
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16
請求項の数 54 (全284頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-550112(P2020-550112)	(73)特許権者	597160510
(86)(22)出願日	平成31年3月20日(2019.3.20)		リジェネロン・ファーマシューティカル
(65)公表番号	特表2021-518125(P2021-518125 A)		ズ・インコーポレイテッド
(43)公表日	令和3年8月2日(2021.8.2)		REGENERON PHARMACE
(86)国際出願番号	PCT/US2019/023079		UTICALS, INC.
(87)国際公開番号	WO2019/183164		アメリカ合衆国1 0 5 9 1-6 7 0 7 ニ
(87)国際公開日	令和1年9月26日(2019.9.26)		ューヨーク州タリータウン、オールド・
審査請求日	令和4年3月18日(2022.3.18)		ソー・ミル・リバー・ロード 7 7 7 番
(31)優先権主張番号	62/645,941	(74)代理人	100078282
(32)優先日	平成30年3月21日(2018.3.21)		弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413
(31)優先権主張番号	62/775,590		弁理士 森下 夏樹
(32)優先日	平成30年12月5日(2018.12.5)	(72)発明者	ヒンクル, グレゴリー
最終頁に続く			アメリカ合衆国 マサチューセッツ 0 2
			1 4 2, ケンブリッジ, サード スト
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 1 7 β-水酸化ステロイド脱水素酵素 1 3 型 (HSD 1 7 B 1 3) i R N A 組成物およびその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞における 1 7 β-水酸化ステロイド脱水素酵素 1 3 型 (HSD 1 7 B 1 3) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記アンチセンス鎖が、HSD 1 7 B 1 3 をコードする mRNA との相補性領域を含み、前記相補性領域が、配列番号 4 4 9 9 に由来する、少なくとも 1 5 個の連続したヌクレオチドを含み、各鎖が、3 0 ヌクレオチド長以下であり、前記 dsRNA 作用剤が、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む、dsRNA 作用剤。

【請求項 2】

細胞における 1 7 β-水酸化ステロイド脱水素酵素 1 3 型 (HSD 1 7 B 1 3) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記アンチセンス鎖が、HSD 1 7 B 1 3 をコードする mRNA との相補性領域を含み、前記相補性領域が、配列番号 4 4 9 7、4 5 0 1 および 4 5 0 5 のうちのいずれか 1 つに由来する、少なくとも 1 5 個の連続したヌクレオチドを含み、各鎖が、3 0 ヌクレオチド長以下であり、前記 dsRNA 作用剤が、少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む、dsRNA 作用剤。

【請求項 3】

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、または前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全

ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、請求項 1 または 2 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 4】

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、

前記センス鎖が、3'末端に付着したリガンドとコンジュゲートしている、請求項 1 から 3 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 5】

前記センス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、または前記センス鎖のヌクレオチドの全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、請求項 4 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 6】

前記修飾ヌクレオチドの少なくとも 1 つが、デオキシヌクレオチド、3'末端デオキシチミン (d T) ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-デオキシ修飾ヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、H N A、C e N A、アンロックドヌクレオチド、コンフォメーションが制限されたヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、2'-アミノ修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、2'-C-アルキル修飾ヌクレオチド、2'-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホラミデート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾ヌクレオチド、1,5-アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、5'-リン酸模倣体を含むヌクレオチド、グリコール修飾ヌクレオチド、および 2-O- (N-メチルアセトアミド) 修飾ヌクレオチド、ならびにこれらの組合せからなる群から選択される、請求項 4 または 5 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 7】

前記修飾ヌクレオチドが、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、および／または、グリコール修飾ヌクレオチドを含む、請求項 6 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 8】

前記相補性領域が、少なくとも 17 ヌクレオチド長、19~30 ヌクレオチド長、19~25 ヌクレオチド長、または 21~23 ヌクレオチド長である、請求項 1 から 7 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 9】

各鎖が独立に、19~30 ヌクレオチド長である、各鎖が独立に、19~25 ヌクレオチド長である、または各鎖が独立に、21~23 ヌクレオチド長である、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 10】

少なくとも一方の鎖が 3'突出を含み、前記 3'突出が、少なくとも 1 ヌクレオチド、少なくとも 2 ヌクレオチドまたは 2 ヌクレオチドを含む、請求項 1 から 9 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 11】

リガンドをさらに含む、請求項 1 から 3 までおよび請求項 5 から 10 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 12】

前記リガンドが、前記 d s R N A 作用剤の前記センス鎖の 3'末端とコンジュゲートしている、請求項 11 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 13】

前記リガンドが、一価リンカー、二価リンカー、または三価分枝リンカーを通じて付着している 1 つまたは複数の N-アセチルガラクトサミン (G a l N A c) を含む、請求項

10

20

30

40

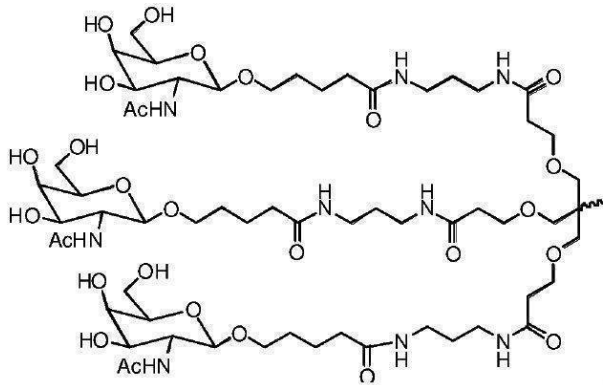
50

1 1 または 1 2 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 1 4】

前記リガンドが、

【化 3 4】



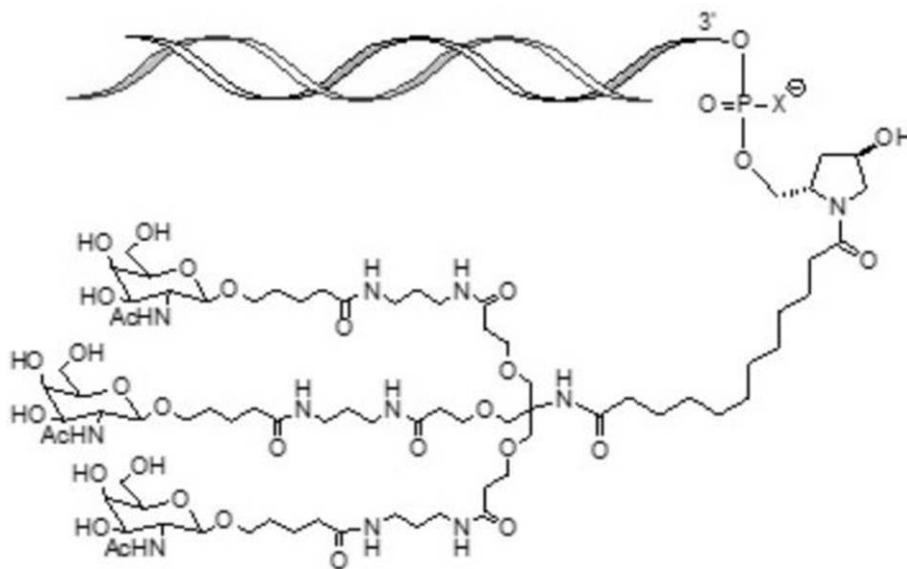
10

を含む、請求項 1 3 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 1 5】

以下の概略図

【化 3 5】



20

30

に示されるリガンドとコンジュゲートしており、X が O または S である、請求項 1 4 に記載の d s R N A 作用剤。

40

【請求項 1 6】

前記アンチセンス鎖が、配列番号 4 4 9 7、4 4 9 9、4 5 0 1 および 4 5 0 5 のいずれか 1 つのヌクレオチド配列を含む、請求項 3 に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 1 7】

式 (I I I) :

センス : $5' \text{ } \eta_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q$
3'

アンチセンス : $3' \text{ } \eta_{p'} - N_{b'} - (X' X' X_k') N_{b'} - Y' Y' Y_{b'} - N_{b'} - (Z' Z' Z')$
) $l - N_{a'} - \eta_{q'} 5'$

(式中、

50

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

p 、 p' 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0～6 であり；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0～25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、 N_a および N_a' が独立に 2～25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0～10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 n_p 、 $n_{p'}$ 、 n_q 、および $n_{q'}$ は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

10

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し；

N_b が存在する場合には、 N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' が存在する場合には、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる）

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしている、請求項 1 から 16 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 18】

i が 0 である； j が 0 である； i が 1 である； j が 1 である； i および j がどちらも 0 である；または i および j がどちらも 1 である、かつ／または k が 0 である； l が 0 である； k が 1 である； l が 1 である； k および l がどちらも 0 である；または k および l はどちらも 1 である、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

20

【請求項 19】

XXX が $X'X'X'$ と相補的であり、 YYY が $Y'Y'Y'$ と相補的であり、 ZZZ が $Z'Z'Z'$ と相補的である、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 20】

前記 $Y'Y'Y'$ モチーフが、前記アンチセンス鎖の 5' 末端から 11 位、12 位および 13 位に存在し、前記センス鎖における前記 YYY モチーフの 3 個のヌクレオチドの少なくとも 1 個が、前記アンチセンス鎖における前記 $Y'Y'Y'$ モチーフの 3 個のヌクレオチドの少なくとも 1 個と塩基対を形成する、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

30

【請求項 21】

式 (III) が、

(a) 式 (IIIa)：

センス：5' $n_p - N_a - YYY - N_a - n_{q3}$

アンチセンス：3' $n_p - N_a - Y'Y'Y' - \bar{N} - n_{q5}$

(式中、 n_p 、 $n_{p'}$ 、 n_q 、 $n_{q'}$ 、 YYY および $Y'Y'Y'$ の各々は請求項 17 において定義された通りであり、各 N_a および N_a' は、独立に、2～10 修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)；

(b) 式 (IIIb)：

センス：5' $n_p - N_a - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_{q3}$

40

アンチセンス：3' $n_p - N_a - Y'Y'Y' - \bar{N} - Z'Z'Z' - \bar{N} - n_{q5}$

(式中、 n_p 、 $n_{p'}$ 、 n_q 、 $n_{q'}$ 、 YYY 、 ZZZ 、 $Y'Y'Y'$ および $Z'Z'Z'$ の各々は請求項 17 において定義された通りであり、各 N_b および N_b' は、独立に、1～5 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各 N_a および N_a' は、独立に、2～10 修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)；

(c) 式 (IIIc)：

センス：5' $n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_a - n_{q3}$

アンチセンス：3' $n_p - N_a - X'X'X' - \bar{N} - Y'Y'Y' - \bar{N} - n_{q5}$

(式中、 n_p 、 $n_{p'}$ 、 n_q 、 $n_{q'}$ 、 XXX 、 YYY 、 $X'X'X'$ および $Y'Y'Y'$ の各々は請求項 17 において定義された通りであり、各 N_b および N_b' は、独立に、1～5 個の修

50

飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各 N_a および N_a' は、独立に、2～10 修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す) ; または

(d) 式 (I I I d) :

センス : $5' \text{ } n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q 3'$

アンチセンス : $3' \text{ } n_p - N_a - X' X' X' \text{ } n_b' Y' Y' Y' \text{ } n_b' Z' Z' Z' \text{ } n_a' N_q 5'$

(式中、 n_p 、 n_p' 、 n_q 、 n_q' 、 XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X' X' X'$ 、 $Y' Y' Y'$ 、 $Y' Y' Y'$ および $Z' Z' Z'$ の各々は請求項 17 において定義された通りである各 N_b および N_b' は、独立に、1～5 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各 N_a および N_a' は、独立に、2～10 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す) によって表される、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

10

【請求項 22】

HSD17B13 をコードする前記 mRNA の部分と相補的な領域が、少なくとも 17 ヌクレオチド長、19～30 ヌクレオチド長、19～25 ヌクレオチド長、または 21～23 ヌクレオチド長である、請求項 1 から 21 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 23】

各 Y が、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドである、請求項 17 から 21 まで、および請求項 17 を直接的にもしくは間接的に引用する場合の請求項 22 のいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

20

【請求項 24】

少なくとも一方の鎖が 3' 突出を含み、前記 3' 突出が、少なくとも 1 ヌクレオチド、少なくとも 2 ヌクレオチドまたは 2 ヌクレオチドを含む、請求項 1 から 23 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 25】

前記 dsRNA 作用剤が、少なくとも 1 つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結をさらに含む、請求項 1 から 24 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 26】

前記ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が、前記アンチセンス鎖の 3' 末端、前記センス鎖の 3' 末端、前記アンチセンス鎖の 5' 末端および／または前記センス鎖の 5' 末端にある、請求項 25 に記載の dsRNA 作用剤。

30

【請求項 27】

前記ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が、少なくとも一方の鎖の 5' 末端および 3' 末端の両方にある、請求項 25 に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 28】

前記アンチセンス鎖の 5' 末端のヌクレオチドが、前記センス鎖のヌクレオチドと AU 塩基対を形成する、請求項 1 から 27 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 29】

$p' > 0$ または $p' = 2$ である、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

40

【請求項 30】

(a) $q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的 mRNA と相補的である、または (b) $q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的 mRNA と非相補的である、請求項 29 に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 31】

前記センス鎖が合計 21 ヌクレオチドを有し、前記アンチセンス鎖が合計 23 ヌクレオチドを有する、請求項 1 から 30 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 32】

(a) n_p' の少なくとも 1 つのヌクレオチドが隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している、または (b) n_p' の全てのヌクレオチドが隣接ヌクレオチド

50

とホスホロチオエート連結によって連結している、請求項 17 に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 33】

式 (III) :

センス : $5' - \text{np} - \text{Na} - (\text{XXX})_i - \text{Nb} - \text{YYY} - \text{Nb} - (\text{ZZZ})_j - \text{Na} - \text{nq}$
3'

アンチセンス : $3' - \text{np}' - \text{Nb}' - (\text{X}'\text{X}'\text{X}')_{i'} - \text{Nb}' - \text{Y}'\text{Y}'\text{Y}'_{j'} - \text{Nb}' - (\text{Z}'\text{Z}'\text{Z}')_{k'} - \text{Na}' - \text{nq}'$
5'

(式中、

(a) i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

p 、 p' 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0 ~ 6 であり；

各 Na および Na' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、各 Na および Na' が独立に 2 ~ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 Nb および Nb' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 np 、 np' 、 nq 、および nq' は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $\text{X}'\text{X}'\text{X}'$ 、 $\text{Y}'\text{Y}'\text{Y}'$ 、および $\text{Z}'\text{Z}'\text{Z}'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり；

Nb が存在する場合には、 Nb に対する修飾が Y に対する修飾とは異なり、 Nb' が存在する場合には、 Nb' に対する修飾が Y' に対する修飾とは異なり、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしている；

(b) i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

各 np 、 nq 、および nq' は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0 ~ 6 であり；

$\text{np}' > 0$ であり、少なくとも 1 つの np' ヌクレオチドが隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 Na および Na' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、 Na および Na' が独立に 2 ~ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 Nb および Nb' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $\text{X}'\text{X}'\text{X}'$ 、 $\text{Y}'\text{Y}'\text{Y}'$ 、および $\text{Z}'\text{Z}'\text{Z}'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり；

Nb が存在する場合には、 Nb に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 Nb' が存在する場合には、 Nb' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なり、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしている；

(c) i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

各 np 、 nq 、および nq' は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0 ~ 6 であり；

$\text{np}' > 0$ であり、少なくとも 1 つの np' ヌクレオチドが隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 Na および Na' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、 N

a および N_a ' が独立に 2 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b ' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり；

N_b が存在する場合には、 N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b ' が存在する場合には、 N_b ' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なり、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価リンカー、二価リンカー、または三価分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の $GalNAc$ である；

(d) i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

各 n_p 、 n_q 、および n_q ' は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q ' は、それぞれ独立に、0 ～ 6 であり；

n_p ' > 0 であり、少なくとも 1 つの n_p ' ヌクレオチドが隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a ' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、 N_a および N_a ' が独立に 2 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b ' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり；

N_b が存在する場合には、 N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b ' が存在する場合には、 N_b ' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なり、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのホスホロチオエート連結を含み；

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価リンカー、二価リンカー、または三価分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の $GalNAc$ である；あるいは

(e) $i = 0$ 、 $j = 0$ 、 $k = 0$ 、および $l = 0$ であり；

各 n_p 、 n_q 、および n_q ' は、存在してもしなくてもよく、それぞれ独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q ' は、それぞれ独立に、0 ～ 6 であり；

n_p ' > 0 であり、少なくとも 1 つの n_p ' ヌクレオチドが隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a ' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、ここで、 N_a および N_a ' が独立に 2 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す場合には、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

N_b 、および N_b ' は不存在であり；

YYY および $Y'Y'Y'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのホスホロチオエート連結を含み；

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価リンカー、二価リンカー、または三価分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは

10

20

30

40

50

複数の G a l N A c である)

で表される、請求項 1 から 3 2 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 3 4】

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2' - O - メチル修飾および 2' - フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、

前記センス鎖が、5' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、

前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、独立に、2' - O - メチル修飾、2' - フルオロ修飾、および／または、グリコール修飾からなる群から選択される修飾を含み、

前記アンチセンス鎖が、5' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結、および 3' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、

前記センス鎖が、3' 末端において一価リンカー、二価リンカーまたは三価分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の G a l N A c とコンジュゲートしている、請求項 1 から 3 2 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 3 5】

(a) 前記アンチセンス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 4 9 9 の配列からなり、前記センス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 4 9 8 の配列からなる；

(b) 前記アンチセンス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 4 9 7 の配列からなり、前記センス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 4 9 6 の配列からなる；

(c) 前記アンチセンス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 5 0 1 の配列からなり、前記センス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 5 0 0 の配列からなる；または、

(d) 前記アンチセンス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 5 0 5 の配列からなり、前記センス鎖ヌクレオチド配列が、配列番号 4 5 0 4 の配列からなる、

請求項 1 から 3 4 までのいずれか一項に記載の d s R N A 作用剤。

【請求項 3 6】

前記センス鎖が、u s a s c a u c A f a G f A f C f u a a u c u u g u u (配列番号 4 4 8 6) を含み、前記アンチセンス鎖が a s A f s c a a g (A g n) u u a g u c U f u G f a u g u a s g s u (配列番号 4 4 8 7) を含み、

前記 a、g、c および u が、それぞれ、2' - O - メチル (2' - O M e) A、G、C および U であり、

前記 A f、G f、C f および U f が、それぞれ、2' - フルオロ A、G、C および U であり、

前記 (A g n) が、アデノシン-グリコール核酸 (G N A) であり、

前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

10

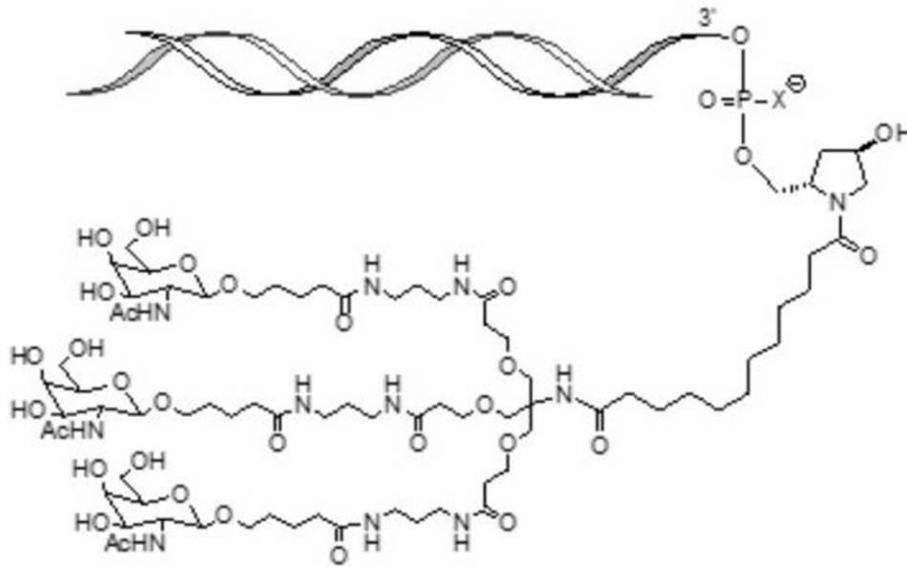
20

30

40

50

【化 3 5】



10

に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O である、請求項 3 5 に記載の dsRNA 作用剤。

20

【請求項 3 7】

前記センス鎖が、c s g s u a u g C f a G f A f A f u a u u c a a u u u (配列番号 4 4 9 0) を含み、前記アンチセンス鎖が a s A f s a u u G f (A g n) a u a u u c U f g C f a u a c g s a s u (配列番号 4 4 9 1) を含み、

前記 a、g、c および u が、それぞれ、2'-O-メチル (2'-OMe) A、G、C および U であり、

前記 A f、G f、C f および U f が、それぞれ、2'-フルオロ A、G、C および U であり、

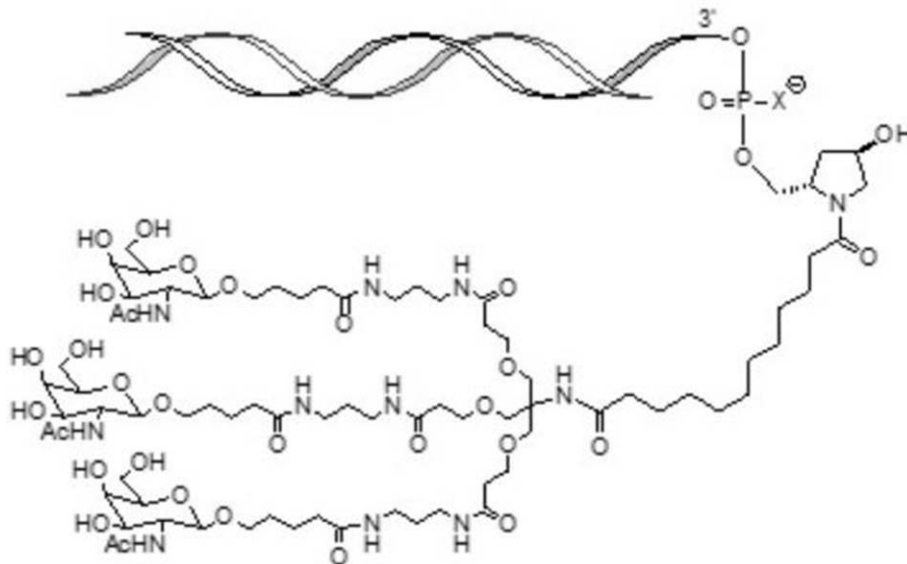
前記 (A g n) が、アデノシン-グリコール核酸 (GNA) であり、

前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

30

【化 3 5】



40

に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O である、請求項 3 5

50

に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 38】

前記センス鎖が、c s g s u a u g C f a G f A f A f u a u u c a a u u u (配列番号 4492) を含み、前記アンチセンス鎖が、a s A f s a U f u G f (A g n) a u a u U f c U f g C f a U f a C f g s a s u (配列番号 4493) を含み、

前記 a、g、c および u が、それぞれ、2'-O-メチル (2'-OMe) A、G、C および U であり、

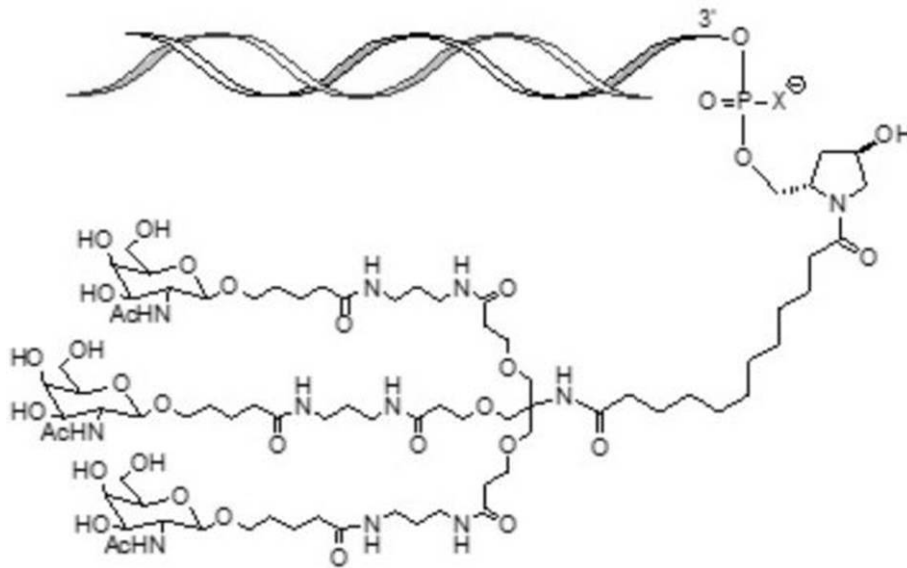
前記 A f、G f、C f および U f が、それぞれ、2'-フルオロ A、G、C および U であり、

前記 (A g n) が、アデノシン-グリコール核酸 (GNA) であり、

前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

【化 35】



に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O である、請求項 35 に記載の dsRNA 作用剤。

【請求項 39】

前記センス鎖が、c s u s a c a u C f a A f G f A f c u a a u c u u g u (配列番号 4494) を含み、前記アンチセンス鎖が、a s C f s a a g a (T g n) u a g u C f u U f g A f u g u a g s u s g (配列番号 4495) を含み、

前記 a、g、c および u が、それぞれ、2'-O-メチル (2'-OMe) A、G、C および U であり、

前記 A f、G f、C f および U f が、それぞれ、2'-フルオロ A、G、C および U であり、

前記 (T g n) が、チミジン-グリコール核酸 (GNA) であり、

前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

10

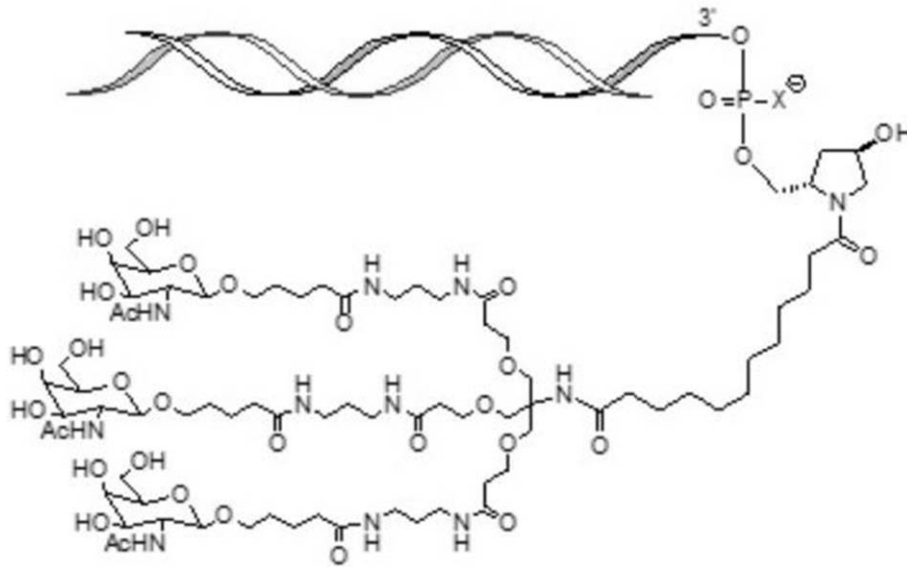
20

30

40

50

【化 3 5】



10

に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O である、請求項 3 5 に記載の dsRNA 作用剤。

20

【請求項 4 0】

細胞における 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、

前記センス鎖のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列 5'-asusgcuuUfuGfCfAfu ggacuauc u-3' (配列番号 4488) を含み、前記アンチセンス鎖のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列 5'-asGfsauag (Tgn)ccaugcAfaAfa gcaususc-3' (配列番号 4489) を含み、

前記 a、g、c および u が、それぞれ、2'-O-メチル (2'-OMe) A、G、C および U であり、

30

前記 Af、Gf、Cf および Uf が、それぞれ、2'-フルオロ A、G、C および U であり、

前記 (Tgn) が、チミジン-グリコール核酸 (GNA) であり、

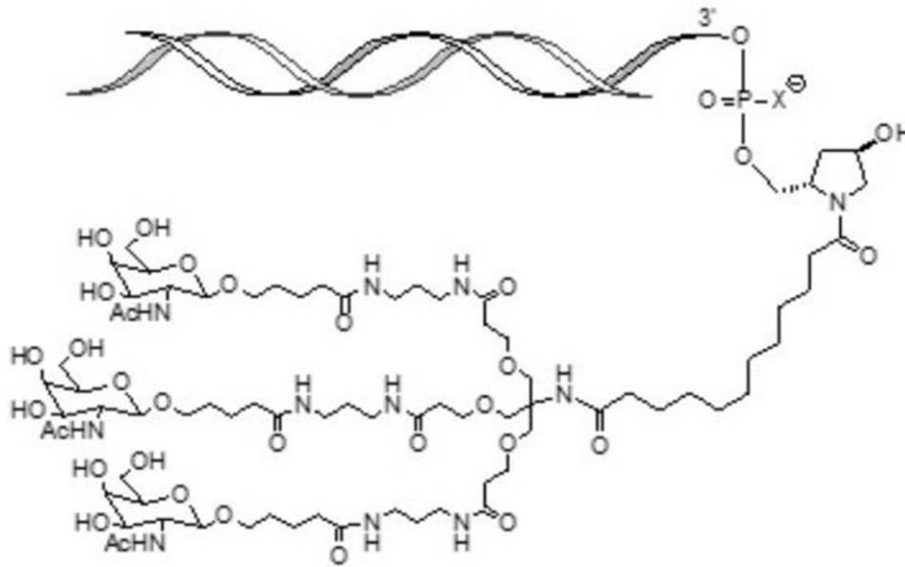
前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

40

50

【化 3 5】



10

に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O であり、
前記各鎖が、30ヌクレオチド長以下である、dsRNA 作用剤。

20

【請求項 4 1】

請求項 1 から 4 0 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤を含有する細胞。

【請求項 4 2】

請求項 1 から 4 0 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤を含む、17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) 遺伝子の発現を阻害するための医薬組成物。

【請求項 4 3】

前記作用剤が、緩衝化されていない溶液、生理食塩水、水、緩衝化された溶液、アセテート緩衝溶液、シトレート緩衝溶液、プロラミン緩衝溶液、カーボネート緩衝溶液、ホスフェート緩衝溶液、リン酸緩衝食塩水において製剤化されている、請求項 4 2 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 4 4】

細胞における 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) 発現の阻害における使用のための、請求項 4 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 5】

前記細胞がヒト対象内にありまたは肥満であるヒト対象内にある、請求項 4 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 4 6】

対象における HSD17B13 の発現の阻害、HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象の処置、HSD17B13 遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも 1 つの症状の防止、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクの低下、脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪の阻害、あるいは HSD17B13 に関連する疾患、障害に罹患している対象の肝臓における脂肪滴の蓄積の阻害における使用のための、請求項 4 2 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 4 7】

対象における HSD17B13 の発現の阻害、HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象の処置、HSD17B13 遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも 1 つの症状の防

50

止、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクの低下、脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪の阻害、あるいはHSD17B13に関連する疾患、障害に罹患している対象の肝臓における脂肪滴の蓄積の阻害の方法における使用のための、請求項42に記載の医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を含む組み合わせ物。

【請求項48】

HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態を処置することが、HSD17B13酵素活性の低下、HSD17B13タンパク質蓄積の減少、PNPLA3酵素活性の低下、PNPLA3タンパク質蓄積の減少、ならびに／または前記対象の肝臓における脂肪の蓄積および／もしくは脂肪滴の増大の低減を含む、請求項46に記載の使用のための医薬組成物または請求項47に記載の組み合わせ物。

【請求項49】

前記HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態が、慢性線維炎症性肝疾患、肝臓における脂肪滴の蓄積および／または増大に関連する慢性線維炎症性肝疾患、肝臓における脂肪の蓄積、肝臓の炎症、肝線維症、脂肪性肝疾患（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、肝細胞壊死、または非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）を含む、請求項46または48に記載の使用のための医薬組成物または請求項47または48に記載の組み合わせ物。

【請求項50】

少なくとも1つの追加的な治療薬と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項46、48または49のいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物または請求項47から49までのいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項51】

前記dsRNA作用剤の用量が、0.01mg/kg～10mg/kgまたは0.5mg/kg～50mg/kgである、請求項46および48から50までのいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物または請求項47から50までのいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項52】

前記医薬組成物または前記組み合わせ物が、静脈内、筋肉内、または皮下投与のために製剤化されている、請求項46および48から51までのいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物または請求項47から51までのいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項53】

前記対象におけるHSD17B13のレベルが決定されている、請求項46および48から52までのいずれか一項に記載の使用のための医薬組成物または請求項47から52までのいずれか一項に記載の組み合わせ物。

【請求項54】

HSD17B13に関連する疾患、障害、もしくは状態、慢性線維炎症性肝疾患、肝臓における脂肪滴の蓄積および／もしくは増大に関連する慢性線維炎症性肝疾患、肝臓の炎症、肝線維症、脂肪性肝疾患（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、肝細胞壊死、または肥満症、肝臓における脂肪の蓄積、または肝細胞壊死を罹患している対象を処置することにおける使用のための組成物であって、

前記組成物がdsRNA作用剤を含み、前記dsRNA作用剤がセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記センス鎖のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列5'-asusgcuuUfuGfCfAfuggacuaucuu-3'（配列番号4488）を含み、前記アンチセンス鎖のヌクレオチド配列が、ヌクレオチド配列5'-asGfsauag（

10

20

30

40

50

T g n) c c a u g c A f a A f a g c a u s u s c - 3' (配列番号 4 4 8 9) を含み、
前記 a、g、c および u が、それぞれ、2'-O-メチル (2'-OMe) A、G、C および U であり、

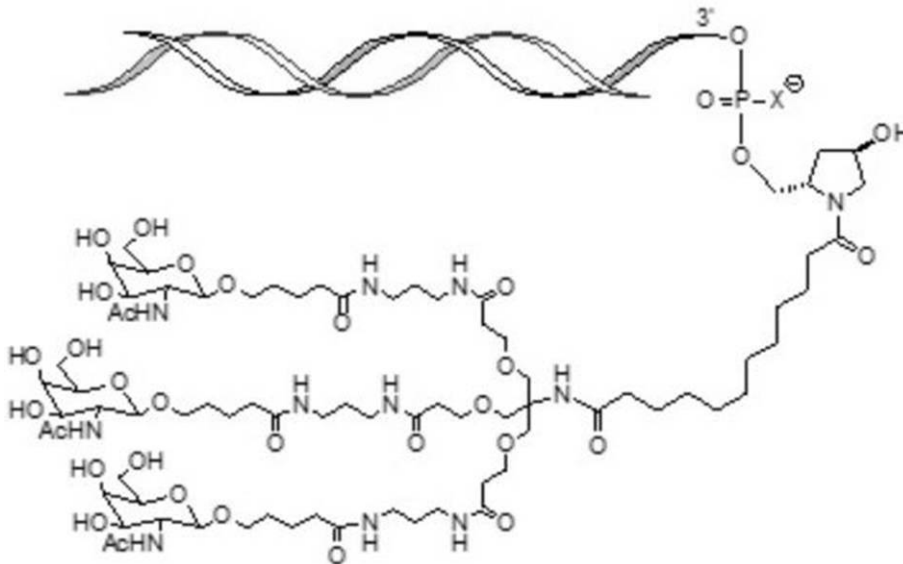
前記 A f、G f、C f および U f が、それぞれ、2'-フルオロ A、G、C および U であり、

前記 (T g n) が、チミジン-グリコール核酸 (GNA) であり、

前記 s が、ホスホロチオエート連結であり、

リガンドが、以下の概略図

【化 3 5】



に示される前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしており、X が O であり、

前記各鎖が、30 ヌクレオチド長以下である、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2018 年 3 月 21 日出願の米国仮出願第 62/645,941 号、2018 年 11 月 21 日出願の米国仮出願第 62/770,298 号、および 2018 年 12 月 5 日出願の米国仮出願第 62/775,590 号に対する優先権の利益を主張するものである。前述の仮特許出願のそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる。

配列表

【0002】

本出願は、ASCII フォーマットで電子的に提出されており、その全体が参照により本明細書に組み込まれる配列表を含有する。前記 ASCII コピーは、2019 年 3 月 12 日に作成されたものであり、名称は 121301-08420__SL.txt であり、サイズは 1,374,047 バイトである。

【背景技術】

【0003】

17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) は、酵素である 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 (HSD17B) ファミリーのメンバーであり、このファミリーのメンバーは、例えば、in vivo における性ホルモン、脂肪酸、および胆汁酸の減少または酸化を含めた種々の機能を有する (Moeller and Adamski (2009) Mol Cell Endocrinol 301: 7)。HSD17B ファミリーのメンバーは、組織分布、

細胞内局在化、触媒の優先性が異なり、また、ステロイド以外の基質、例として、脂質およびレチノイドの変換も触媒するので、多様な基質特異性を有する (Marchais-Oberwinkler, et al. (2011) J Steroid Biochem Mol Biol 125 (1-2): 66-82)。HSD17B13は、正常なマウス肝臓および培養されたヒト肝細胞における肝臓脂質生成を増強することが実証されている (Su, et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111: 11437)。

【0004】

肝細胞は、肝臓の実質組織を形成し、エネルギーのための脂質の動員および過剰な脂質を脂肪滴 (LD) の形態で貯蔵することに関与し、これにより肝臓が脂質恒常性に関与する主要な器官になっている。

【0005】

LDは現在、脂質代謝、膜輸送およびシグナルトランスダクションに関与する生物活性細胞小器官として認識されている。LDは、一般に、中性脂質のコアで構成される (例えば、トリアシルグリセロール (TG) およびリン脂質/コレステロール単層で囲まれたコレステロールエステルなど)。多数のLD特異的タンパク質が、LDの膜および機能、例えば、LDへの分子の流入およびLDからの流出の調節と関連する。優勢な肝細胞LD関連タンパク質は、タンパク質のペリリピンファミリーのメンバーであるが、低酸素誘導タンパク質2 (HIG2)、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3 (patatin-like phospholipase domain-containing 3) (PNPLA3)、およびHSD17B13などの非ペリリピンタンパク質もLD関連タンパク質として同定されている (Carr and Ahima (2016) Exp Cell Res 15: 187; Su, et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111: 11437)。

【0006】

LDの蓄積の増加は、多くの代謝疾患および慢性線維炎症性肝疾患、例えば、肝線維症、NASHおよびNAFLDなどに関連付けられる。HSD17B13は、NAFLDを有するヒト対象およびマウスにおいてLDの表面に特異的に局在する、最も豊富に発現されるLDタンパク質の1つとして同定されている。NAFLDを有する患者およびマウスの肝臓においてHSD17B13の発現のレベルが上方制御されることも示されている。HSD17B13の過剰発現の結果、LDの数およびサイズの増大がもたらされる。C57BL/6マウスにおけるHSD17B13の肝臓での過剰発現により、肝臓における脂質生成およびTG含有量が有意に増大し、それにより、脂肪肝表現型が導かれる。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【文献】 Moeller and Adamski (2009) Mol Cell Endocrinol 301: 7

【文献】 Marchais-Oberwinkler, et al. (2011) J Steroid Biochem Mol Biol 125 (1-2): 66-82

【文献】 Su, et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111: 11437

【文献】 Carr and Ahima (2016) Exp Cell Res 15: 187; Su, et al. (2014) Proc Natl Acad Sci USA 111: 11437

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0008】

慢性線維炎症性肝疾患に対する処置は現在のところ存在しない。慢性線維炎症性肝疾患を有する対象に対する現行の標準治療は、生活様式の改変および関連する共存症、例えば、高血圧症、高脂血症、糖尿病、肥満症などの管理を含む。したがって、慢性線維炎症性肝疾患の有病率は過去10年にわたって次第に上昇しており、上昇することが予想されるので、慢性線維炎症性肝疾患を有する対象に対する代替処置が当技術分野において必要とされている。

【0009】

本発明は、 17β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)遺伝子のRNA転写物のRNA誘導サイレンシング複合体(RISC)媒介性切断をもたらすiRNA組成物を提供する。HSD17B13遺伝子は、細胞、例えば、ヒトなどの対象内の細胞内にあり得る。本発明は、HSD17B13遺伝子の発現を阻害するため、および／またはHSD17B13遺伝子の発現の阻害もしくは低減が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13関連疾患、例えば慢性線維炎症性肝疾患に罹患しているもしくは罹患しやすい対象を処置するための本発明のiRNA組成物の使用方法も提供する。

【0010】

したがって、一態様では、本発明は、細胞における 17β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤を提供する。dsRNA作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号1または2のヌクレオチド配列と1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号8または9のヌクレオチド配列と1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、dsRNA作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号1または2のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号8または9のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。

【0011】

別の態様では、本発明は、細胞における 17β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤を提供する。dsRNA作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記アンチセンス鎖は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか1つと1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む、HSD17B13をコードするmRNAとの相補性領域を含む。一部の実施形態では、dsRNA作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記アンチセンス鎖は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか1つからの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含むHSD17B13をコードするmRNAとの相補性領域を含む。

【0012】

一実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド213～242；256～287；361～385；447～480；483～529；489～529；630～653；688～711；752～777；753～779；772～806；781～806；791～851；829～858；870～896；893～930；900～930；910～932；980～1092；1101～1158；1176～1210；1320～1350；1335～1373；1456～1482；1506～1535；1558～1588；1699～1740；1725～1757；2182～2210；2190～2254；2194～2216；2240～2373；または2242～2264のいずれか1つと1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド213～242；256～287；361～385；447～480；483～529；489～529；630～653；688～711；752～777；753～779；772～806；781～806；791～851；829～858；870～896；893～930；900～930；910～932；980～1092；1101～1158；1176～1210；1320～1350；1335～1373；1456～1482；1506～1535；1558～1588；1699～1740；1725～1757；2182～2210；2190～2254；2194～2216；2240～2373；または2242～2264のいずれか1つからの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。

【0013】

別の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド71～93、101～123、108～130、109～131、112～134、123～145；213～235；220～242、256～278；292～314、293～315、299～321、301～323、324～346、349～371、350～372、351～373、352～374；353～375、355～377、356～378、357～379、361～383；363～385、365～387、402～424、422～444、423～445、427～449、428～450、431～453、447～469、489～511、490～512、507～529、541～563、547～569、548～570、585～607、589～611、592～614、593～615、620～642、630～652、631～653、632～654、649～671、676～698、688～710、723～745、728～750、752～774、753～775、755～777、757～779、763～785、764～786、772～794、778～800、780～802、781～803、791～813、792～814、794～816、795～817、807～829、828～850、829～851；832～854；836～858；838～860；839～861、840～862、832～861；870～892；874～896、894～916；895～917；896～918；897～919；898～920；899～921；900～922；901～923；902～924；906～928；908～930；894～930；910～932；965～987；966～988981～1003；1005～1027；1006～1028；1010～1032；1005～1032；1052～1074；1097～1119；1101～1123；1102～1124；1103～1125；1133～1155；1135～1157；1136～1158；1097～1125；1133～1158；1176～1198；1188～1210；1243～1265；1315～13371320～1342；1322～1344；1325～1347；1327～1349；1328～1350；1320～1507；1335～1357；1336～1358；1458～1480；1459～1481；1460～1482；1458～1482；1497～1519；1498～1520；1506～1528；1513～1535；1565～1587；1566～1588；1613～1635；1614～1636；1622～1644；1643～1665；1699～1721；1717～1739；1718～1740；1724～1746；1725～1747；1726～1748；1727～1749；1728～1750；1717～1750；1737～1759；1768～1790；2188～2210；2190～2212；2188～2212；2194～2216；2195～2217；2250～2272；2232～2254；2240～2262；2232～2262；2242～2264；2245～2267 2249～2271；2232～2271；2347～2369；2351～2373；または2347～2373のいずれか1つと1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド71～93、101～123、108～130、109～131、112～134、123～145；213～235；220～242、256～278；292～314、293～315、299～321、301～323、324～346、349～371、350～372、351～373、352～374；353～375、355～377、356～378、357～379、361～383；363～385、365～387、402～424、422～444、423～445、427～449、428～450、431～453、447～469、489～511、490～512、507～529、541～563、547～569、548～570、585～607、589～611、592～614、593～615、620～642、630～652、631～653、632～654、649～671、676～698、688～710、723～745、728～750、752～774、753～775、755～777、757～779、763～785、

10

20

30

40

50

764～786、772～794、778～800、780～802、781～803、
791～813、792～814、794～816、795～817、807～829、
828～850、829～851；832～854；836～858；838～860；
839～861、840～862、832～861；870～892；874～896、
894～916；895～917；896～918；897～919；898～920；
899～921；900～922；901～923；902～924；906～928；
908～930；894～930；910～932；965～987；966～988
81～1003；1005～1027；1006～1028；1010～1032；10
05～1032；1052～1074；1097～1119；1101～1123；11
02～1124；1103～1125；1133～1155；1135～1157；11
36～1158；1097～1125；1133～1158；1176～1198；11
88～1210；1243～1265；1315～13371320～1342；132
2～1344；1325～1347；1327～1349；1328～1350；132
0～1507；1335～1357；1336～1358；1458～1480；145
9～1481；1460～1482；1458～1482；1497～1519；149
8～1520；1506～1528；1513～1535；1565～1587；156
6～1588；1613～1635；1614～1636；1622～1644；164
3～1665；1699～1721；1717～1739；1718～1740；172
4～1746；1725～1747；1726～1748；1727～1749；172
8～1750；1717～1750；1737～1759；1768～1790；218
8～2210；2190～2212；2188～2212；2194～2216；219
5～2217；2250～2272；2232～2254；2240～2262；223
2～2262；2242～2264；2245～2267 2249～2271；223
2～2271；2347～2369；2351～2373；または2347～2373の
いずれか1つからの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。

【0014】

別の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド108～130；109
～131；108～131；112～134；293～315；301～323；293
～323；361～383；402～424；423～445；428～450；423
～450；428～453；431～453；489～511；490～512；489
～512；649～671；753～775；772～794；791～813；792
～814；795～817；791～817；829～851；832～854；836
～858；829～858；870～892；874～896；870～896；898
～920；900～922；902～924；906～928；908～930；902
～930；910～932；966～988；1328～1350；または2194～2
216；2242～2264；または2249～2271のいずれか1つと1、2、また
は3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。一部の
実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌクレオチド108～130；109～13
1；108～131；112～134；293～315；301～323；293～32
3；361～383；402～424；423～445；428～450；423～45
0；428～453；431～453；489～511；490～512；489～51
2；649～671；753～775；772～794；791～813；792～81
4；795～817；791～817；829～851；832～854；836～85
8；829～858；870～892；874～896；870～896；898～92
0；900～922；902～924；906～928；908～930；902～93
0；910～932；966～988；1328～1350；または2194～2216
；2242～2264；または2249～2271のいずれか1つからの少なくとも15
個の連続したヌクレオチドを含む。別の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌク
レオチド898～930と1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個
の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号1のヌク

10

20

30

40

50

レオチド 898～930 からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。

【0015】

一実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 910～932 と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 910～932 からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。

【0016】

一実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 2194～2216 と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 2194～2216 からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。

10

【0017】

一実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 2242～2264 と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、相補性領域は、配列番号 1 のヌクレオチド 2242～2264 からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む。

【0018】

一実施形態では、dsRNA 作用剤は少なくとも 1 つの修飾ヌクレオチドを含む。

【0019】

一実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む。別の実施形態では、アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む。さらに別の実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む。

20

【0020】

一態様では、本発明は、細胞における 17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤を提供する。dsRNA 作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号 1 または 2 のヌクレオチド配列と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号 8 または 9 のヌクレオチド配列と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、センス鎖は、3' 末端に付着したリガンドとコンジュゲートしている。一部の実施形態では、dsRNA 作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号 1 または 2 のヌクレオチド配列からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号 8 または 9 のヌクレオチド配列からの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、センス鎖は、3' 末端に付着したリガンドとコンジュゲートしている。

30

【0021】

一実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む。別の実施形態では、アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む。さらに別の実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む。

40

【0022】

一実施形態では、前記修飾ヌクレオチドの少なくとも 1 つが、デオキシヌクレオチド、3' 末端デオキシチミン (dT) ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-デオキシ修飾ヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、アンロックドヌクレオチド、コンフォメーションが制限されたヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、2'-アミノ修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、2'-C-アルキル修飾ヌクレオチド、2'-ヒドロキシル修飾ヌク

50

レオチド、2'-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホラミデート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾ヌクレオチド、1,5-アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、5'-リン酸を含むヌクレオチド、5'-リン酸模倣体を含むヌクレオチド、グリコール修飾ヌクレオチド、および2'-O-(N-メチルアセトアミド)修飾ヌクレオチド、ならびにこれらの組合せからなる群から選択される。

【0023】

一実施形態では、ヌクレオチド修飾は、2'-O-メチルおよび／または2'-フルオロ修飾である。

【0024】

相補性領域は、少なくとも17ヌクレオチド長；19～30ヌクレオチド長；19～25ヌクレオチド長；または21～23ヌクレオチド長であり得る。

【0025】

各鎖は、30ヌクレオチド長以下であり得る、例えば、各鎖は、独立に、19～30ヌクレオチド長である；各鎖は、独立に、19～25ヌクレオチド長である；各鎖は、独立に、21～23ヌクレオチド長である。

【0026】

dsRNAは、少なくとも1ヌクレオチドの3'突出を含む少なくとも1つの鎖；または少なくとも2ヌクレオチドの3'突出を含む少なくとも1つの鎖を含み得る。

【0027】

一実施形態では、dsRNA作用剤は、リガンドをさらに含む。

【0028】

一実施形態では、リガンドは、dsRNA作用剤のセンス鎖の3'末端とコンジュゲートしている。

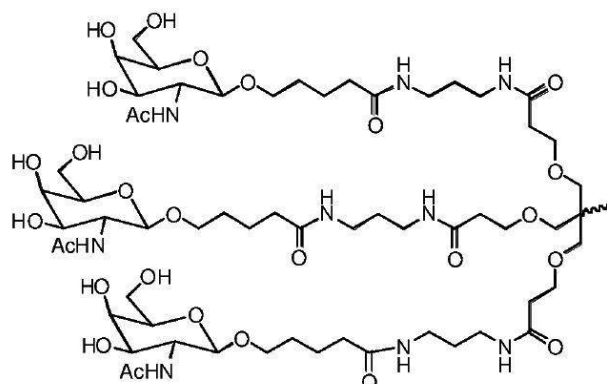
【0029】

一実施形態では、リガンドは、N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）誘導体である。

【0030】

一実施形態では、リガンドは、

【化1】



である。

【0031】

一実施形態では、dsRNA作用剤は、以下の概略図に示されるリガンド

10

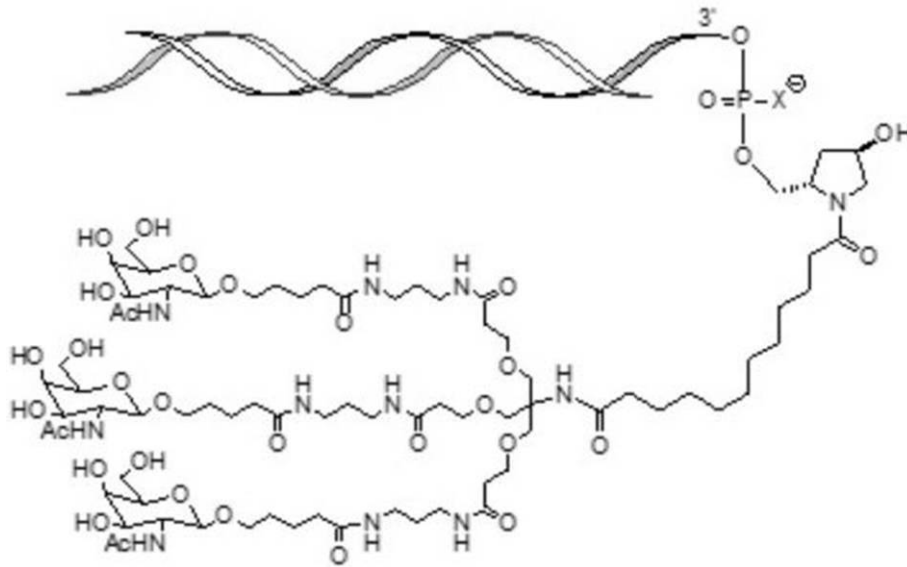
20

30

40

50

【化 2】



10

とコンジュゲートしており、Xは、OまたはSである。

【0032】

20

一実施形態では、XはOである。

【0033】

一実施形態では、相補性領域は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つにおけるアンチセンス配列のいずれか1つを含む。

【0034】

一態様では、本発明は、細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖を提供する。dsRNA作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約14～約30ヌクレオチド長であり、前記dsRNA作用剤は、式(III)：

30

センス：5' η_p -N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q 3'

アンチセンス：3' $\eta_{p'}$ -N_b'-(X'X'X'_k)N_b'-Y'Y'Y'_b-N_b'-(Z'Z'Z')_l-N_a'-n_q' 5' (III)

(式中、

i、j、k、およびlは、それぞれ独立に、0または1であり；

p、p'、q、およびq'は、それぞれ独立に、0～6であり；

各N_aおよびN_a'は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

40

各N_bおよびN_b'は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各n_p、n_p'、n_q、およびn_q'は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、およびZ'Z'Z'は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し；

N_bに対する修飾はYに対する修飾とは異なり、N_b'に対する修飾はY'に対する修飾とは異なる)

によって表され、

センス鎖は、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている。

50

【0035】

一実施形態では、 i は0である； j は0である； i は1である； j は1である； i および j はどちらも0である；または i および j はどちらも1である。別の実施形態では、 k は0である； l は0である； k は1である； l は1である； k および l はどちらも0である；または k および l はどちらも1である。

【0036】

一実施形態では、 XXX は $X'X'X'$ と相補的であり、 YYY は $Y'Y'Y'$ と相補的であり、 ZZZ は $Z'Z'Z'$ と相補的である。

【0037】

一実施形態では、 YYY モチーフは、センス鎖の切断部位またはその付近に存在する、
例えば、 $Y'Y'Y'$ モチーフは、アンチセンス鎖の5'末端から11位、12位および13位に存在する。

【0038】

一実施形態では、式 (III) は、式 (III a) :

センス: $5' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{YYY} - \text{N}_a - \text{n}_q 3'$

アンチセンス: $3' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{Y}'\text{Y}'\text{Y}' - \bar{\text{a}}\text{N} \text{n}_q 5'$ (III a)

によって表される。

別の実施形態では、式 (III) は、式 (III b) :

センス: $5' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{YYY} - \text{N}_b - \text{ZZZ} - \text{N}_a - \text{n}_q 3'$

アンチセンス: $3' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{Y}'\text{Y}'\text{Y}' - \bar{\text{b}}\text{N} \text{Z}'\text{Z}'\text{Z}' - \bar{\text{a}}\text{N} \text{n}_q 5'$ (III b)

)

(式中、

各 N_b および N_b' は、独立に、1～5個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)

によって表される。

【0039】

さらに別の実施形態では、式 (III) は、式 (III c) :

センス: $5' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{XXX} - \text{N}_b - \text{YYY} - \text{N}_a - \text{n}_q 3'$

アンチセンス: $3' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{X}'\text{X}'\text{X}' - \bar{\text{b}}\text{N} \text{Y}'\text{Y}'\text{Y}' - \bar{\text{a}}\text{N} \text{n}_q 5'$ (III c)

)

(式中、

各 N_b および N_b' は、独立に、1～5個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)

によって表される。

【0040】

別の実施形態では、式 (III) は、式 (III d) :

センス: $5' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{XXX} - \text{N}_b - \text{YYY} - \text{N}_b - \text{ZZZ} - \text{N}_a - \text{n}_q 3'$

アンチセンス: $3' \text{ } \eta \text{p} - \text{N}_a - \text{X}'\text{X}'\text{X}' - \bar{\text{b}}\text{N} \text{Y}'\text{Y}'\text{Y}' - \bar{\text{b}}\text{N} \text{Z}'\text{Z}'\text{Z}' - \bar{\text{a}}\text{N} \text{n}_q 5'$ (III d)

(式中、

各 N_b および N_b' は、独立に、1～5個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各 N_a および N_a' は、独立に、2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)

によって表される。

【0041】

相補性領域は、少なくとも17ヌクレオチド長；19～30ヌクレオチド長；19～25ヌクレオチド長；または21～23ヌクレオチド長であり得る。

【0042】

各鎖は、30ヌクレオチド長以下であり得る、例えば、各鎖は、独立に、19～30ヌクレオチド長である。

10

20

30

40

50

【0043】

一実施形態では、ヌクレオチドに対する修飾は、LNA、HNA、CeNA、2'-メトキシエチル、2'-O-アルキル、2'-O-アリル、2'-C-アリル、2'-フルオロ、2'-O-メチル、2'-デオキシ、2'-ヒドロキシル、およびこれらの組合せからなる群から選択される。

【0044】

一実施形態では、ヌクレオチドに対する修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾である。

【0045】

一実施形態では、Y'は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾ヌクレオチドである。 10

【0046】

一実施形態では、dsRNA作用剤の少なくとも一方の鎖は、少なくとも1ヌクレオチドの3'突出；または少なくとも2ヌクレオチドの3'突出を含み得る。

【0047】

一実施形態では、dsRNA作用剤は、少なくとも1つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結をさらに含む。

【0048】

一実施形態では、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結は、一方の鎖の3'末端にある。一実施形態では、鎖は、アンチセンス鎖である。別の実施形態では、鎖は、センス鎖である。 20

【0049】

一実施形態では、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結は、一方の鎖の5'末端にある。一実施形態では、鎖は、アンチセンス鎖である。別の実施形態では、鎖は、センス鎖である。

【0050】

一実施形態では、鎖は、アンチセンス鎖である。別の実施形態では、鎖は、センス鎖である。

【0051】

一実施形態では、ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結は、一方の鎖の5'および3'末端の両方にある。 30

【0052】

一実施形態では、二重鎖のアンチセンス鎖の5'末端の1位の塩基対は、AU塩基対である。

【0053】

一実施形態では、 $p' > 0$ である。別の実施形態では、 $p' = 2$ である。

【0054】

一実施形態では、 $q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的mRNAと相補的である。別の実施形態では、 $q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的mRNAと非相補的である。

【0055】

一実施形態では、センス鎖は合計21ヌクレオチドを有し、アンチセンス鎖は合計23ヌクレオチドを有する。 40

【0056】

一実施形態では、少なくとも1つの n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している。別の実施形態では、全ての n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している。

【0057】

一実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む。

【0058】

一実施形態では、リガンドは、 $dsRNA$ 作用剤のセンス鎖の3'末端とコンジュゲートしている。

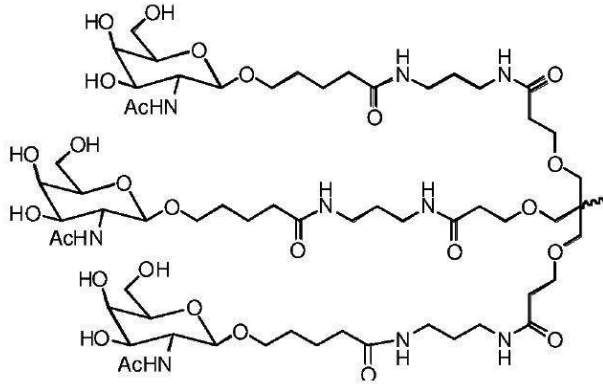
【0059】

一実施形態では、リガンドは、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着している1つまたは複数のN-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 誘導体である。

【0060】

一実施形態では、リガンドは、

【化3】



10

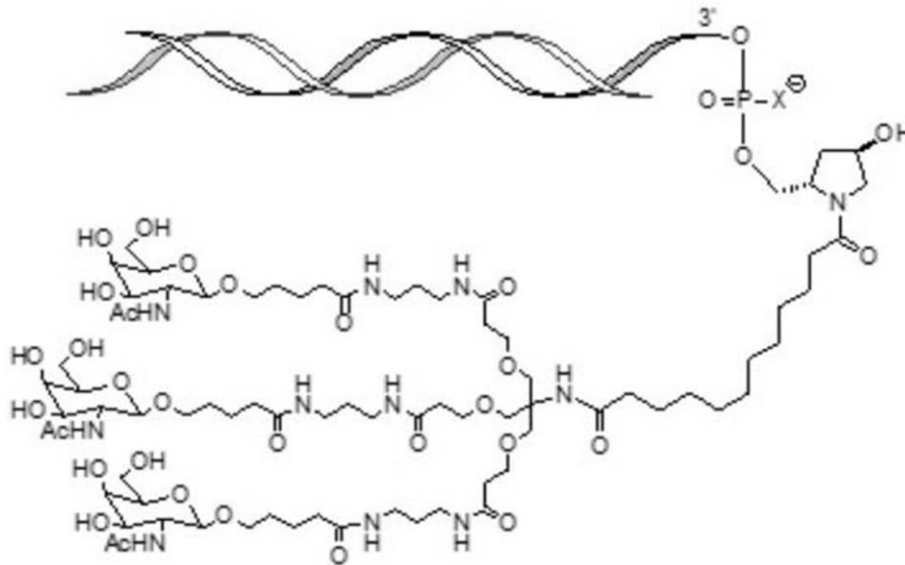
である。

20

【0061】

一実施形態では、 $dsRNA$ 作用剤は、以下の概略図に示されるリガンド

【化4】



30

とコンジュゲートしており、Xは、OまたはSである。

40

【0062】

一実施形態では、XはOである。

【0063】

一態様では、本発明は、細胞における17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 ($dsRNA$) 作用剤を提供する。 $dsRNA$ 作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約14～約30ヌクレオチド長であり、 $dsRNA$ 作用剤は、式(III)：

センス：5' ρ -N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q

50

3'

アンチセンス：3' η_p ' - N_b ' - (X' X' X_k^2) N_b ' - Y' Y' Y' b^2 N (Z' Z' Z') l - N_a ' - η_q ' 5' (III)

(式中、

i、j、k、およびlは、それぞれ独立に、0または1であり；

p、p'、q、およびq'は、それぞれ独立に、0～6であり；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 n_p 、 n_p' 、 η_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、およびZ'Z'Z'は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾はYに対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾はY'に対する修飾とは異なる)

によって表され、

センス鎖は、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている。

[0064]

一態様では、本発明は、細胞における17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤を提供する。dsRNA作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約14～約30ヌクレオチド長であり、dsRNA作用剤は、式(III)：

センス：5' η_p - N_a - (XXX) i - N_b - YYY - N_b - (ZZZ) j - N_a - n_q 3'

アンチセンス：3' η_p ' - N_b ' - (X'X'X' X_k^2) N_b ' - Y'Y'Y' b^2 N (Z'Z'Z') l - N_a ' - η_q ' 5' (III)

(式中、

i、j、k、およびlは、それぞれ独立に、0または1であり；

各 n_p 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p、q、およびq'は、それぞれ独立に、0～6であり；

$n_p' > 0$ であり、少なくとも1つの η_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、およびZ'Z'Z'は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾はYに対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾はY'に対する修飾とは異なる)

によって表され、

センス鎖は、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている。

[0065]

一態様では、本発明は、細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤を提供する。dsRNA作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約14〜約30ヌクレオチド長であり、dsRNA作用剤は、式(III)：

センス：5' η_p -N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q3'

アンチセンス：3' η_p' -N_b'-(X'X'X'_k)N_b'-Y'Y'Y'_b-N_b'-(Z'Z'Z'_l-N_a'-n_q'5' (III)

(式中、

i、j、k、およびlは、それぞれ独立に、0または1であり；

各n_p、n_q、およびn_q'は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p、q、およびq'は、それぞれ独立に、0〜6であり；

n_p' > 0であり、少なくとも1つの η_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各N_aおよびN_a'は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0〜25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各N_bおよびN_b'は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0〜10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、およびZ'Z'Z'は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_bに対する修飾はYに対する修飾とは異なり、N_b'に対する修飾はY'に対する修飾とは異なる)

によって表され、

センス鎖は、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしており、リガンドは、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体である。

【0066】

一態様では、本発明は、細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤を提供する。dsRNA作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約14〜約30ヌクレオチド長であり、dsRNA作用剤は、式(III)：

センス：5' η_p -N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q3'

アンチセンス：3' η_p' -N_b'-(X'X'X'_k)N_b'-Y'Y'Y'_b-N_b'-(Z'Z'Z'_l-N_a'-n_q'5' (III)

(式中、

i、j、k、およびlは、それぞれ独立に、0または1であり；

各n_p、n_q、およびn_q'は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p、q、およびq'は、それぞれ独立に、0〜6であり；

n_p' > 0であり、少なくとも1つの η_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各N_aおよびN_a'は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0〜25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

$X X X$ 、 $Y Y Y$ 、 $Z Z Z$ 、 $X' X' X'$ 、 $Y' Y' Y'$ 、および $Z' Z' Z'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、修飾は 2' - O - メチルまたは 2' - フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる）

によって表され、

センス鎖は、少なくとも 1 つのホスホロチオエート連結を含み；

センス鎖は、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、リガンドは、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の $GalNAc$ 誘導体である。

【0067】

一態様では、本発明は、細胞における 17β - 水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 ($HSD17B13$) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 ($dsRNA$) 作用剤を提供する。 $dsRNA$ 作用剤は、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、アンチセンス鎖は、 $HSD17B13$ をコードする $mRNA$ の一部と相補的な領域を含み、各鎖は、約 14 ～ 約 30 ヌクレオチド長であり、 $dsRNA$ 作用剤は、式 (III)：

センス： $5' - n_p - N_a - Y Y Y - N_a - n_q 3'$

アンチセンス： $3' - n_p' - N_b' - Y' Y' Y' - n_q' 5'$ (IIIa)

(式中、

各 n_p 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0 ～ 6 であり；

$n_p' > 0$ であり、少なくとも 1 つの n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ～ 25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

$Y Y Y$ および $Y' Y' Y'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、修飾は、2' - O - メチルおよび / または 2' - フルオロ修飾である)

によって表され、

センス鎖は、少なくとも 1 つのホスホロチオエート連結を含み；

センス鎖は、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、リガンドは、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の $GalNAc$ 誘導体である。

【0068】

一態様では、本発明は、細胞における 17β - 水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 ($HSD17B13$) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 ($dsRNA$) 作用剤を提供する。 $dsRNA$ 作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号 1 または 2 のヌクレオチド配列と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号 8 または 9 のヌクレオチド配列と 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含み、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2' - O - メチル修飾および 2' - フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、センス鎖は、5' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2' - O - メチル修飾および 2' - フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、アンチセンス鎖は、5' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結、および 3' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、

10

20

30

40

50

センス鎖は、3'末端において一価、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体とコンジュゲートしている。一部の実施形態では、dsRNA作用剤は、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号1または2のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、アンチセンス鎖は、配列番号8または9のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2'-O-メチル修飾および2'-フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、センス鎖は、5'末端に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2'-O-メチル修飾および2'-フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、アンチセンス鎖は、5'末端に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結、および3'末端に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、センス鎖は、3'末端において一価、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体とコンジュゲートしている。

10

【0069】

一実施形態では、センス鎖のヌクレオチドの全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾ヌクレオチドである。

【0070】

一実施形態では、相補性領域は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか1つを含む。一実施形態では、作用剤は、AD-288917、AD-288996、AD-413639、AD-413644、およびAD-413669からなる群から選択される。一実施形態では、RNAi作用剤は、AD-288917である。別の実施形態では、作用剤は、AD-288996である。別の実施形態では、作用剤は、AD-413639である。一実施形態では、作用剤は、AD-413644である。別の実施形態では、作用剤は、AD-413669である。

20

【0071】

一実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙される作用剤のいずれか1つのヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む。

【0072】

本発明は、本発明のdsRNA作用剤のいずれかを含む細胞、ベクター、および医薬組成物も提供する。dsRNA作用剤は、緩衝化されていない溶液、例えば、生理食塩水または水中に、あるいは緩衝化された溶液、例えば、アセテート、シトレート、プロラミン、カーボネート、もしくはホスフェート、またはこれらの任意の組合せを含む溶液中に製剤化することができる。一実施形態では、緩衝化された溶液は、リン酸緩衝食塩水(PBS)である。

30

【0073】

一態様では、本発明は、細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)発現を阻害する方法を提供する。方法は、細胞を本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物と接触させ、それにより、細胞におけるHSD17B13の発現を阻害することを含む。

40

【0074】

細胞は、ヒト対象などの対象内にあり得る。

【0075】

一実施形態では、HSD17B13発現は少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%阻害される、またはHSD17B13発現の検出レベル未満に阻害される。

【0076】

一実施形態では、ヒト対象は、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している。一実施形態では、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態は

50

、慢性線維炎症性肝疾患である。一実施形態では、慢性線維炎症性肝疾患は、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死からなる群から選択される。

【0077】

一態様では、本発明は、対象におけるHSD17B13の発現を阻害する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物を投与し、それにより、対象におけるHSD17B13の発現を阻害することを含む。

【0078】

別の態様では、本発明は、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置することを含む。

10

【0079】

別の態様では、本発明は、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも1つの症状を防止する方法を提供する。方法は、対象に、予防有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも1つの症状を防止することを含む。

【0080】

20

別の態様では、本発明は、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させる方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物を投与し、それにより、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させることを含む。

【0081】

さらに別の態様では、本発明は、脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物を投与し、それにより、対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害することを含む。

【0082】

30

一態様では、本発明は、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象の肝臓における脂肪滴の蓄積を阻害する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象の肝臓における脂肪の蓄積を阻害することを含む。

【0083】

別の態様では、本発明は、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置することを含む。

40

【0084】

別の態様では、本発明は、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも1つの症状を防止する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における

50

少なくとも1つの症状を防止することを含む。

【0085】

別の態様では、本発明は、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させる方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させることを含む。

【0086】

別の態様では、本発明は、脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害する方法を提供する。方法は、対象に、治療有効量の本発明のdsRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害することを含む。

【0087】

一実施形態では、dsRNA作用剤または医薬組成物の対象への投与により、HSD17B13酵素活性の低下、HSD17B13タンパク質蓄積の減少、PNPLA3酵素活性の低下、PNPLA3タンパク質蓄積の減少、ならびに／または対象の肝臓における脂肪の蓄積および／もしくは脂肪滴の増大の低減が引き起こされる。

【0088】

一実施形態では、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態は、慢性線維炎症性肝疾患である。

【0089】

一実施形態では、慢性線維炎症性肝疾患は、肝臓における脂肪の蓄積、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死からなる群から選択される。

【0090】

一実施形態では、慢性線維炎症性肝疾患は、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）である。

【0091】

一実施形態では、対象は、肥満である。

【0092】

一実施形態では、本発明の方法および使用は、追加的な治療薬を対象に投与することをさらに含む。

【0093】

一実施形態では、dsRNA作用剤を対象に約0.01mg/kg～約10mg/kgまたは約0.5mg/kg～約50mg/kgの用量で投与する。

【0094】

作用剤は、対象に静脈内、筋肉内、または皮下投与することができる。一実施形態では、作用剤を対象に皮下投与する。

【0095】

一実施形態では、本発明の方法および使用は、対象におけるHSD17B13のレベルを決定することをさらに含む。

【0096】

一態様では、本発明は、細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型（HSD17B13）の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（dsRNA）作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖が、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つにおける作用剤のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、アンチセンス鎖が、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つにおける作用剤のいずれか1つのヌクレオチド配列を含み、センス鎖のヌクレオ

10

20

30

40

50

チドの実質的に全ておよびアンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドである、dsRNA作用剤であり、リガンドとコンジュゲートしている、dsRNA作用剤を提供する。

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤であって、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記センス鎖が、配列番号1または2のヌクレオチド配列と3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖が、配列番号8または9のヌクレオチド配列と3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む、dsRNA作用剤。

10

(項目2)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記アンチセンス鎖が、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか1つと3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む、HSD17B13をコードするmRNAとの相補性領域を含む、dsRNA作用剤。

(項目3)

少なくとも1つの修飾ヌクレオチドを含む、項目1または2に記載のdsRNA作用剤。

20

(項目4)

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、項目1から3までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目5)

前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、項目1から3までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目6)

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾を含む、項目1から3までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

30

(項目7)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖RNA(dsRNA)作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、

前記センス鎖が、配列番号1または2のヌクレオチド配列と3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖が、配列番号8または9のヌクレオチド配列と3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、

40

前記センス鎖が、3'末端に付着したリガンドとコンジュゲートしている、dsRNA作用剤。

(項目8)

前記センス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、項目7に記載のdsRNA作用剤。

(項目9)

前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、項目7に記載のdsRNA作用剤。

(項目10)

前記センス鎖のヌクレオチドの全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、項目7に記載のdsRNA作用剤。

50

(項目 1 1)

前記修飾ヌクレオチドの少なくとも1つが、デオキシヌクレオチド、3'末端デオキシチミン(dT)ヌクレオチド、2'-O-メチル修飾ヌクレオチド、2'-フルオロ修飾ヌクレオチド、2'-デオキシ修飾ヌクレオチド、ロックドヌクレオチド、アンロックドヌクレオチド、コンフォメーションが制限されたヌクレオチド、拘束エチルヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、2'-アミノ修飾ヌクレオチド、2'-O-アリル修飾ヌクレオチド、2'-C-アルキル修飾ヌクレオチド、2'-ヒドロキシル修飾ヌクレオチド、2'-メトキシエチル修飾ヌクレオチド、2'-O-アルキル修飾ヌクレオチド、モルホリノヌクレオチド、ホスホラミデート、非天然塩基を含むヌクレオチド、テトラヒドロピラン修飾ヌクレオチド、1,5-アンヒドロヘキシトール修飾ヌクレオチド、シクロヘキセニル修飾ヌクレオチド、ホスホロチオエート基を含むヌクレオチド、メチルホスホネート基を含むヌクレオチド、5'-リン酸を含むヌクレオチド、5'-リン酸模倣体を含むヌクレオチド、グリコール修飾ヌクレオチド、および2'-O-(N-メチルアセトアミド)修飾ヌクレオチド、ならびにこれらの組合せからなる群から選択される、項目3から10までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

10

(項目 1 2)

前記ヌクレオチド修飾が、2'-O-メチルおよび／または2'-フルオロ修飾である、項目11に記載のdsRNA作用剤。

(項目 1 3)

前記相補性領域が、少なくとも17ヌクレオチド長である、項目1から12までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

20

(項目 1 4)

前記相補性領域が、19~30ヌクレオチド長である、項目1から13までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目 1 5)

前記相補性領域が、19~25ヌクレオチド長である、項目14に記載のdsRNA作用剤。

(項目 1 6)

前記相補性領域が、21~23ヌクレオチド長である、項目15に記載のdsRNA作用剤。

30

(項目 1 7)

各鎖が30ヌクレオチド長以下である、項目1から16までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目 1 8)

各鎖が独立に、19~30ヌクレオチド長である、項目1から17までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目 1 9)

各鎖が独立に、19~25ヌクレオチド長である、項目18に記載のdsRNA作用剤。

(項目 2 0)

各鎖が独立に、21~23ヌクレオチド長である、項目18に記載のdsRNA作用剤。

40

(項目 2 1)

少なくとも一方の鎖が、少なくとも1ヌクレオチドの3'突出を含む、項目1から20までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目 2 2)

少なくとも一方の鎖が、少なくとも2ヌクレオチドの3'突出を含む、項目21に記載のdsRNA作用剤。

(項目 2 3)

リガンドをさらに含む、項目1から6までおよび11から22までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目 2 4)

50

前記リガンドが、前記 dsRNA 作用剤の前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしている、項目 23 に記載の dsRNA 作用剤。

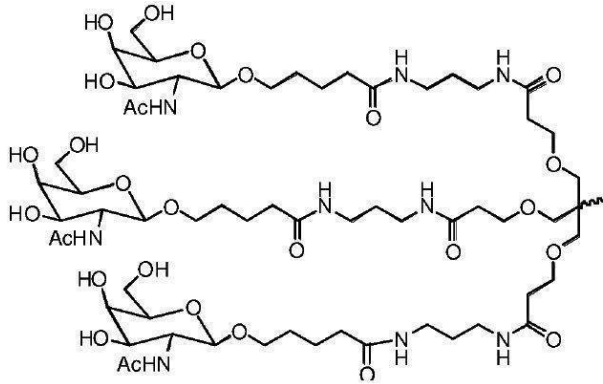
(項目 25)

前記リガンドが、N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 誘導体である、項目 7 または 24 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 26)

前記リガンドが、

【化 34】



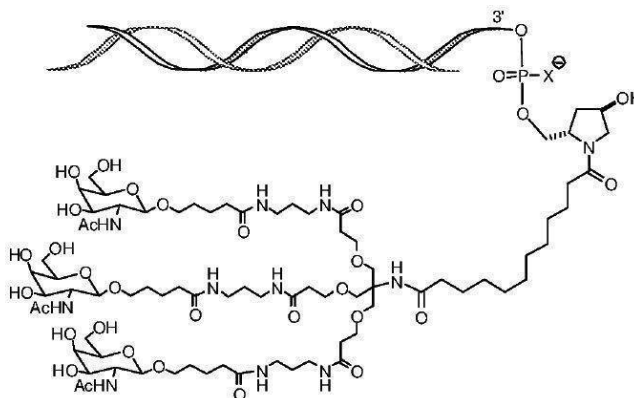
10

である、項目 25 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 27)

以下の概略図

【化 35】



30

に示されるリガンドとコンジュゲートしており、X が O または S である、項目 26 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 28)

X が O である、項目 27 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 29)

前記相補性領域が、表 2、3、7、8、10、11、または 13 のいずれか 1 つにおけるアンチセンス配列のいずれか 1 つを含む、項目 2 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 30)

細胞における 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、HSD17B13 をコードする mRNA の一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約 14~約 30 ヌクレオチド長である、dsRNA 作用剤であり、式 (III) :

センス: 5' η_p - N_a - (XXX)_i - N_b - YYY - N_b - (ZZZ)_j - N_a - η_q
3' アンチセンス: 3' ρ_n - N_b' - (X'X'X'_k)_l - N_b' - Y'Y'Y'_b - N_a' - (Z'Z'

50

$Z')_L - N_a' - n_q' 5' (III)$

(式中、

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0または1であり；

p 、 p' 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0～6であり；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 n_p 、 n_p' 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し；

N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる)

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている、dsRNA作用剤。

(項目31)

i が0である； j が0である； i が1である； j が1である； i および j がどちらも0である；または i および j がどちらも1である、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目32)

k が0である； l が0である； k が1である； l が1である； k および l がどちらも0である；または k および l がどちらも1である、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目33)

XXX が $X'X'X'$ と相補的であり、 YYY が $Y'Y'Y'$ と相補的であり、 ZZZ が $Z'Z'Z'$ と相補的である、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目34)

前記 YYY モチーフが、前記センス鎖の切断部位またはその付近に存在する、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目35)

前記 $Y'Y'Y'$ モチーフが、前記アンチセンス鎖の5'末端から11位、12位および13位に存在する、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目36)

式(III)が、式(IIIa)：

センス：5' $n_p - N_a - YYY - N_a - n_q 3'$

アンチセンス：3' $n_p - N_a - Y'Y'Y' - \bar{a} N n_q 5'$ (IIIa) によって表される、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目37)

式(III)が、式(IIIb)：

センス：5' $n_p - N_a - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q 3'$

アンチセンス：3' $n_p - N_a - Y'Y'Y' - \bar{b} N Z'Z'Z' - \bar{a} N n_q 5'$ (IIIb)

(式中、各 N_b および N_b' は、独立に、1～5個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)

で表される、項目30に記載のdsRNA作用剤。

(項目38)

式(III)が、式(IIIc)：

センス：5' $n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_a - n_q 3'$

アンチセンス：3' $n_p - N_a - X'X'X' - \bar{b} N Y'Y'Y' - \bar{a} N n_q 5'$ (IIIc)

(式中、各 N_b および N_b' は、独立に、1～5個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌク

10

20

30

40

50

レオチド配列を表す)

によって表される、項目 30 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 39)

式 (III) が、式 (III d) :

センス: 5' η - N_a - XXX - N_b - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q 3'

アンチセンス: 3' η - N_a - X'X'X' - N_b - Y'Y'Y' - N_b - Z'Z'Z' - N_a - n_q 5' (III d)

(式中、各 N_b および N_b' は、独立に、1~5 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各 N_a および N_a' は、独立に、2~10 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す)

によって表される、項目 30 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 40)

前記相補性領域が、少なくとも 17 ヌクレオチド長である、項目 30 から 39 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 41)

前記相補性領域が、19~30 ヌクレオチド長である、項目 30 から 39 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 42)

前記相補性領域が、19~25 ヌクレオチド長である、項目 41 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 43)

前記相補性領域が、21~23 ヌクレオチド長である、項目 42 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 44)

各鎖が、30 ヌクレオチド長以下である、項目 30 から 43 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 45)

各鎖が、独立に、19~30 ヌクレオチド長である、項目 30 から 43 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 46)

前記ヌクレオチドに対する修飾が、LNA、HNA、CeNA、2'-メトキシエチル、2'-O-アルキル、2'-O-アリル、2'-C-アリル、2'-フルオロ、2'-O-メチル、2'-デオキシ、2'-ヒドロキシル、およびこれらの組合せからなる群から選択される、項目 30 から 45 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 47)

前記ヌクレオチドに対する修飾が、2'-O-メチルおよび/または 2'-フルオロ修飾である、項目 46 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 48)

前記 Y' が、2'-O-メチルまたは 2'-フルオロ修飾ヌクレオチドである、項目 30 から 46 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 49)

少なくとも一方の鎖が、少なくとも 1 ヌクレオチドの 3' 突出を含む、項目 30 から 48 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 50)

少なくとも一方の鎖が、少なくとも 2 ヌクレオチドの 3' 突出を含む、項目 30 から 49 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 51)

前記 dsRNA 作用剤が、少なくとも 1 つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結をさらに含む、項目 30 から 50 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

10

20

30

40

50

(項目 5 2)

前記ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が、一方の鎖の 3' 末端にある、項目 5 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 3)

前記鎖が、前記アンチセンス鎖である、項目 5 2 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 4)

前記鎖が、前記センス鎖である、項目 5 2 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 5)

前記ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が、一方の鎖の 5' 末端にある、項目 5 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 6)

前記鎖が、前記アンチセンス鎖である、項目 5 5 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 7)

前記鎖が、前記センス鎖である、項目 5 5 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 8)

前記ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が、一方の鎖の 5' および 3' 末端の両方にある、項目 5 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 5 9)

二重鎖のアンチセンス鎖の 5' 末端の 1 位の塩基対が AU 塩基対である、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 0)

$p' > 0$ である、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 1)

$p' = 2$ である、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 2)

$q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的 mRNA と相補的である、項目 6 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 3)

$q' = 0$ 、 $p = 0$ 、 $q = 0$ であり、 p' 突出ヌクレオチドが標的 mRNA と非相補的である、項目 6 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 4)

前記センス鎖が合計 21 ヌクレオチドを有し、前記アンチセンス鎖が合計 23 ヌクレオチドを有する、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 5)

少なくとも 1 つの $n_{p'}$ が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 6)

全ての $n_{p'}$ が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している、項目 6 5 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 7)

前記センス鎖のヌクレオチドの全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾を含む、項目 3 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 8)

前記リガンドが前記 dsRNA 作用剤の前記センス鎖の 3' 末端とコンジュゲートしている、項目 3 0 から 6 7 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 6 9)

前記リガンドが、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着している 1 つまたは複数の N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 誘導体である、項目 6 8 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 7 0)

10

20

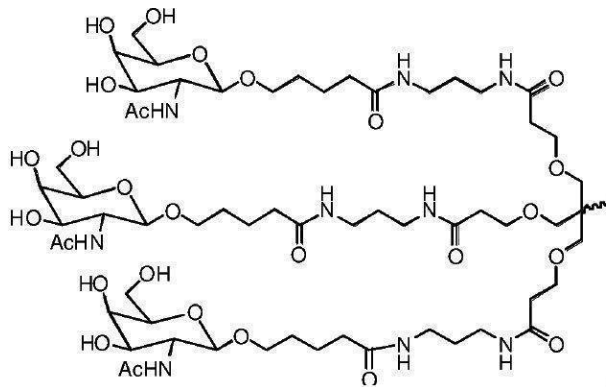
30

40

50

前記リガンドが、

【化 3 6】



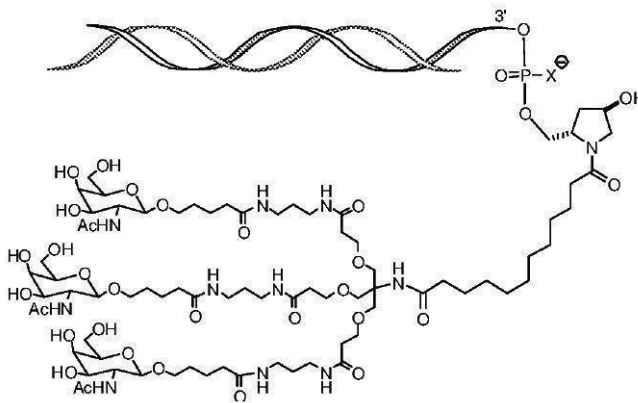
10

である、項目 6 9 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 7 1)

以下の概略図に示されるリガンド

【化 3 7】



20

とコンジュゲートしており、

X が O または S である、項目 7 0 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 7 2)

X が O である、項目 7 1 に記載の dsRNA 作用剤。

(項目 7 3)

細胞における 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、HSD17B13 をコードする mRNA の一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約 14～約 30 ヌクレオチド長である、dsRNA 作用剤であり、式 (I I I) :

センス: 5' η_p - N_a - (XXX) $_i$ - N_b - YYY - N_b - (ZZZ) $_j$ - N_a - n_q 3' 40

アンチセンス: 3' $\eta_{p'}$ - $N_{b'}$ - (X'X'X' $^{\prime}$) $N_{b'}$ - Y'Y'Y' $_b$ - (Z'Z'Z') $_j$ - $N_{a'}$ - $n_{q'}$ 5'

(式中、

i、j、k、および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；
p、p'、q、および q' は、それぞれ独立に、0～6 であり；

各 N_a および $N_{a'}$ は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0～25 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および $N_{b'}$ は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0～10 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

50

各 n_p 、 n_p' 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、前記修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾が Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾が Y' に対する修飾とは異なる）

で表され、

前記センス鎖が、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている、 $dsRNA$ 作用剤。

(項目74)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸($dsRNA$)作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約14~約30ヌクレオチド長である、 $dsRNA$ 作用剤であり、式(III)：

センス：5'- n_p - N_a -(XXX) $_i$ - N_b - YYY - N_b -(ZZZ) $_j$ - N_a - n_q 3'

アンチセンス：3'- n_p' - N_b' -($X'X'X'_k$)- N_b' - $Y'Y'Y'_b$ - N -($Z'Z'Z'$) $_l$ - N_a' - n_q' 5' (III)

(式中、

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0または1であり；

各 n_p 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0~6であり；

$n_p' > 0$ であり、少なくとも1つの n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0~25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0~10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、前記修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる）

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしている、 $dsRNA$ 作用剤。

(項目75)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸($dsRNA$)作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、HSD17B13をコードするmRNAの一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約14~約30ヌクレオチド長である、 $dsRNA$ 作用剤であり、式(III)：

センス：5'- n_p - N_a -(XXX) $_i$ - N_b - YYY - N_b -(ZZZ) $_j$ - N_a - n_q 3'

アンチセンス：3'- n_p' - N_b' -($X'X'X'_k$)- N_b' - $Y'Y'Y'_b$ - N -($Z'Z'Z'$) $_l$ - N_a' - n_q' 5' (III)

(式中、

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0または1であり；

10

20

30

40

50

各 n_p 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0～6であり；

$n_p' > 0$ であり、少なくとも1つの n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、前記修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる）

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数の $GaINAc$ 誘導体である、

$dsRNA$ 作用剤。

（項目76）

細胞における17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素13型（ $HSD17B13$ ）の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（ $dsRNA$ ）作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、 $HSD17B13$ をコードする $mRNA$ の一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約14～約30ヌクレオチド長である、 $dsRNA$ 作用剤であり、式（ III ）：

センス：5'- $n_p-N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q3'$
 アンチセンス：3'- $n_p'-N_b'-(X'X'X')_k-N_b'-Y'Y'Y'_b-N_b'-(Z'Z'Z')_l-N_a'-n_q'5'$ （ III ）

（式中、

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0または1であり；

各 n_p 、 n_q 、および n_q' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

p 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0～6であり；

$n_p' > 0$ であり、少なくとも1つの n_p' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており；

各 N_a および N_a' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～25ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b および N_b' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである0～10ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 、および $Z'Z'Z'$ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表し、前記修飾は2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり；

N_b に対する修飾は Y に対する修飾とは異なり、 N_b' に対する修飾は Y' に対する修飾とは異なる）

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも1つのホスホロチオエート連結を含み；

前記センス鎖が、少なくとも1つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数の $GaINAc$

10

20

30

40

50

A c 誘導体である、
d s R N A 作用剤。

(項目 7 7)

細胞における 1 7 β - 水酸化ステロイド脱水素酵素 1 3 型 (H S D 1 7 B 1 3) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (d s R N A) 作用剤であって、アンチセンス鎖と相補的なセンス鎖を含み、前記アンチセンス鎖が、H S D 1 7 B 1 3 をコードする m R N A の一部と相補的な領域を含み、各鎖が、約 1 4 ~ 約 3 0 ヌクレオチド長である、d s R N A 作用剤であり、式 (I I I) :

センス: 5 ' η_p - N_a - Y Y Y - N_a - n_q 3 ' 10
アンチセンス: 3 ' η_p ' - N_a ' - Y ' Y ' Y ' a ' N_q ' 5 ' (I I I a)

(式中、

各 n_p、n_q、および n_q ' は、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し;

p、q、および q ' は、それぞれ独立に、0 ~ 6 であり;

n_p ' > 0 であり、少なくとも 1 つの η_p ' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており;

各 N_a および N_a ' は、独立に、修飾されているかもしくは修飾されていない、またはその組合せである 0 ~ 2 5 ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み;

Y Y Y および Y ' Y ' Y ' は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表し、前記修飾は 2 ' - O - メチルまたは 2 ' - フルオロ修飾である) 20

によって表され、

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのホスホロチオエート連結を含み;

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのリガンドとコンジュゲートしており、前記リガンドが、一価、二価、または三価の分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の G a l N A c 誘導体である、

d s R N A 作用剤。

(項目 7 8)

細胞における 1 7 β - 水酸化ステロイド脱水素酵素 1 3 型 (H S D 1 7 B 1 3) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (d s R N A) 作用剤であって、二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、 30

前記センス鎖が、配列番号 1 または 2 のヌクレオチド配列と 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 1 5 個の連続したヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖が、配列番号 8 または 9 のヌクレオチド配列と 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 1 5 個の連続したヌクレオチドを含み、

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2 ' - O - メチル修飾および 2 ' - フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、

前記センス鎖が、5 ' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、

前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが、2 ' - O - メチル修飾および 2 ' - フルオロ修飾からなる群から選択される修飾を含み、 40

前記アンチセンス鎖が、5 ' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結、および 3 ' 末端に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、

前記センス鎖が、3 ' 末端において一価、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した 1 つまたは複数の G a l N A c 誘導体とコンジュゲートしている、d s R N A 作用剤。

(項目 7 9)

前記センス鎖のヌクレオチドの全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの全てが修飾ヌクレオチドである、項目 7 8 に記載の d s R N A 作用剤。

(項目 8 0)

前記相補性領域が、表 2、3、7、8、1 0、1 1、または 1 3 のいずれか 1 つに列挙 50

されるアンチセンス配列のうちのいずれか1つを含む、項目2、30、および73から79までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目81)

前記センス鎖および前記アンチセンス鎖が、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙される作用剤のいずれか1つのヌクレオチド配列からなる群から選択されるヌクレオチド配列を含む、項目1から80までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤。

(項目82)

項目1から81までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤を含有する細胞。

(項目83)

項目1から81までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤の少なくとも一方の鎖をコードするベクター。

(項目84)

項目1から81までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤を含む、17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)遺伝子の発現を阻害するための医薬組成物。

(項目85)

前記作用剤が、緩衝化されていない溶液中に製剤化される、項目84に記載の医薬組成物。

(項目86)

前記緩衝化されていない溶液が、生理食塩水または水である、項目85に記載の医薬組成物。

(項目87)

前記作用剤が、緩衝化された溶液を用いて製剤化されている、項目84に記載の医薬組成物。

(項目88)

前記緩衝化された溶液が、アセテート、シトレート、プロラミン、カーボネート、もしくはホスフェート、またはこれらの任意の組合せを含む、項目87に記載の医薬組成物。

(項目89)

前記緩衝化された溶液が、リン酸緩衝食塩水(PBS)である、項目87に記載の医薬組成物。

(項目90)

細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)発現を阻害する方法であって、前記細胞を項目1から81までのいずれか一項に記載の作用剤または項目84から89までのいずれか一項に記載の医薬組成物と接触させ、それにより、前記細胞におけるHSD17B13の発現を阻害することを含む方法。

(項目91)

前記細胞が対象内にある、項目90に記載の方法。

(項目92)

前記対象がヒトである、項目91に記載の方法。

(項目93)

前記HSD17B13発現が、少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%阻害される、またはHSD17B13発現の検出レベル未満に阻害される、項目90から92までのいずれか一項に記載の方法。

(項目94)

前記ヒト対象が、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患している、項目93に記載の方法。

(項目95)

前記HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態が、慢性線維炎症性肝疾患である、項目94に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 9 6)

前記慢性線維炎症性肝疾患が、肝臓における脂肪滴の蓄積および／または増大に関連する、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 7)

前記慢性線維炎症性肝疾患が、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV 関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死からなる群から選択される、項目 9 5 に記載の方法。

(項目 9 8)

対象における HSD17B13 の発現を阻害する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物を投与し、それにより、前記対象における HSD17B13 の発現を阻害することを含む方法。

10

(項目 9 9)

HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置することを含む方法。

(項目 10 0)

20

HSD17B13 遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも 1 つの症状を防止する方法であって、前記対象に、予防有効量の項目 1 から 3 1 までのいずれか一項に記載の作用剤または項目 3 4 から 3 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13 遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも 1 つの症状を防止することを含む方法。

(項目 10 1)

脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させる方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物を投与し、それにより、脂肪症を有する前記対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させることを含む方法。

30

(項目 10 2)

脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物を投与し、それにより、前記対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害することを含む方法。

(項目 10 3)

HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象の肝臓における脂肪滴の蓄積を阻害する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の dsRNA 作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物、および PNPLA3 遺伝子を標的とする dsRNA 作用剤または PNPLA3 遺伝子を標的とする dsRNA 作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している前記対象の肝臓における脂肪の蓄積を阻害することを含む方法。

40

(項目 10 4)

HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患している対象を処置する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目 1 から 8 1 までのいずれか一項に記載の作用剤または項目 8 4 から 8 9 までのいずれか一項に記載の医薬組成物、および PNPLA3 遺伝子を標的とする dsRNA 作用剤または PNPLA3 遺伝子を標的とする dsRNA 作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13 に関連する疾患、障害

50

、または状態に罹患している前記対象を処置することを含む方法。

(項目105)

HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも1つの症状を防止する方法であって、前記対象に、予防有効量の項目1から81までのいずれか一項に記載の作用剤または項目84から89までのいずれか一項に記載の医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を有する対象における少なくとも1つの症状を防止することを含む方法。

(項目106)

脂肪症を有する対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させる方法であって、前記対象に、治療有効量の項目1から81までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤または項目84から89までのいずれか一項に記載の医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、脂肪症を有する前記対象における慢性肝疾患の発症リスクを低下させることを含む方法。

(項目107)

脂肪症に罹患している対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害する方法であって、前記対象に、治療有効量の項目1から81までのいずれか一項に記載のdsRNA作用剤または項目84から89までのいずれか一項に記載の医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤またはPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与し、それにより、前記対象における脂肪症から脂肪性肝炎への増悪を阻害することを含む方法。

(項目108)

前記dsRNA作用剤または前記医薬組成物の前記対象への投与により、HSD17B13酵素活性の低下、HSD17B13タンパク質蓄積の減少、PNPLA3酵素活性の低下、PNPLA3タンパク質蓄積の減少、ならびに／または対象の肝臓における脂肪の蓄積および／もしくは脂肪滴の増大の低減が引き起こされる、項目91から107までのいずれか一項に記載の方法。

(項目109)

前記HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態が、慢性線維炎症性肝疾患である、項目99から108までのいずれか一項に記載の方法。

(項目110)

前記慢性線維炎症性肝疾患が、肝臓における脂肪滴の蓄積および／または増大に関連する、項目109に記載の方法。

(項目111)

前記慢性線維炎症性肝疾患が、肝臓における脂肪の蓄積、肝臓の炎症、肝線維症、脂肪性肝疾患（脂肪症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFH）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死からなる群から選択される、項目109に記載の方法。

(項目112)

前記慢性線維炎症性肝疾患が、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFH）である、項目111に記載の方法。

(項目113)

前記対象が肥満である、項目91から112までのいずれか一項に記載の方法。

(項目114)

追加的な治療薬を前記対象に投与することをさらに含む、項目91から113までのいずれか一項に記載の方法。

(項目115)

10

20

30

40

50

前記 dsRNA 作用剤を前記対象に約 0.01 mg/kg ~ 約 10 mg/kg または約 0.5 mg/kg ~ 約 50 mg/kg の用量で投与する、項目 91 から 114 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 116)

前記作用剤を前記対象に静脈内、筋肉内、または皮下投与する、項目 91 から 115 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 117)

前記対象における HSD17B13 のレベルを決定することをさらに含む、項目 91 から 116 までのいずれか一項に記載の方法。

(項目 118)

細胞における 17β-水酸化ステロイド脱水素酵素 13 型 (HSD17B13) の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸 (dsRNA) 作用剤であって、

二本鎖領域を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖とを含み、前記センス鎖が、表 2、3、7、8、10、11、または 13 のいずれか 1 つの作用剤のいずれか 1 つのヌクレオチド配列を含み、前記アンチセンス鎖が、表 2、3、7、8、10、11、または 13 のいずれか 1 つにおける作用剤のいずれか 1 つのヌクレオチド配列を含み、

前記センス鎖のヌクレオチドの実質的に全ておよび前記アンチセンス鎖のヌクレオチドの実質的に全てが修飾ヌクレオチドであり、

前記 dsRNA 作用剤が、リガンドとコンジュゲートしている、dsRNA 作用剤。

【図面の簡単な説明】

【0097】

【図 1】図 1 は、HSD17B13 rs72613567:TA がアルコール性および非アルコール性肝疾患表現型のリスクの低減に関連付けられることを示す図である。具体的には、図 1 は、HSD17B13 rs72613567:TA が、種々の慢性肝疾患の対立遺伝子投与量依存的な低オッズに関連付けられたことを示す。具体的には、アルコール性および非アルコール性肝疾患、硬変症および肝細胞癌のいずれにおいても対立遺伝子投与量依存効果が観察された。オッズ比は、ロジスティック回帰を使用し、年齢、性別、BMI、および自己申告による民族性を調整して算出した。

【0098】

【図 2】図 2A は、ヒト HSD17B13 を発現するマウスにおける AD-288917 の単回投薬の効果を示すグラフである。図 2B は、カニクイザルにおける AD-288917 の単回投薬の効果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0099】

本発明は、HSD17B13 遺伝子の RNA 転写物の RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) 媒介性切断をもたらす iRNA 組成物を提供する。HSD17B13 遺伝子は、細胞、例えば、ヒトなどの対象内の細胞内にあり得る。本発明は、HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するため、ならびに HSD17B13 遺伝子の発現を阻害または低減することが有益であると予想される対象、例えば、肝臓の炎症の軽減が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態に罹患しているまたは罹患しやすい対象、例えば、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎 (NAFH)、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、アルコール性脂肪性肝炎 (ASH)、アルコール性肝疾患 (ALD)、肝硬変、HCV 関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死に罹患しているまたは罹患しやすい対象などを処置するための、本発明の iRNA 組成物の使用方法も提供する。

【0100】

HSD17B13 を標的とする本発明の iRNA は、約 30 ヌクレオチド長またはそれ未満、例えば、15 ~ 30、15 ~ 29、15 ~ 28、15 ~ 27、15 ~ 26、15 ~ 25、15 ~ 24、15 ~ 23、15 ~ 22、15 ~ 21、15 ~ 20、15 ~ 19、15 ~ 18、15 ~ 17、18 ~ 30、18 ~ 29、18 ~ 28、18 ~ 27、18 ~ 26

10

20

30

40

50

、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22ヌクレオチド長である領域を有するRNA鎖（アンチセンス鎖）を含み得、当該領域は、HSD17B13遺伝子のmRNA転写物の少なくとも一部と実質的に相補的である。

【0101】

一部の実施形態では、本発明の二本鎖RNAi作用剤の一方の鎖または両方の鎖は、最大で66ヌクレオチド長、例えば、36～66、26～36、25～36、31～60、22～43、27～53ヌクレオチド長であり、HSD17B13遺伝子のmRNA転写物の少なくとも一部と実質的に相補的である少なくとも19個の連続したヌクレオチドの領域を有する。一部の実施形態では、より長いアンチセンス鎖を有するようなiRNA作用剤は、20～60ヌクレオチド長の第2のRNA鎖（センス鎖）を含み得、ここで、センスおよびアンチセンス鎖は、18～30個の連続したヌクレオチドの二重鎖を形成する。

【0102】

本明細書に記載のiRNA作用剤の使用により、哺乳動物におけるHSD17B13遺伝子のmRNAの標的化分解が可能になる。

【0103】

特に、非常に低い投与量のiRNAにより、RNA干渉（RNAi）が特異的かつ効率的に媒介され、その結果、HSD17B13遺伝子の発現の有意な阻害がもたらされる。したがって、これらのiRNAを含む方法および組成物は、HSD17B13遺伝子の発現を阻害または低減することが有益であると予想される対象、例えば、肝臓の炎症の低減が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態に罹患しているまたは罹患しやすい対象、例えば、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFLD）、非アルコール性脂肪性肝疾患（NASH）、アルコール性脂肪性肝炎（ASH）、アルコール性肝疾患（ALD）、肝硬変、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、および肝細胞壊死に罹患しているまたは罹患しやすい対象などを処置するために有用である。

【0104】

以下の詳細な説明では、HSD17B13遺伝子の発現を阻害するために、iRNAを含有する組成物をどのように作製し、使用するか、ならびにこの遺伝子の発現の阻害および／または低減が有益であると予想される疾患および障害を有する対象を処置するための組成物および方法を開示する。

I. 定義

【0105】

本発明をより容易に理解することができるように、最初にある特定の用語を定義する。さらに、パラメーターの値または値の範囲が記載されている場合はいつでも、記載されている値の間の値および範囲も本発明の一部であることが意図されていることに留意すべきである。

【0106】

「1つの（a）」および「1つの（an）」という冠詞は、本明細書では、1つまたは1つよりも多く（すなわち、少なくとも1つ）のその冠詞の文法上の目的語を指すために使用される。例として、「1つの要素（an element）」は、1つの要素または1つよりも多くの要素、例えば、複数の要素を意味する。

【0107】

「含む（including）」という用語は、本明細書では、「を含むがこれだけに限定されない」という句を意味するように使用され、また、それと互換的に使用される。

【0108】

「または」という用語は、本明細書では、文脈によりそうでないことが明らかに示されない限り、「および／または」という用語を意味するように使用され、また、それと互換的に使用される。

【0109】

「約」という用語は、本明細書では、当技術分野における典型的な許容性の範囲内に入ることの意味するように使用される。例えば、「約」は、平均から約2標準偏差と理解することができる。ある特定の実施形態では、約は、±10%を意味する。ある特定の実施形態では、約は、±5%を意味する。約が連続した数または範囲の前に存在する場合、「約」は連続または範囲内の数のそれぞれを修飾し得ることが理解される。

10

【0110】

「HSD17B13」という用語は、「水酸化ステロイド17-β脱水素酵素13」、「短鎖脱水素酵素／還元酵素ファミリー16Cメンバー」、「短鎖脱水素酵素／還元酵素9」、「17-β-HSD13」、「17β-HSD13」、「SDR16C3」、「SCDR9」、「短鎖脱水素酵素／還元酵素ファミリー16C、メンバー3」、「水酸化ステロイド(17-β)脱水素酵素13」、「17-β水酸化ステロイド脱水素酵素」、「HMFN0376」、および「NIIL497」としても公知であり、特に指定のない限り、ヒト、ウシ、ニワトリ、齧歯類、マウス、ラット、ブタ、ヒツジ、霊長類、サル、およびモルモットを含むがこれだけに限定されない任意の脊椎動物または哺乳動物供給源に由来する17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型タンパク質をコードする周知の遺伝子を指す。

20

【0111】

この用語は、ネイティブなHSD17B13の少なくとも1つの*in vivo*または*in vitro*における活性を維持するネイティブなHSD17B13の断片およびバリエーションも指す。この用語は、HSD17B13の全長のプロセシングされていない前駆形態ならびにシグナルペプチドの翻訳後切断の結果生じた成熟形態およびタンパク質プロセシングの結果生じた形態を包含する。

【0112】

ヒトHSD17B13遺伝子の2つのバリエーション、バリエーションA(または転写物A)およびバリエーションB(または転写物B)が以前に同定された。転写物Aは、HSD17B13遺伝子の7つのエクソン全てを含むが、転写物Bではエクソン2が読み飛ばされている。ヒトHSD17B13バリエーションAのヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列: NM_178135.4; 配列番号1)に見い出すことができ、ヒトHSD17B13バリエーションBのヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列: NM_001136230.2; 配列番号2に見い出すことができる。2018年1月19日出願の米国特許出願第15/875,514号、および2018年1月19日出願のPCT出願第PCT/US2018/014357号(そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる)に記載されている通り、発現される6種の追加的なHSD17B13転写物(C~H、それぞれ配列番号17、18、19、20、21、および22)が同定されている。転写物Cでは、転写物Aと比較してエクソン6が読み飛ばされている。転写物Dでは、転写物Aと比較して、エクソン6のグアニン3'が挿入されており、その結果、エクソン7におけるフレームシフトおよびエクソン7の中途短縮が生じている。転写物Eでは、転写物Aと比較して、エクソン3と4の間に追加的なエクソンが存在する。HSD17B13 rs72613567バリエーション保有者においてのみ発現される転写物Fでは、転写物Aと比較して、エクソン6からイントロン6へのリードスルーが存在する。転写物Gでは、転写物Aと比較して、エクソン2が読み飛ばされており、かつ、エクソン6のグアニン3'が挿入されており、その結果、エクソン7におけるフレームシフトおよびエクソン7の中途短縮が生じている。転写物Hでは、転写物Aと比較して、エクソン3と4の間に追加的なエクソンが存在し、かつ、エクソン6のグアニン3'が挿入されており、その結果、エクソン7におけるフレームシフトおよびエク

30

40

50

ソン7の中途短縮が生じている。

【0113】

低レベルで発現される1種の追加的なHSD17B13転写物も(F'、配列番号23)同定されている。転写物Fと同じく、転写物F'も、転写物Aと比較してエクソン6からイントロン6へのリードスルーを含むが、転写物Fとは対照的に、リードスルーは、HSD17B13 rs72613567バリエーション遺伝子に存在するチミンの挿入を含まない。各転写物についてのHSD17B13遺伝子内のエクソンのヌクレオチド位を以下に提示する。

【0114】

配列番号15は、HSD17B13野生型ゲノム配列(ヒトゲノムアセンブリGRC h38)のヌクレオチド配列であり、配列番号16は、HSD17B13ゲノム配列バリエーション(ヒトゲノムアセンブリGRC h38; rs72613567-chr4におけるTの挿入: 87310241-87310240)のヌクレオチド配列である: 12666位におけるTの挿入。

野生型HSD17B13遺伝子についてホモ接合性の対象においてより広くいきわたっているHSD17B13転写物のエクソンについての配列番号15におけるヌクレオチド位。

【表15】

	転写物 A	転写物 B	転写物 E	転写物 F'
エクソン1	1-275	1-275	1-275	1-275
エクソン2	4471-4578	読み飛ばされている	4471-4578	4471-4578
エクソン3	5684-5815	5684-5815	5684-5815	5684-5815
エクソン3'	存在しない	存在しない	6210-6281	存在しない
エクソン4	7308-7414	7308-7414	7308-7414	7308-7414
エクソン5	8947-9084	8947-9084	8947-9084	8947-9084
エクソン6	12548-12664	12548-12664	12548-12664	12548-13501*
エクソン7	17599-19118	17599-19118	17599-19118	読み飛ばされている

*エクソン6からイントロン6へのリードスルーを含む;リードスルー=12665位~13501位

rs72613567 HSD17B13バリエーション遺伝子(12666位におけるTの挿入)についてホモ接合性の対象においてより広くいきわたっているHSD17B13転写物のエクソンについての配列番号16におけるヌクレオチド位。

【表16】

	転写物 C	転写物 D	転写物 F	転写物 G	転写物 H
エクソン1	1-275	1-275	1-275	1-275	1-275
エクソン2	4471-4578	4471-4578	4471-4578	読み飛ばされている	4471-4578
エクソン3	5684-5815	5684-5815	5684-5815	5684-5815	5684-5815
エクソン3'	存在しない	存在しない	存在しない	存在しない	6210-6281
エクソン4	7308-7414	7308-7414	7308-7414	7308-7414	7308-7414
エクソン5	8947-9084	8947-9084	8947-9084	8947-9084	8947-9084
エクソン6	読み飛ばされている	12548-12665^	12548-13502*	12548-12665^	12548-12665^
エクソン7	17600-19119	17600-19119	読み飛ばされている	17600-19119	17600-19119

^転写物Aと比較して3'末端に追加的な残基12665を含む

*エクソン6からイントロン6へのリードスルーを含む;リードスルー=12665位~13502位

【0115】

マウスHSD17B13遺伝子には2種のバリエーションが存在する;マウスHsd17b13、転写物バリエーション1のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBan

k 参照配列：NM__001163486.1；配列番号3）に見いだすことができ、マウスHsd17b13、転写物バリエーション2のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列：NM__198030.2；配列番号4に見いだすことができる。ラットHsd17b13遺伝子のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列：NM__001009684.1；配列番号5）に見いだすことができる。Macaca mulatta HSD17B13遺伝子のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列：XM__015138766.1；配列番号6）に見いだすことができる。Macaca fascicularis HSD17B13遺伝子のヌクレオチドおよびアミノ酸配列は、例えば、GenBank参照配列：XM__005555367.2；配列番号7）に見いだすことができる。

10

【0116】

HSD17B13 mRNA配列のさらなる例は、公的に利用可能なデータベース、例えば、GenBank、UniProt、およびOMIMを使用して容易に入手可能である。

【0117】

「HSD17B13」という用語は、本明細書で使用される場合、細胞において、HSD17B13遺伝子における一塩基多型などのHSD17B13遺伝子の天然に存在するDNA配列バリエーションにより発現される特定のポリペプチドも指す。HSD17B13遺伝子内の多数のSNPが同定されており、それらは、例えば、NCBI dbSNP（例えば、www.ncbi.nlm.nih.gov/snpを参照されたい）において見いだすことができる。

20

【0118】

本明細書で使用される場合、「標的配列」は、一次転写産物のRNAプロセシングの産物であるmRNAを含めたHSD17B13遺伝子の転写の間に形成されるmRNA分子のヌクレオチド配列の連続した部分を指す。一実施形態では、配列の標的部分は、少なくとも、HSD17B13遺伝子の転写の間に形成されるmRNA分子のヌクレオチド配列の当該部分またはその付近におけるiRNAにより方向付けられる切断の基質として機能するのに十分に長い。

【0119】

HSD17B13遺伝子の標的配列は、約9～36ヌクレオチド長、例えば、約15～30ヌクレオチド長であり得る。例えば、標的配列は、約15～30ヌクレオチド、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22ヌクレオチド長であり得る。上記の範囲および長さの間の範囲および長さも本発明の一部であることが意図されている。

30

【0120】

本明細書で使用される場合、「配列で構成される鎖」という用語は、標準のヌクレオチド命名法を使用して参照される配列によって記載されるヌクレオチドの鎖で構成されるオリゴヌクレオチドを指す。

【0121】

「G」、「C」、「A」、「T」および「U」は、それぞれ、一般に、それぞれグアニン、シトシン、アデニン、チミジンおよびウラシルを塩基として含有するヌクレオチドを表す。しかし、「リボヌクレオチド」または「ヌクレオチド」という用語は、以下にさらに詳述する修飾ヌクレオチド、または代理の置換え部分も指し得ることが理解されよう（

50

例えば、表 1 を参照されたい)。グアニン、シトシン、アデニン、およびウラシルの他の部分での置換えを、そのような置換え部分を有するヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドの塩基対合の性質の実質的な変更を伴わずに行うことができることを当業者は十分に分かっている。例えば、これだけに限定することなく、イノシンを塩基として含むヌクレオチドは、アデニン、シトシン、またはウラシルを含有するヌクレオチドと塩基対合することができる。したがって、本発明において特徴付けられる dsRNA のヌクレオチド配列においてウラシル、グアニン、またはアデニンを含有するヌクレオチドを、例えばイノシンを含有するヌクレオチドで置き換えることができる。別の例では、オリゴヌクレオチド内の任意の場所のアデニンおよびシトシンを、それぞれグアニンおよびウラシルで置き換えて、標的 mRNA との G-U ゆらぎ塩基対を形成することができる。そのような置換え部分を含有する配列は、本発明において特徴付けられる組成物および方法に適している。

10

【0122】

「iRNA」、「RNAi 作用剤」、「iRNA 作用剤」、「RNA 干渉作用剤」という用語は、本明細書では互換的に使用され、本明細書において定義されている用語である RNA を含有し、RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) 経路を介した RNA 転写物の標的化切断を媒介する作用剤を指す。iRNA により、RNA 干渉 (RNAi) として公知のプロセスを通じた mRNA の配列特異的分解が方向付けられる。iRNA により、細胞、例えば、哺乳動物の対象などの対象内の細胞における HSD17B13 遺伝子の発現がモジュレートされる、例えば、阻害される。

【0123】

一実施形態では、本発明の RNAi 作用剤は、標的 RNA 配列、例えば、HSD17B13 標的 mRNA 配列と相互作用して、標的 RNA の切断を方向付ける一本鎖 RNA を含む。理論に束縛されることを望むものではないが、細胞に導入された長い二本鎖 RNA は、ダイサーとして公知の III 型エンドヌクレアーゼによって siRNA に分解されると考えられる (Sharp et al. (2001) Genes Dev. 15: 485)。ダイサーは、リボヌクレアーゼ III 様酵素であり、dsRNA をプロセシングして、特徴的な 2 塩基 3' 突出を有する 19~23 塩基対の低分子干渉 RNA にする (Bernstein, et al., (2001) Nature 409: 363)。次いで、siRNA が RNA 誘導サイレンシング複合体 (RISC) に組み入れられ、そこで 1 つまたは複数のヘリカーゼにより siRNA 二重鎖が巻き戻され、それにより、相補的なアンチセンス鎖が標的認識をガイドすることが可能になる (Nykanen, et al., (2001) Cell 107: 309)。妥当な標的 mRNA に結合すると、RISC 内の 1 つまたは複数のエンドヌクレアーゼにより標的が切断されて、サイレンシングが誘導される (Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15: 188)。したがって、一態様では、本発明は、細胞内で生成され、RISC 複合体の形成を促進して、標的遺伝子、すなわち HSD17B13 遺伝子のサイレンシングをもたらす一本鎖 RNA (ssRNA) に関する。したがって、「siRNA」という用語はまた、本明細書では上記の RNAi を指すのためにも使用される。

20

30

【0124】

別の実施形態では、RNAi 作用剤は、標的 mRNA を阻害するために細胞または生物体に導入される一本鎖 RNAi 作用剤であり得る。一本鎖 RNAi 作用剤 (ssRNAi) が RISC エンドヌクレアーゼ、アルゴノート 2 に結合し、次いでそれにより標的 mRNA が切断される。一本鎖 siRNA は、一般に、15~30 ヌクレオチドであり、化学修飾されている。一本鎖 RNAi 作用剤の設計および試験は、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 8,101,348 号および Lima et al., (2012) Cell 150: 883-894 に記載されている。本明細書に記載のアンチセンスヌクレオチド配列のいずれも、本明細書に記載されている、または Lima et al., (2012) Cell 150: 883-894 に記載の方法によって化学修飾された一本鎖 siRNA として使用することができる。

40

【0125】

別の実施形態では、本発明の組成物および方法において使用するための「iRNA」は

50

、二本鎖RNAであり、本明細書では「二本鎖RNA i 作用剤」、「二本鎖RNA (dsRNA) 分子」、「dsRNA 作用剤」または「dsRNA」と称される。「dsRNA」という用語は、標的RNA、すなわちHSD17B13遺伝子に対して「センス」および「アンチセンス」方向を有すると称される2つの逆平行かつ実質的に相補的な核酸鎖で構成される二重鎖構造を有するリボ核酸分子の複合体を指す。本発明の一部の実施形態では、二本鎖RNA (dsRNA) により、本明細書ではRNA干渉またはRNA i と称される転写後遺伝子サイレンシング機構を通じた標的RNA、例えばmRNAの分解が誘発される。

【0126】

一般に、dsRNA分子の各鎖のヌクレオチドの大多数がリボヌクレオチドであるが、本明細書において詳細に記載されている通り、各鎖または両方の鎖が、1つまたは複数の非リボヌクレオチド、例えば、デオキシリボヌクレオチドおよび／または修飾ヌクレオチドも含み得る。さらに、本明細書で使用される場合、「RNA i 作用剤」は、化学修飾を有するリボヌクレオチドを含み得る；RNA i 作用剤は、多数のヌクレオチドにおいて実質的な修飾を含み得る。本明細書で使用される場合、「修飾ヌクレオチド」という用語は、独立に、修飾糖部分、修飾ヌクレオチド間連結、および／または修飾核酸塩基を有するヌクレオチドを指す。したがって、修飾ヌクレオチドという用語は、ヌクレオチド間連結、糖部分、または核酸塩基に対する、例えば官能基または原子の置換、付加または除去を包含する。本発明の作用剤における使用に適した修飾は、本明細書に開示されるまたは当技術分野で公知の全ての型の修飾を含む。siRNA型分子に使用されるそのような修飾はいずれも、本明細書の目的および特許請求の範囲に関して「RNA i 作用剤」に包含される。

【0127】

二重鎖領域は、RISC経路を通じた所望の標的RNAの特異的分解を可能にする任意の長さであってよく、約9から36塩基対までの長さ、例えば、約15～30塩基対の長さ、例えば、約9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、または36塩基対の長さ、例えば、約15～30、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22塩基対の長さなどにわたり得る。上記の範囲および長さの間の範囲および長さも本発明の一部であることが意図されている。

【0128】

二重鎖構造を形成する2つの鎖は、1つのより大きなRNA分子の異なる部分であってもよく、別々のRNA分子であってもよい。2つの鎖が1つのより大きな分子の一部であり、したがって、二重鎖構造を形成する一方の鎖の3'末端とそれぞれの他方の鎖の5'末端の間の中絶されていないヌクレオチドの鎖によって接続している場合、接続しているRNA鎖は、「ヘアピンループ」と称される。ヘアピンループは、少なくとも1つの対合していないヌクレオチドを含み得る。一部の実施形態では、ヘアピンループは、少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも20個、少なくとも23個またはそれよりも多くの対合していないヌクレオチドを含み得る。

【0129】

dsRNAの2つの実質的に相補的な鎖が別々のRNA分子で構成される場合、これら

の分子は、共有結合により接続している必要はないが、共有結合により接続していてもよい。2つの鎖が、二重鎖構造を形成する一方の鎖の3'末端とそれぞれの他方の鎖の5'末端の間の中絶されていないヌクレオチドの鎖以外の手段によって共有結合により接続している場合、接続している構造は、「リンカー」と称される。RNA鎖は同じまたは異なる数のヌクレオチドを有していてもよい。最大数の塩基対は、dsRNAの最も短い鎖のヌクレオチドの数から二重鎖に存在するあらゆる突出を引いたものである。二重鎖構造に加えて、RNA_iは、1つまたは複数のヌクレオチド突出を含み得る。

【0130】

一実施形態では、本発明のRNA_i作用剤はdsRNAであり、その各鎖は、標的RNA配列、例えば、HSD17B13標的mRNA配列と相互作用して、標的RNAの切断を方向付ける30ヌクレオチド未満、例えば、17~27、19~27、17~25、19~25、または19~23を含む。別の実施形態では、本発明のRNA_i作用剤はdsRNAであり、その各鎖は、標的RNA配列、例えば、HSD17B13標的mRNA配列と相互作用して、標的RNAの切断を方向付ける19~23ヌクレオチドを含む。一実施形態では、センス鎖は、21ヌクレオチド長である。別の実施形態では、アンチセンス鎖は、23ヌクレオチド長である。

【0131】

本明細書で使用される場合、「ヌクレオチド突出」という用語は、iRNAの二重鎖構造、例えばdsRNAから突出している少なくとも1つの対合していないヌクレオチドを指す。例えば、dsRNAの一方の鎖の3'末端が他方の鎖の5'末端を越えて伸長している場合、またはその逆である場合、ヌクレオチド突出が存在する。dsRNAは、少なくとも1ヌクレオチドの突出を含み得る；あるいは、突出は、少なくとも2ヌクレオチド、少なくとも3ヌクレオチド、少なくとも4ヌクレオチド、少なくとも5ヌクレオチドまたはそれよりも多くのヌクレオチドを含み得る。ヌクレオチド突出は、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドを含めたヌクレオチド／ヌクレオシド類似体を含み得る、またはそれからなり得る。突出は、センス鎖、アンチセンス鎖またはこれらの任意の組合せであり得る。さらに、突出のヌクレオチドは、dsRNAのアンチセンスまたはセンス鎖のいずれかの5'末端、3'末端または両方の末端に存在し得る。

【0132】

一実施形態では、dsRNAのアンチセンス鎖は、3'末端および／または5'末端に1~10ヌクレオチド、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10ヌクレオチドの突出を有する。一実施形態では、dsRNAのセンス鎖は、3'末端および／または5'末端に1~10ヌクレオチド、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10ヌクレオチドの突出を有する。別の実施形態では、突出のヌクレオチドの1つまたは複数ヌクレオシドチオホスフェートで置き換える。

【0133】

ある特定の実施形態では、センス鎖またはアンチセンス鎖、または両方の突出は、10ヌクレオチド、例えば、10~30ヌクレオチド、10~25ヌクレオチド、10~20ヌクレオチドまたは10~15ヌクレオチド長より長い、延長された長さを含み得る。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のセンス鎖にある。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のセンス鎖の3'末端に存在する。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のセンス鎖の5'末端に存在する。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のアンチセンス鎖にある。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のアンチセンス鎖の3'末端に存在する。ある特定の実施形態では、延長された突出は、二重鎖のアンチセンス鎖の5'末端に存在する。ある特定の実施形態では、延長された突出のヌクレオチドの1つまたは複数ヌクレオシドチオホスフェートで置き換える。

【0134】

「平滑末端化する (blunt)」または「平滑末端化された (blunt ended)」という用語は、dsRNAに関して本明細書で使用される場合、dsRNAの所与

10

20

30

40

50

の末端に対合していないヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体がないこと、すなわち、ヌクレオチド突出がないことを意味する。dsRNAの一方または両方の末端が平滑末端化されていてよい。dsRNAの両方の末端が平滑末端化されている場合、dsRNAが平滑末端化されていると言える。明確にするために、「平滑末端化された」dsRNAは、両方の末端が平滑末端化されている、すなわち、分子のいずれの末端にもヌクレオチド突出がないdsRNAである。そのような分子は、その全長にわたって二本鎖になることが多い。

【0135】

「アンチセンス鎖」または「ガイド鎖」という用語は、標的配列、例えばHSD17B13 mRNAと実質的に相補的である領域を含むiRNA、例えばdsRNAの鎖を指す。

10

【0136】

本明細書で使用される場合、「相補性領域」という用語は、配列、例えば標的配列、例えば本明細書で定義されているHSD17B13ヌクレオチド配列と実質的に相補的であるアンチセンス鎖上の領域を指す。相補性領域が標的配列と完全に相補的ではない場合、ミスマッチが分子の内部または末端領域にあり得る。一般に、最も許容されるミスマッチは、末端領域内、例えば、iRNAの5'および／または3'末端から5、4、3、または2ヌクレオチド以内にある。

【0137】

「センス鎖」または「パッセンジャー鎖」という用語は、本明細書で使用される場合、本明細書において定義されている用語であるアンチセンス鎖の領域と実質的に相補的である領域を含むiRNAの鎖を指す。

20

【0138】

本明細書で使用される場合、「切断領域」という用語は、切断部位のすぐ隣に位置する領域を指す。切断部位は、標的上の切断が起こる部位である。一部の実施形態では、切断領域は、切断部位のいずれかの末端の、切断部位のすぐ隣の3塩基を含む。一部の実施形態では、切断領域は、切断部位のいずれかの末端の、切断部位のすぐ隣の2塩基を含む。一部の実施形態では、切断部位は具体的にアンチセンス鎖のヌクレオチド10および11が結合する部位に存在し、切断領域はヌクレオチド11、12および13を含む。

【0139】

本明細書で使用される場合、別段の指定のない限り、「相補的」という用語は、第1のヌクレオチド配列を第2のヌクレオチド配列との関連で記載するために使用される場合、当業者に理解される通り、第1のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドが、第2のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドとある特定の条件下でハイブリダイズし、二重鎖構造を形成することができることを指す。そのような条件は、例えば、ストリンジェントな条件であり得、ストリンジェントな条件は、400mMのNaCl、40mMのPIPES、pH6.4、1mMのEDTA、50℃または70℃で12～16時間、その後、洗浄を含み得る（例えば、"Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Pressを参照されたい）。生物体の内側で遭遇する可能性がある生理的に関連性のある条件などの他の条件を適用することができる。当業者は、ハイブリダイズしたヌクレオチドの最終的な適用に応じて2つの配列の相補性の試験に最も適した条件のセットを決定することができる。

30

40

【0140】

iRNA内、例えば本明細書に記載のdsRNA内の相補配列は、第1のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと第2のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの、ヌクレオチド配列の一方または両方の全長にわたる塩基対合を含む。そのような配列は、本明細書では互いに対して「完全に相補的」と称され得る。しかし、本明細書において第1の配列が第2の配列に対して「実質的に相補的」と称される場合、2つの配列は、完全に相補的である場合もあり、二重鎖を3

50

0塩基対までハイブリダイズさせた際に1つまたは複数、しかし一般に5、4、3または2個以下のミスマッチ塩基対を形成するが、それらの最終的な適用、例えば、RISC経路による遺伝子発現の阻害に最も関連性のある条件下でハイブリダイズする能力は保持する場合もある。しかし、2つのオリゴヌクレオチドが、ハイブリダイズすると1つまたは複数の一本鎖突出が形成されるように設計されている場合、そのような突出は相補性の決定に関してミスマッチとみなされるべきではない。例えば、21ヌクレオチド長の1つのオリゴヌクレオチドと23ヌクレオチド長の別のオリゴヌクレオチドとで構成されるdsRNAであって、長い方のオリゴヌクレオチドが短い方のオリゴヌクレオチドと完全に相補的な21ヌクレオチドの配列を含むdsRNAは、それでもなお、本明細書に記載の目的に関して「完全に相補的」と称され得る。

10

【0141】

「相補的」配列は、本明細書で使用される場合、ハイブリダイズする能力に関する上記の要件が満たされる限りにおいては、非ワトソン・クリック塩基対および／または非天然の修飾ヌクレオチドから形成された塩基対を含んでもよい、またはそれから完全に形成されたものであってもよい。そのような非ワトソン・クリック塩基対としては、これだけに限定されないが、G：Uゆらぎまたはフーグスティーン塩基対合が挙げられる。

【0142】

「相補的」、「完全に相補的」および「実質的に相補的」という用語は、本明細書では、それらが使用される文脈から理解される通り、dsRNAのセンス鎖とアンチセンス鎖の間でマッチする塩基、またはiRNA作用剤のアンチセンス鎖と標的配列の間でマッチする塩基に関して使用され得る。

20

【0143】

本明細書で使用される場合、メッセンジャーRNA(mRNA)の「少なくとも一部と実質的に相補的」なポリヌクレオチドは、目的のmRNA(例えば、HSD17B13をコードするmRNA)の連続した一部分と実質的に相補的なポリヌクレオチドを指す。例えば、ポリヌクレオチドは、HSD17B13 mRNAの少なくとも一部と、配列がHSD17B13をコードするmRNAの中断されていない一部分と実質的に相補的であれば、相補的である。

【0144】

したがって、一部の実施形態では、本明細書に開示されるアンチセンス鎖ポリヌクレオチドは、標的HSD17B13配列と完全に相補的である。他の実施形態では、本明細書に開示されるアンチセンス鎖ポリヌクレオチドは、標的HSD17B13配列と実質的に相補的であり、その全長にわたって、配列番号1のヌクレオチド配列の等価の領域、または配列番号1の断片と少なくとも約80%相補的、例えば、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約99%相補的である連続したヌクレオチド配列を含む。

30

【0145】

一実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、アンチセンスポリヌクレオチドと実質的に相補的なセンス鎖を含み、アンチセンスポリヌクレオチドは標的HSD17B13配列と相補的であり、センス鎖ポリヌクレオチドは、その全長にわたって、配列番号8のヌクレオチド配列の等価の領域、または配列番号8のいずれか1つの断片と少なくとも約80%相補的、例えば、約85%、約86%、約87%、約88%、約89%、約90%、約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、または約99%相補的である連続したヌクレオチド配列を含む。

40

【0146】

一部の実施形態では、本発明のiRNAは、標的HSD17B13配列と実質的に相補的であり、その全長にわたって、表2、3、7、8、10、11、もしくは13のいずれか1つにおけるセンス鎖のいずれか1つのヌクレオチド配列の等価の領域、または表2、3、7、8、10、11、もしくは13のいずれか1つにおけるセンス鎖のいずれか1つ

50

の断片と少なくとも約 80 % 相補的、例えば、約 85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 % 相補的、または 100 % 相補的である連続したヌクレオチド配列を含むアンチセンス鎖を含む。

【0147】

「阻害すること」という用語は、本明細書で使用される場合、「低減すること」、「サイレンシングすること」、「下方制御すること」、「抑制すること」および他の同様の用語と互換的に使用され、任意のレベルの阻害を含む。

【0148】

「HSD17B13 遺伝子の発現を阻害すること」という句は、本明細書で使用される場合、HSD17B13 タンパク質をコードする任意の HSD17B13 遺伝子（例えば、マウス HSD17B13 遺伝子、ラット HSD17B13 遺伝子、サル HSD17B13 遺伝子、またはヒト HSD17B13 遺伝子など）ならびに HSD17B13 遺伝子のバリエーションまたは突然変異体の発現の阻害を含む。

【0149】

「HSD17B13 遺伝子の発現を阻害すること」は、HSD17B13 遺伝子の任意のレベルの阻害、例えば、HSD17B13 遺伝子の発現の少なくとも部分的な抑制、例えば、少なくとも約 20 % の阻害などを含む。ある特定の実施形態では、阻害は、少なくとも約 25 %、少なくとも約 30 %、少なくとも約 35 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 45 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 91 %、少なくとも約 92 %、少なくとも約 93 %、少なくとも約 94 %、少なくとも約 95 %、少なくとも約 96 %、少なくとも約 97 %、少なくとも約 98 %、または少なくとも約 99 % の阻害である。

【0150】

HSD17B13 遺伝子の発現は、HSD17B13 遺伝子発現に関連する任意の変数のレベル、例えば、HSD17B13 mRNA レベルまたは HSD17B13 タンパク質レベルに基づいて評価することができる。HSD17B13 遺伝子の発現は、例えば、循環アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) のレベル、または肝臓試料などの組織試料中の HSD17B13 の酵素活性に間接的に基づいて評価することもできる。阻害は、これらの変数の 1 つまたは複数の絶対的なレベル、または対照レベルと比較した相対的なレベルの低下によって評価することができる。対照レベルは、当技術分野において利用される任意の型の対照レベル、例えば、投薬前のベースラインレベル、または処置していないもしくは対照（例えば、緩衝剤のみの対照もしくは不活性な作用剤対照など）を用いて処置した同様の対象、細胞、もしくは試料から決定されたレベルであってよい。

【0151】

一実施形態では、HSD17B13 遺伝子の発現の少なくとも部分的な抑制を、HSD17B13 遺伝子が転写され、HSD17B13 遺伝子の発現が阻害されるように処理された第 1 の細胞または細胞の群から単離することができる、または当該第 1 の細胞または細胞の群において検出することができる HSD17B13 mRNA の量の、第 1 の細胞または細胞の群と実質的に同一であるが、そのような処理をしていない第 2 の細胞または細胞の群（対照細胞）と比較した減少によって評価する。

【0152】

阻害の度合いは、

【数 1】

$$\frac{(\text{対照細胞における mRNA}) - (\text{処理された細胞における mRNA})}{(\text{対照細胞における mRNA})} \cdot 100\%$$

で表すことができる。

【0153】

dsRNAなどの「RNAi作用剤と細胞を接触させること」という句は、本明細書で
使用される場合、細胞を任意の可能な手段によって接触させることを含む。RNAi作用
剤と細胞を接触させることは、*in vitro*においてiRNAと細胞を接触させるこ
と、または*in vivo*においてiRNAと細胞を接触させることを含む。接触させる
ことは、直接または間接的に行うことができる。したがって、例えば、方法を個々に実施
することによってRNAi作用剤を細胞と物理的に接触させることもでき、あるいは、R
NAi作用剤を、その後にRNAi作用剤と細胞の接触が可能になるまたは引き起こされ
る状況に置くこともできる。

【0154】

*in vitro*において細胞を接触させることは、例えば、細胞をRNAi作用剤と
一緒にインキュベートすることによって行うことができる。*in vivo*において細胞
を接触させることは、例えば、RNAi作用剤を細胞が位置する組織もしくはその付近に
注射することによって、またはRNAi作用剤を、別の領域、例えば、血流もしくは皮下
空間に、作用剤がその後、接触させようとする細胞が位置する組織に到達するように注射
することによって行うことができる。例えば、RNAi作用剤は、RNAi作用剤を目的の
部位、例えば肝臓に方向付けるリガンド、例えば、GalNAc3を含有し、かつ／または
それとカップリングしてよい。*in vitro*および*in vivo*における接
触させる方法の組合せも可能である。例えば、細胞を*in vitro*においてRNAi作
用剤と接触させ、その後、対象に移植することもできる。

【0155】

一実施形態では、細胞をiRNAと接触させることは、細胞への取り込みまたは吸収を
容易にするまたはもたらすことによって「導入すること」または「iRNAを細胞に送達
すること」を含む。iRNAの吸収または取り込みは、援助なしの拡散性もしくは能動的
細胞プロセスを通じて、または補助的な作用剤もしくはデバイスによって行うことがで
きる。iRNAの細胞への導入は、*in vitro*および／または*in vivo*における
ものであってよい。例えば、*in vivo*における導入に関しては、iRNAを組織部
位に注射することまたは全身投与することができる。*in vivo*における送達は、そ
の内容全体がこれにより参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,032,40
1号および同第5,607,677号、ならびに米国公開第2005/0281781号
に記載されているものなどのベクター／カシド送達系によって行うこともできる。細胞へ
の*in vitro*における導入は、電気穿孔およびリポフェクションなどの当技術分野
で公知の方法を含む。別の手法は本明細書において以下に記載されており、かつ／または
当技術分野で公知である。

【0156】

「脂質ナノ粒子」または「LNP」という用語は、核酸分子、例えば、iRNAまたは
iRNAが転写されるプラスミドなどの薬学的に活性な分子を封入する脂質層で構成され
る小胞である。LNPは、例えば、その内容全体がこれにより参照により本明細書に組み
込まれる米国特許第6,858,225号、同第6,815,432号、同第8,158
,601号、および同第8,058,069号に記載されている。

【0157】

本明細書で使用される場合、「対象」は、霊長類（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、例え
ば、サル、およびチンパンジーなど）、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ラクダ、ラマ、
ウマ、ヤギ、ウサギ、ヒツジ、ハムスター、モルモット、ネコ、イヌ、ラット、マウス、
ウマ、およびクジラなど）を含めた哺乳動物、または鳥類（例えば、アヒルまたはガチョ
ウ）などの動物である。

【0158】

ある実施形態では、対象は、本明細書に記載の通り、HSD17B13発現の低減が有
益であると予想される疾患、障害もしくは状態について処置もしくは評価されたヒト；H
SD17B13発現の低減が有益であると予想される疾患、障害もしくは状態のリスクが
あるヒト；HSD17B13発現の低減が有益であると予想される疾患、障害もしくは状

10

20

30

40

50

態を有するヒト；および／またはHSD17B13発現の低減が有益であると予想される疾患、障害もしくは状態に対する処置を受けているヒトなどのヒトである。

【0159】

一実施形態では、対象は、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3 (PNPLA3) I148Mバリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、PNPLA3 I148Mバリエーションをコードする遺伝子に関してホモ接合性である。一実施形態では、対象は、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3 (PNPLA3) I144Mバリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、PNPLA3 I144Mバリエーションをコードする遺伝子に関してホモ接合性である。一実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子に関してホモ接合性である。別の実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。さらに別の実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子およびHSD17B13の機能喪失型バリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、HSD17B13 rs72613567 バリエーション、例えば、HSD17B13 rs72613567 : TAの保有者ではない。

10

【0160】

本明細書で使用される場合、「処置すること」または「処置」という用語は、HSD17B13遺伝子発現および／またはHSD17B13タンパク質産生に付随する1つまたは複数の症状、例えば、慢性線維炎症性肝疾患、例えば、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎 (NAFH)、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎 (ASH)、アルコール性肝疾患 (ALD)、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、肝細胞壊死、および／または肝細胞癌などのHSD17B13関連疾患の緩和または好転を含むがこれだけに限定されない、有益なまたは所望の結果を指す。「処置」は、処置が行われない場合に予測される生存と比較した生存の延長も意味し得る。

20

【0161】

「下げる」という用語は、HSD17B13関連疾患に関しては、そのようなレベルの統計的に有意な低下を指す。低下は、例えば、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、またはそれよりも大きい低下であり得る。ある特定の実施形態では、低下は、少なくとも20%である。「下げる」は、対象におけるHSD17B13のレベルに関しては、そのような障害を有さない個体に関して正常な範囲内であるとして許容されるレベルまで下がることであることが好ましい。

30

【0162】

本明細書で使用される場合、「防止」または「防止すること」は、HSD17B13遺伝子の発現の低減が有益であると予想される疾患、障害またはその状態に関して使用される場合、対象がそのような疾患、障害、または状態に付随する症状、例えば、HSD17B13遺伝子発現の症状、例えば、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎 (NAFH)、非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD)、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎 (ASH)、アルコール性肝疾患 (ALD)、HCV関連硬変症、薬物性肝障害、肝細胞壊死、および／または肝細胞癌などを発症する可能性の低減を指す。疾患、障害もしくは状態が発症できないこと、またはそのような疾患、障害もしくは状態に付随する症状の発症の低減 (例えば、その疾患または障害に関して臨床的に許容される尺度で少なくとも約10%)、または、(例えば、数日、数週間、数カ月または数年) 遅延した、症状の遅延が示されること (例えば、肝臓における脂質蓄積および／もしくは肝臓における脂肪滴の増大の低減) が有効な防止とみなされる。

40

【0163】

本明細書で使用される場合、「HSD17B13関連疾患」という用語は、HSD17

50

B 1 3 遺伝子発現または H S D 1 7 B 1 3 タンパク質産生によって引き起こされる、またはそれに関連する疾患または障害である。「H S D 1 7 B 1 3 関連疾患」という用語は、H S D 1 7 B 1 3 遺伝子発現またはタンパク質の活性の低減が有益であると予想される疾患、障害または状態を含む。

【0 1 6 4】

一実施形態では、「H S D 1 7 B 1 3 関連疾患」は、慢性線維炎症性肝疾患である。「慢性線維炎症性肝疾患」は、慢性の肝臓の炎症および／または線維症に関連するあらゆる疾患、障害、または状態である。慢性線維炎症性肝疾患の非限定的な例としては、例えば、肝臓の炎症、肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（N A S H）、非アルコール性脂肪性肝疾患（N A F L D）、肝硬変、アルコール性脂肪性肝炎（A S H）、アルコール性肝疾患（A L D）、H C V 関連硬変症、薬物性肝障害、肝細胞壊死、および／または肝細胞癌が挙げられる。

10

【0 1 6 5】

「治療有効量」は、本明細書で使用される場合、H S D 1 7 B 1 3 に関連する疾患、障害、または状態を有する対象に投与した場合に、疾患を有効に処置する（例えば、既存の疾患または疾患の1つもしくは複数の症状を減弱させること、好転させることまたは維持することによって）のに十分である R N A i 作用剤の量を含むものとする。「治療有効量」は、R N A i 作用剤、作用剤の投与の仕方、疾患およびその重症度、ならびに病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、もしあれば先行するまたは同時に行われる処置の型、ならびに処置される対象の他の個々の特性に応じて変動し得る。

20

【0 1 6 6】

「予防有効量」は、本明細書で使用される場合、H S D 1 7 B 1 3 に関連する疾患、障害、または状態を有する対象に投与した場合に、疾患または疾患の1つもしくは複数の症状を防止するまたは好転させるのに十分である i R N A の量を含むものとする。疾患を好転させることは、疾患の過程を遅くすることまたは後に発症する疾患の重症度を低下させることを含む。「予防有効量」は、i R N A、作用剤の投与の仕方、疾患のリスクの度合い、および病歴、年齢、体重、家族歴、遺伝子構造、もしあれば先行するまたは同時に行われる処置の型、および処置される患者の他の個々の特性に応じて変動し得る。

【0 1 6 7】

「治療有効量」または「予防有効量」は、任意の処置に適用可能な妥当なベネフィット／リスク比でいくらかの所望の局所的または全身効果を生じさせる R N A i 作用剤の量も含む。本発明の方法において使用される i R N A は、そのような処置に適用可能な妥当なベネフィット／リスク比を生じさせるのに十分な量で投与することができる。

30

【0 1 6 8】

「薬学的に許容される」という句は、本明細書では、良好な医学的判断の範囲内に入り、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずにヒト対象および動物対象の組織と接触させて使用するのに適しており、妥当なベネフィット／リスク比に見合う化合物、材料、組成物、および／または剤形を指すために使用される。

【0 1 6 9】

「薬学的に許容される担体」という句は、本明細書で使用される場合、薬学的に許容される材料、組成物またはビヒクル、例えば、液体または固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、製造補助物質（例えば、滑沢剤、タルクマグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸）、または対象の化合物を1つの器官もしくは体の一部から別の器官もしくは体の一部に運ぶもしくは輸送することに関与する溶媒を封入する材料などを意味する。各担体は、製剤の他の成分と適合し、処置される対象に対して有害ではないという意味で「許容される」ものでなければならない。薬学的に許容される担体としての機能を果し得る材料のいくつかの例としては、（1）糖、例えばラクトース、グルコースおよびスクロースなど；（2）デンプン、例えばトウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなど；（3）セルロース、およびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロースおよび酢酸セルロースなど；（4）粉末化

40

50

トラガント；（５）モルト；（６）ゼラチン；（７）平滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム（magnesium state）、ラウリル硫酸ナトリウムおよびタルクなど；（８）賦形剤、例えばカカオバターおよび坐薬ワックスなど；（９）油、例えばピーナッツ油、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油など；（１０）グリコール、例えばプロピレングリコールなど；（１１）ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコールなど；（１２）エステル、例えばオレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルなど；（１３）寒天；（１４）緩衝剤、例えば水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなど；（１５）アルギン酸；（１６）パイロジェンフリー水；（１７）等張性生理食塩水；（１８）リンゲル液；（１９）エチルアルコール；（２０）pH緩衝溶液；（２１）ポリエステル、ポリカーボネートおよび／またはポリ酸無水物；（２２）増量剤、例えばポリペプチドおよびアミノ酸など（２３）血清構成成分、例えば血清アルブミン、HDLおよびLDLなど；ならびに（２２）医薬製剤に使用される他の無毒性の適合性物質が挙げられる。

【０１７０】

「試料」という用語は、本明細書で使用される場合、対象から単離された同様の流体、細胞、または組織の集合、ならびに対象内に存在する流体、細胞、または組織を含む。生体液の例としては、血液、血清および漿液、血漿、脳脊髄液、眼の体液、リンパ液、尿、唾液などが挙げられる。組織試料は、組織、器官または局在領域由来の試料を含み得る。例えば、試料は、特定の器官、器官の一部、またはそれらの器官内の体液もしくは細胞に由来してもよい。ある特定の実施形態では、試料は、肝臓（例えば、肝臓全体または肝臓のある特定のセグメントまたは肝臓内のある特定の型の細胞、例えば、肝細胞など）に由来してもよい。一部の実施形態では、「対象に由来する試料」は、対象から抜き取られた血液または血漿を指す。

II. 本発明の iRNA

【０１７１】

標的遺伝子の発現を阻害する iRNA が本明細書に記載されている。一実施形態では、iRNA は、HSD17B13 遺伝子の発現を阻害する。一実施形態では、iRNA 作用剤は、細胞、例えば肝細胞など、例えば、対象、例えば、慢性線維炎症性肝疾患、障害、または状態、例えば、例えば肝臓における脂肪滴の蓄積および／もしくは増大ならびに／または肝臓の線維症に関連する疾患、障害、または状態を有するヒトなどの哺乳動物内の肝細胞などにおける HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するための二本鎖リボ核酸（dsRNA）分子を含む。

【０１７２】

dsRNA は、HSD17B13 遺伝子の発現下で形成される mRNA の少なくとも一部と相補的である相補性領域を有するアンチセンス鎖を含む。相補性領域は、約 30 ヌクレオチド長またはそれ未満（例えば、約 30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、または 18 ヌクレオチド長またはそれ未満）である。標的遺伝子を発現する細胞と接触すると、iRNA は、標的遺伝子（例えば、ヒト、霊長類、非霊長類、または鳥類の標的遺伝子）の発現を、例えば PCR もしくは分枝 DNA（bdNA）に基づく方法によって、またはタンパク質に基づく方法によって、例えば、ウエスタンブロットティングもしくはフローサイトメトリー技法を使用する免疫蛍光法分析などによってアッセイして少なくとも約 10 % 阻害する。

【０１７３】

dsRNA は、相補的であり、dsRNA が使用される条件下でハイブリダイズして二重鎖構造を形成する 2 つの RNA 鎖を含む。dsRNA の一方の鎖（アンチセンス鎖）は、標的配列と実質的に相補的な、および一般に、完全に相補的な相補性領域を含む。標的配列は、HSD17B13 遺伝子の発現の間に形成される mRNA の配列に由来し得る。他方の鎖（センス鎖）は、アンチセンス鎖と相補的な領域を含み、したがって、2 つの鎖は適切な条件下で組み合わせるとハイブリダイズし、二重鎖構造を形成する。本明細書の他の箇所に記載の通りおよび当技術分野で公知の通り、dsRNA の相補配列は、別々の

オリゴヌクレオチドであるのとは対照的に、単一の核酸分子の自己相補的な領域としても含有され得る。

【0174】

一般に、二重鎖構造は、15から30塩基対の間の長さ、例えば、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22塩基対の長さである。上記の範囲および長さの間の範囲および長さも本発明の一部であることが意図されている。

10

【0175】

同様に、標的配列との相補性領域は、15から30ヌクレオチドの間の長さ、例えば、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22ヌクレオチド長である。上記の範囲および長さの間の範囲および長さも本発明の一部であることが意図されている。

20

【0176】

一部の実施形態では、dsRNAのセンスおよびアンチセンス鎖は、それぞれ独立に、約15～約30ヌクレオチド長、または約25～約30ヌクレオチド長であり、例えば、各鎖は、独立に、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22ヌクレオチド長である。一部の実施形態では、dsRNAは、約15から約23ヌクレオチドの間の長さ、または約25から約30ヌクレオチドの間の長さである。一般に、dsRNAは、ダイサー酵素の基質としての機能を果たすのに十分に長い。例えば、約21～23ヌクレオチドよりも長いdsRNAがダイサーの基質としての機能を果たし得ることが当技術分野で周知である。これも当業者には認識される通り、切断の標的とされるRNAの領域は、より大きなRNA分子、多くの場合、mRNA分子の一部であることが多い。関連性がある場合、mRNA標的の「一部」は、RNAiにより方向付けられる切断（すなわち、RISC経路を通じた切断）の基質になることを可能にするのに十分な長さのmRNA標的の連続した配列である。

30

40

【0177】

二重鎖領域、例えば、約9～36塩基対、例えば、約10～36、11～36、12～36、13～36、14～36、15～36、9～35、10～35、11～35、12～35、13～35、14～35、15～35、9～34、10～34、11～34、1

50

2～34、13～34、14～34、15～34、9～33、10～33、11～33、12～33、13～33、14～33、15～33、9～32、10～32、11～32、12～32、13～32、14～32、15～32、9～31、10～31、11～31、12～31、13～32、14～31、15～31、15～30、15～29、15～28、15～27、15～26、15～25、15～24、15～23、15～22、15～21、15～20、15～19、15～18、15～17、18～30、18～29、18～28、18～27、18～26、18～25、18～24、18～23、18～22、18～21、18～20、19～30、19～29、19～28、19～27、19～26、19～25、19～24、19～23、19～22、19～21、19～20、20～30、20～29、20～28、20～27、20～26、20～25、20～24、20～23、20～22、20～21、21～30、21～29、21～28、21～27、21～26、21～25、21～24、21～23、または21～22塩基対の二重鎖領域がdsRNAの主要な機能的部分であることも当業者には認識されよう。したがって、一実施形態では、30塩基対よりも大きな二重鎖領域を有するRNA分子またはRNA分子の複合体は、所望のRNAを切断の標的とする例えば15～30塩基対の機能的な二重鎖にプロセッシングされるようになるという範囲内で、dsRNAである。したがって、一実施形態ではmiRNAがdsRNAであることが当業者には認識されよう。別の実施形態では、dsRNAは、天然に存在するmiRNAではない。別の実施形態では、HSD17B13発現を標的とするために有用なiRNA作用剤は、標的細胞においてより大きなdsRNAの切断によって生成されない。

【0178】

本明細書に記載のdsRNAは、1つまたは複数の一本鎖ヌクレオチド突出、例えば、1、2、3、または4ヌクレオチドをさらに含み得る。少なくとも1つのヌクレオチド突出を有するdsRNAは、それらの平滑末端化した対応物と比べて予想外に優れた阻害特性を有し得る。ヌクレオチド突出は、デオキシヌクレオチド／ヌクレオシドを含めたヌクレオチド／ヌクレオシド類似体を含み得る、またはそれからなり得る。突出は、センス鎖、アンチセンス鎖またはこれらの任意の組合せに存在し得る。さらに、突出のヌクレオチドは、dsRNAのアンチセンスまたはセンス鎖のいずれかの5'末端、3'末端または両方の末端に存在し得る。

【0179】

dsRNAは、以下でさらに考察される当技術分野で公知の標準の方法によって、例えば、例えばBiosearch、Applied Biosystems、Incから市販されているものなどの自動DNA合成機を使用することによって合成することができる。

【0180】

本発明のiRNA化合物は、二段階手順を使用して調製することができる。まず、二本鎖RNA分子の個々の鎖を別々に調製する。次いで、構成成分の鎖をアニーリングする。siRNA化合物の個々の鎖は、液相または固相有機合成または両方を使用して調製することができる。有機合成により、通常ではないヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド鎖を容易に調製することができるという利点がもたらされる。本発明の一本鎖オリゴヌクレオチドは、液相または固相有機合成または両方を使用して調製することができる。

【0181】

一態様では、本発明のdsRNAは、少なくとも2つのヌクレオチド配列、センス配列およびアンチセンス配列を含む。センス鎖配列は、表2、3、7、8、10、11または13のいずれか1つに提示されている配列の群から選択され、センス鎖のアンチセンス鎖の対応するヌクレオチド配列は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つの配列の群から選択される。この態様では、2つの配列の一方は2つの配列の他方と相補的であり、これらの配列の一方が、HSD17B13遺伝子の発現下で生成されるmRNAの配列と実質的に相補的である。そのように、この態様では、dsRNAは2つのオリゴヌクレオチドを含み、一方のオリゴヌクレオチドは表2、3、7、8、10、11

、または13のいずれか1つにおいてセンス鎖（パッセンジャー鎖）として記載され、第2のオリゴヌクレオチドは表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つにおけるセンス鎖の対応するアンチセンス鎖（ガイド鎖）として記載される。一実施形態では、dsRNAの実質的に相補的な配列は別々のオリゴヌクレオチドに含有される。別の実施形態では、dsRNAの実質的に相補的な配列は単一のオリゴヌクレオチドに含有される。

【0182】

表2、3、7、8、10、11、または13の配列は、修飾された配列、修飾されていない配列、コンジュゲートしていない配列、および／またはコンジュゲートした配列として記載されているが、本発明のiRNAのRNA、例えば本発明のdsRNAは、修飾されていない、コンジュゲートしていない、ならびに／または本明細書に記載されているものと異なって修飾された、および／もしくはコンジュゲートした、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに記載されている配列のいずれか1つを含み得ることが理解されよう。

【0183】

約20から23塩基対の間、例えば、21塩基対の二重鎖構造を有するdsRNAが、RNA干渉の誘導において特に有効であると認められていることを当業者は十分に分かっている（Elbashir et al., (2001) EMBO J., 20: 6877-6888）。しかし、他者により、より短いまたはより長いRNA二重鎖構造も有効であり得ることが見いだされている（Chu and Rana (2007) RNA 14: 1714-1719; Kim et al. (2005) Nat Biotech 23: 222-226）。上記の実施形態では、本明細書で提示されるオリゴヌクレオチド配列の性質により、本明細書に記載のdsRNAは、長さが最短で21ヌクレオチドである少なくとも1つの鎖を含み得る。一方または両方の末端のほんの数ヌクレオチドが引かれた、より短い二重鎖が、上記のdsRNAと比較して同様に有効であり得ることを合理的に予測することができる。したがって、本明細書に提示される配列の1つに由来し、HSD17B13遺伝子の発現を阻害するそれらの能力が全配列を含むdsRNAと約5、10、15、20、25、または30%阻害以下異なる、少なくとも15個、16個、17個、18個、19個、20個、またはそれよりも多くの連続したヌクレオチドの配列を有するdsRNAが本発明の範囲内に入ることが意図されている。

【0184】

さらに、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに記載のRNAにより、HSD17B13転写物内のRISC媒介性切断を受けやすい部位が同定される。そのように、本発明は、この部位内を標的とするiRNAをさらに特徴とする。本明細書で使用される場合、iRNAにより特定の部位内の任意の場所での転写物の切断が促進されれば、そのiRNAはRNA転写物の特定の部位内を標的とするといえる。そのようなiRNAは、一般に、遺伝子内の選択された配列に隣接する領域から取った追加的なヌクレオチド配列とカップリングする本明細書に提示される配列の1つからの少なくとも約15個の連続したヌクレオチドを含む。

【0185】

標的配列は一般に約15～30ヌクレオチド長であるが、この範囲内の特定の配列の、任意の所与の標的RNAの切断を方向付けることに関する適性は広範に変動する。本明細書で示されている種々のソフトウェアパッケージおよびガイドラインにより、任意の所与の遺伝子標的に対する最適な標的配列の同定に関するガイダンスが提供されるが、所与のサイズ（非限定的な例として、21ヌクレオチド）の「ウインドウ」または「マスク」を文字通りまたは比喩的に（例えば、in silicoを含む）標的RNA配列に置いて、そのサイズ範囲内で標的配列としての機能を果し得る配列を同定するという経験的手法も取ることができる。選択された任意の所与の標的サイズに関して可能性のある配列の完全なセットが同定されるまで、配列「ウインドウ」を最初の標的配列の位置から1ヌクレオチド上流または下流に連続して移動させることにより、次の潜在的な標的配列を同定することができる。このプロセスを、最適に機能する配列を同定するために系統的合成お

10

20

30

40

50

よび同定された配列の試験（本明細書に記載のまたは当技術分野で公知のアッセイを使用する）と併せることにより、iRNA作用剤を用いて標的化した場合に標的遺伝子発現の最良の阻害を媒介するRNA配列を同定することができる。したがって、本明細書において同定される配列は有効な標的配列を表すが、所与の配列の1ヌクレオチド上流または下流に連続して「ウインドウを歩くように移動」して、等しいまたはより良好な阻害特性を有する配列を同定することにより、阻害効率のさらなる最適化を実現することができることが意図されている。

【0186】

さらに、本明細書において同定される任意の配列に対して、系統的にヌクレオチドの付加または除去のいずれかを行って、より長いまたはより短い配列を生成し、生成された配列を、より長いまたはより短いサイズのウインドウをその点から標的RNAから上方または下方に歩くように移動することによって試験することにより、さらなる最適化を実現することができることが意図されている。再度、新しい候補標的を生成するためのこの手法を、当技術分野で公知のおよび／または本明細書に記載の阻害アッセイにおけるこれらの標的配列に基づくiRNAの効果についての試験と併せることにより、阻害効率のさらなる改善を導くことができる。さらになお、そのような最適化された配列を、例えば、本明細書に記載のもしくは当技術分野で公知の修飾ヌクレオチドの導入、突出の付加もしくは変化、または当技術分野で公知のおよび／もしくは本明細書で考察されている他の修飾によって調整して、分子を発現阻害剤としてさらに最適化することができる（例えば、血清の安定性または循環半減期の増大、熱安定性の増大、膜貫通送達の増強、特定の位置または細胞型の標的化、サイレンシング経路酵素との相互作用の増大、エンドソームからの放出の増大）。

【0187】

本明細書に記載のiRNA作用剤は、標的配列に対して1つまたは複数のミスマッチを含有し得る。一実施形態では、本明細書に記載のiRNAは、3つ以下のミスマッチを含有する。iRNAのアンチセンス鎖が標的配列に対するミスマッチを含有する場合、ミスマッチの領域は相補性領域の中央に位置しないことが好ましい。iRNAのアンチセンス鎖が標的配列に対するミスマッチを含有する場合、ミスマッチは相補性領域の5'または3'末端のいずれかから最後の5ヌクレオチド以内に制限されることが好ましい。例えば、23ヌクレオチドのiRNA作用剤に関しては、HSD17B13遺伝子の領域と相補的である鎖は、一般に、中央の13ヌクレオチドの範囲内にはいかなるミスマッチも含有しない。本明細書に記載の方法または当技術分野で公知の方法を使用して、標的配列に対するミスマッチを含有するiRNAがHSD17B13遺伝子の発現の阻害において有効であるかどうかを決定することができる。ミスマッチを有するiRNAのHSD17B13遺伝子の発現の阻害における有効性の考察は、特に、HSD17B13遺伝子の特定の相補性領域が集団内で多型配列バリエーションを有することが分かっている場合に重要である。

III. 本発明の修飾iRNA

【0188】

一実施形態では、本発明のiRNAのRNA、例えばdsRNAは、修飾されておらず、例えば、当技術分野で公知であり、本明細書に記載されている化学修飾および／またはコンジュゲーションを含まない。別の実施形態では、本発明のiRNAのRNA、例えばdsRNAは、安定性または他の有益な特性が増強されるように化学修飾されている。本発明のある特定の実施形態では、本発明のiRNAのヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている。本発明の他の実施形態では、本発明のiRNAのヌクレオチドの全てが修飾されている。「ヌクレオチドの実質的に全てが修飾されている」本発明のiRNAは、全体ではないが大部分が修飾されており、5、4、3、2、または1つ以下の修飾されていないヌクレオチドを含み得る。

【0189】

本発明の一部の態様では、本発明のiRNAのヌクレオチドの実質的に全てが修飾されており、iRNA作用剤は、2'フルオロ修飾を含むヌクレオチドを10個以下含む（例

10

20

30

40

50

例えば、9個以下の2'-フルオロ修飾、8個以下の2'-フルオロ修飾、7個以下の2'-フルオロ修飾、6個以下の2'-フルオロ修飾、5個以下の2'-フルオロ修飾、4個以下の2'-フルオロ修飾、3個以下の2'-フルオロ修飾、または2個以下の2'-フルオロ修飾)。例えば、一部の実施形態では、センス鎖は、2'-フルオロ修飾を含むヌクレオチドを4個以下含む(例えば、3個以下の2'-フルオロ修飾、または2個以下の2'-フルオロ修飾)。他の実施形態では、アンチセンス鎖は、2'-フルオロ修飾を含むヌクレオチドを6個以下含む(例えば、5個以下の2'-フルオロ修飾、4個以下の2'-フルオロ修飾、4個以下の2'-フルオロ修飾、または2個以下の2'-フルオロ修飾)。

【0190】

本発明の他の態様では、本発明のiRNAのヌクレオチドの全てが修飾されており、iRNA作用剤は、2'-フルオロ修飾を含むヌクレオチドを10個以下含む(例えば、9個以下の2'-フルオロ修飾、8個以下の2'-フルオロ修飾、7個以下の2'-フルオロ修飾、6個以下の2'-フルオロ修飾、5個以下の2'-フルオロ修飾、4個以下の2'-フルオロ修飾、5個以下の2'-フルオロ修飾、4個以下の2'-フルオロ修飾、3個以下の2'-フルオロ修飾、または2個以下の2'-フルオロ修飾)。

【0191】

一実施形態では、本発明の二本鎖RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の5'ヌクレオチドに5'-リン酸または5'-リン酸模倣体をさらに含む。別の実施形態では、二本鎖RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の5'ヌクレオチドに5'-リン酸模倣体をさらに含む。特定の実施形態では、5'-リン酸模倣体は、5'-ビニルリン酸(5'-VP)である。

【0192】

本発明において特徴付けられる核酸は、これにより参照により本明細書に組み込まれる"Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. et al. (Eds.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USAに記載されているものなどの当技術分野において十分に確立された方法によって合成および/または修飾することができる。修飾としては、例えば、末端修飾、例えば、5'末端修飾(リン酸化、コンジュゲーション、逆連結)もしくは3'末端修飾(コンジュゲーション、DNAヌクレオチド、逆連結など);塩基修飾、例えば、安定化塩基、不安定化塩基、もしくは拡張されたパートナーのレパートリーと塩基対合する塩基での置換え、塩基の除去(脱塩基ヌクレオチド)、もしくはコンジュゲートした塩基;糖修飾(例えば、2'位または4'位)もしくは糖の置換え;および/または、リン酸ジエステル連結の修飾または置換えを含めた骨格修飾が挙げられる。本明細書に記載の実施形態において有用なiRNA化合物の特定の例としては、これだけに限定されないが、修飾された骨格を含有するまたは天然のヌクレオシド間連結を含有しないRNAが挙げられる。修飾された骨格を有するRNAとしてはとりわけ、骨格にリン原子を有さないRNAが挙げられる。本明細書の目的に関して、および当技術分野において時々参照される通り、ヌクレオシド間骨格にリン原子を有さない修飾RNAは、オリゴヌクレオシドともみなされ得る。一部の実施形態では、修飾iRNAはヌクレオシド間骨格にリン原子を有する。

【0193】

修飾RNA骨格としては、例えば、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステラーゼ、アミノアルキルホスホトリエステル、メチルおよび3'-アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネートを含めた他のアルキルホスホネート、ホスフィネート、3'-アミノホスホラミデートおよびアミノアルキルホスホラミデートを含めたホスホラミデート、チオノホスホラミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、および正常な3'-5'連結を有するボラノホスフェート、これらの2'-5'連結類似体、ならびに、ヌクレオシド単位の近接する対が3'-5'から5'-3'にまたは2'-5'から5'-2'に連結した逆極性を有するものが挙げられる。種々の塩、混合塩および遊離酸の形態も含まれる。本発明の一部の実施形態では、本発明のdsRNA作用剤は、遊離酸の形態である。本発明の他の実施形態では

10

20

30

40

50

、本発明の dsRNA 作用剤は、塩の形態である。一実施形態では、本発明の dsRNA 作用剤は、ナトリウム塩の形態である。ある特定の実施形態では、本発明の dsRNA 作用剤がナトリウム塩の形態である場合、作用剤中に存在するリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の実質的に全てに対して対イオンとしてナトリウムイオンが作用剤中に存在する。リン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結の実質的に全てがナトリウム対イオンを有する作用剤は、ナトリウム対イオンを伴わないリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結を 5 個、4 個、3 個、2 個、または 1 個以下含む。一部の実施形態では、本発明の dsRNA 作用剤がナトリウム塩の形態である場合、作用剤中に存在するリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の全てに対して対イオンとしてナトリウムイオンが作用剤中に存在する。

【0194】

上記のリン含有連結の調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、米国特許第 3,687,808 号；同第 4,469,863 号；同第 4,476,301 号；同第 5,023,243 号；同第 5,177,195 号；同第 5,188,897 号；同第 5,264,423 号；同第 5,276,019 号；同第 5,278,302 号；同第 5,286,717 号；同第 5,321,131 号；同第 5,399,676 号；同第 5,405,939 号；同第 5,453,496 号；同第 5,455,233 号；同第 5,466,677 号；同第 5,476,925 号；同第 5,519,126 号；同第 5,536,821 号；同第 5,541,316 号；同第 5,550,111 号；同第 5,563,253 号；同第 5,571,799 号；同第 5,587,361 号；同第 5,625,050 号；同第 6,028,188 号；同第 6,124,445 号；同第 6,160,109 号；同第 6,169,170 号；同第 6,172,209 号；同第 6,239,265 号；同第 6,277,603 号；同第 6,326,199 号；同第 6,346,614 号；同第 6,444,423 号；同第 6,531,590 号；同第 6,534,639 号；同第 6,608,035 号；同第 6,683,167 号；同第 6,858,715 号；同第 6,867,294 号；同第 6,878,805 号；同第 7,015,315 号；同第 7,041,816 号；同第 7,273,933 号；同第 7,321,029 号；および米国特許 RE39464 が挙げられ、これらのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

【0195】

リン原子を含まない修飾 RNA 骨格は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間連結、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間連結、または 1 つもしくは複数の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式ヌクレオシド間連結によって形成される骨格を有する。これらとしては、モルホリノ連結（一部ヌクレオシドの糖部分から形成される）；シロキサン骨格；硫化物、スルホキシドおよびスルホン骨格；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格；メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格；アルケン含有骨格；スルファミン酸骨格；メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ骨格；スルホン酸およびスルホンアミド骨格；アミド骨格；ならびに混合 N、O、S および CH₂ 構成部分を有するその他を有するものが挙げられる。

【0196】

上記のオリゴヌクレオシドの調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、米国特許第 5,034,506 号；同第 5,166,315 号；同第 5,185,444 号；同第 5,214,134 号；同第 5,216,141 号；同第 5,235,033 号；同第 5,64,562 号；同第 5,264,564 号；同第 5,405,938 号；同第 5,434,257 号；同第 5,466,677 号；同第 5,470,967 号；同第 5,489,677 号；同第 5,541,307 号；同第 5,561,225 号；同第 5,596,086 号；同第 5,602,240 号；同第 5,608,046 号；同第 5,610,289 号；同第 5,618,704 号；同第 5,623,070 号；同第 5,663,312 号；同第 5,633,360 号；同第 5,677,437 号；および同第 5,677,439 号が挙げられ、これらのそれぞれの内容全体がこれ

によって参照により本明細書に組み込まれる。

【0197】

他の実施形態では、iRNAに使用するための、ヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド間連結の両方、すなわち骨格が新規の基で置き換えられた適切なRNA模倣体が意図されている。妥当な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのための塩基単位は維持される。1つのそのようなオリゴマー化合物であり、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているRNA模倣体は、ペプチド核酸(PNA)と称される。PNA化合物では、RNAの糖骨格がアミド含有骨格、特にアミノエチルグリシン骨格で置き換えられている。核酸塩基は保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子と直接または間接的に結合している。PNA化合物の調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、米国特許第5,539,082号；同第5,714,331号；および同第5,719,262号が挙げられる、これらのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。本発明のiRNAへの使用に適した追加的なPNA化合物は、例えば、Nielsen et al., Science, 1991, 254, 1497-1500に記載されている。

【0198】

本発明において特徴付けられる一部の実施形態は、上で参照した米国特許第5,489,677号のホスホロチオエート骨格、およびヘテロ原子骨格、具体的には $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$ [メチレン(メチルイミノ)またはMMI骨格として公知]、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ および $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ [ネイティブなリン酸ジエステル骨格は $-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-$ で表される] を有するオリゴヌクレオシド、ならびに上で参照した米国特許第5,602,240号のアミド骨格を有するRNAを含む。一部の実施形態では、本明細書で特徴付けられるRNAは、上で参照した米国特許第5,034,506号のモルホリノ骨格構造を有する。

【0199】

修飾RNAは、1つまたは複数の置換された糖部分も含有し得る。本明細書で特徴付けられるiRNA、例えばdsRNAは、2'位に以下のうちの1つを含み得る：OH；F；O-アルキル、S-アルキル、もしくはN-アルキル；O-アルケニル、S-アルケニル、もしくはN-アルケニル；O-アルキニル、S-アルキニルもしくはN-アルキニル；またはO-アルキル-O-アルキル、ここで、アルキル、アルケニルおよびアルキニルは、置換または非置換 $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ アルキルまたは $\text{C}_2\sim\text{C}_{10}$ アルケニルおよびアルキニルであり得る。例示的な適切な修飾としては、 $\text{O}[(\text{CH}_2)_n\text{O}]_m\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{OCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ONH}_2$ 、および $\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{ON}[(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3]_2$ が挙げられ、ここで、nおよびmは1から約10までである。他の実施形態では、dsRNAは、2'位に以下のうちの1つを含む： $\text{C}_1\sim\text{C}_{10}$ 低級アルキル、置換低級アルキル、アルカリール、アラールキル、O-アルカリールまたはO-アラールキル、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリール、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換シリル、RNA切断基、レポーター基、インターカレーター、iRNAの薬物動態的性質を改善するための基、またはiRNAの薬力学的性質を改善するための基、および同様の性質を有する他の置換基。一部の実施形態では、修飾は、2'-メトキシエトキシ(2'-O-CH₂CH₂OCH₃、2'-O-(2-メトキシエチル)または2'-MOEとしても公知)(Martin et al., Helv. Chim. Acta, 1995, 78: 486-504)、すなわち、アルコキシ-アルコキシ基を含む。別の例示的な修飾は、本明細書において下の実施例に記載されている2'-DMAOEとしても公知の2'-ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわち、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{ON}(\text{CH}_3)_2$ 基および2'-ジメチルアミノエトキシエトキシ(当技術分野では2'-O-ジメチルアミノエトキシエチルまたは2'-DMAEOEと

10

20

30

40

50

しても公知)、すなわち、 $2' - O - CH_2 - O - CH_2 - N(CH_2)_2$ である。さらなる例示的な修飾として、 $5' - Me - 2' - F$ ヌクレオチド、 $5' - Me - 2' - OM$ eヌクレオチド、 $5' - Me - 2' -$ デオキシヌクレオチド(これらの3つのファミリーのR異性体およびS異性体の両方); $2' -$ アルコシアルキル; および $2' - NMA$ (N-メチルアセトアミド) が挙げられる。

【0200】

他の修飾としては、 $2' -$ メトキシ ($2' - OCH_3$)、 $2' -$ アミノプロポキシ ($2' - OCH_2CH_2CH_2NH_2$) および $2' -$ フルオロ ($2' - F$) が挙げられる。同様の修飾をiRNAのRNAの他の位置、特に3'末端ヌクレオチドの糖の3'位または2'-5'連結dsRNAおよび5'末端ヌクレオチドの5'位において行うことができる。iRNAは、ペントフラノシル糖の代わりにシクロブチル部分などの糖模倣体も有し得る。そのような修飾糖構造の調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、米国特許第4,981,957号; 同第5,118,800号; 同第5,319,080号; 同第5,359,044号; 同第5,393,878号; 同第5,446,137号; 同第5,466,786号; 同第5,514,785号; 同第5,519,134号; 同第5,567,811号; 同第5,576,427号; 同第5,591,722号; 同第5,597,909号; 同第5,610,300号; 同第5,627,053号; 同第5,639,873号; 同第5,646,265号; 同第5,658,873号; 同第5,670,633号; および同第5,700,920号が挙げられ、これらのうちのいくつかは本出願と共同所有される。前述のそれぞれの内容全体は、これにより参照により本明細書に組み込まれる。

【0201】

本発明のiRNAは、核酸塩基(当技術分野では多くの場合、単に「塩基」と称される)の修飾または置換も含み得る。本明細書で使用される場合、「修飾されていない」または「天然の」核酸塩基は、プリン塩基であるアデニン(A)およびグアニン(G)、ならびにピリミジン塩基であるチミン(T)、シトシン(C)およびウラシル(U)を含む。修飾核酸塩基は、他の合成および天然の核酸塩基、例えば、5-メチルシトシン(5-me-C)、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサントシン、ヒポキサントシン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン、5-ハロウラシルおよびシトシン、5-プロピニルウラシルおよびシトシン、6-アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5-ウラシル(シュードウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-チオール、8-チオアルキル、8-ヒドロキシルおよび他の8置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ、特に5-ブロモ、5-トリフルオロメチルおよび他の5置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニンおよび7-デアザアデニン(daazaadenine)、ならびに3-デアザグアニンおよび3-デアザアデニンなどを含む。さらなる核酸塩基として、米国特許第3,687,808号に開示されているもの、Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008に開示されているもの; The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990に開示されているもの、Englisch et al., (1991) Angewandte Chemie, International Edition, 30: 613によって開示されているもの、およびSanghvi, Y. S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993によって開示されているものが挙げられる。これらの核酸塩基のうちのいくつかは、本発明において特徴付けられるオリゴマー化合物の結合親和性を増大させるために特に有用である。これらとしては、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシルおよび5-プロピニルシトシンを含めた5置換ピリミジン、6-アザピリミジンならびにN-2、N-6およびO-6置換プリンが挙げられる。

5-メチルシトシン置換は、核酸二重鎖安定性を0.6~1.2℃増大させることが示されており (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., *dsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)、さらにより具体的には2'-O-メトキシエチル糖修飾と組み合わせた場合に例示的な塩基置換である。

【0202】

上記の修飾核酸塩基ならびに他の修飾核酸塩基のいくつかの調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、上記の米国特許第3,687,808号、同第4,845,205号；同第5,130,30号；同第5,134,066号；同第5,175,273号；同第5,367,066号；同第5,432,272号；同第5,457,187号；同第5,459,255号；同第5,484,908号；同第5,502,177号；同第5,525,711号；同第5,552,540号；同第5,587,469号；同第5,594,121号、同第5,596,091号；同第5,614,617号；同第5,681,941号；同第5,750,692号；同第6,015,886号；同第6,147,200号；同第6,166,197号；同第6,222,025号；同第6,235,887号；同第6,380,368号；同第6,528,640号；同第6,639,062号；同第6,617,438号；同第7,045,610号；同第7,427,672号；および同第7,495,088号が挙げられ、これらのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

【0203】

本発明のiRNAは、1つまたは複数のロックド核酸(LNA)を含むように修飾されていてもよい。ロックド核酸は、リボース部分が2'炭素と4'炭素を接続する追加の架橋を含む修飾リボース部分を有するヌクレオチドである。この構造により、リボースが3'末端構造コンフォメーションに有効に「ロック」される。siRNAへのロックド核酸の付加により、血清中でのsiRNA安定性が増大し、オフターゲットの効果が減少することが示されている (Elmen, J. et al., (2005) *Nucleic Acids Research* 33 (1): 439-447; Mook, OR. et al., (2007) *Mol Canc Ther* 6 (3): 833-843; Grunweller, A. et al., (2003) *Nucleic Acids Research* 31 (12): 3185-3193)。

【0204】

本発明のiRNAは、1つまたは複数の二環式糖部分を含むように修飾されていてもよい。「二環式糖」は、2つの原子の架橋によって修飾されたフラノシル環である。「二環式ヌクレオシド」(「BNA」)は、糖環の2つの炭素原子を接続する架橋を含み、それにより、二環式環系を形成する糖部分を有するヌクレオシドである。ある特定の実施形態では、架橋は、糖環の4'-炭素と2'-炭素を接続する。したがって、一部の実施形態では、本発明の作用剤は、1つまたは複数のロックド核酸(LNA)を含み得る。ロックド核酸は、リボース部分が2'炭素と4'炭素を接続する追加の架橋を含む修飾リボース部分を有するヌクレオチドである。言い換えれば、LNAは、4'-CH₂-O-2'架橋を含む二環式糖部分を含むヌクレオチドである。この構造により、リボースが3'末端構造コンフォメーションに有効に「ロック」される。siRNAへのロックド核酸の付加により、血清中でのsiRNA安定性が増大し、オフターゲットの効果が減少することが示されている (Elmen, J. et al., (2005) *Nucleic Acids Research* 33 (1): 439-447; Mook, OR. et al., (2007) *Mol Canc Ther* 6 (3): 833-843; Grunweller, A. et al., (2003) *Nucleic Acids Research* 31 (12): 3185-3193)。本発明のポリヌクレオチドに使用するための二環式ヌクレオシドの例としては、限定することなく、4'リボシル環原子と2'リボシル環原子の間に架橋を含むヌクレオシドが挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明のアンチセンスポリヌクレオチド作用剤は、4'~2'架橋を含む1つまたは複数の二環式ヌクレオシドを含む。そのような4'~2'架橋二環式ヌクレオシドの例としては、これだけに限定されないが、4'-(CH₂)-O-2'(LNA)；4'-(CH₂)-S-2'；4'-(CH₂)₂-O-2'(ENA)；4'-CH(CH₃)-O-2'('拘束エチル'または'cEt'とも称される)および4'-CH

(CH_2OCH_3) $-\text{O}-2'$ (およびその類似体; 例えば、米国特許第7, 399, 845号を参照されたい); $4'-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$ (およびその類似体; 例えば、米国特許第8, 278, 283号を参照されたい); $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{OCH}_3)-2'$ (およびその類似体; 例えば、米国特許第8, 278, 425号を参照されたい); $4'-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-2'$ (例えば、米国特許公開第2004/0171570号を参照されたい); $4'-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R})-\text{O}-2'$ (式中、Rは、H、 $\text{C}_1\sim\text{C}_{12}$ アルキル、または保護基である) (例えば、米国特許第7, 427, 672号を参照されたい); $4'-\text{CH}_2-\text{C}(\text{H})(\text{CH}_3)-2'$ (例えば、Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134を参照されたい); ならびに $4'-\text{CH}_2-\text{C}(=\text{CH}_2)-2'$ (およびその類似体; 例えば、米国特許第8, 278, 426号を参照されたい) が挙げられる。前述のそれぞれの内容全体は、これにより参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0205】

ロックド核酸ヌクレオチドの調製を教示している追加的な代表的な米国特許および米国特許公開としては、これだけに限定されないが、以下：米国特許第6, 268, 490号; 同第6, 525, 191号; 同第6, 670, 461号; 同第6, 770, 748号; 同第6, 794, 499号; 同第6, 998, 484号; 同第7, 053, 207号; 同第7, 034, 133号; 同第7, 084, 125号; 同第7, 399, 845号; 同第7, 427, 672号; 同第7, 569, 686号; 同第7, 741, 457号; 同第8, 022, 193号; 同第8, 030, 467号; 同第8, 278, 425号; 同第8, 278, 426号; 同第8, 278, 283号; US 2008/0039618; および US 2009/0012281 が挙げられ、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

20

【0206】

前述の二環式ヌクレオシドはいずれも、例えば α -L-リボフラノースおよび β -D-リボフラノースを含め、1つまたは複数の立体化学的な糖立体配置を有するように調製することができる (WO 99/14226を参照されたい)。

【0207】

本発明の iRNA は、1つまたは複数の拘束エチルヌクレオチドを含むように修飾されていてもよい。本明細書で使用される場合、「拘束エチルヌクレオチド」または「cEt」は、 $4'-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-2'$ 架橋を含む二環式糖部分を含むロックド核酸である。一実施形態では、拘束エチルヌクレオチドは、Sコンフォメーションにあり、本明細書では「S-cEt」と称される。

30

【0208】

本発明の iRNA は、1つまたは複数の「コンフォメーションが制限されたヌクレオチド」(「CRN」) も含み得る。CRNは、リボースの $\text{C}2'$ 炭素と $\text{C}4'$ 炭素またはリボースの $\text{C}3$ 炭素と $\text{C}5'$ 炭素を接続するリンカーを有するヌクレオチド類似体である。CRNによりリボース環が安定なコンフォメーションにロックされ、mRNA に対するハイブリダイゼーション親和性が増大する。リンカーは、酸素が安定性および親和性に関して最適な位置に置かれ、その結果、リボース環の歪みが少なくなるのに十分な長さのものである。

40

【0209】

上記の CRN のいくつかの調製を教示している代表的な刊行物としては、これだけに限定されないが、米国特許公開第2013/0190383号; および PCT 公開 WO 2013/036868 が挙げられ、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

【0210】

一部の実施形態では、本発明の iRNA は、UNA (アンロックド核酸) ヌクレオチドである1つまたは複数の単量体を含む。UNAは、アンロックド非環式核酸であり、糖の結合のいずれかが除去されており、それにより、アンロックド「糖」残基が形成されてい

50

る。一例では、UNAは、C1' - C4' の間の結合（すなわち、C1' 炭素とC4' 炭素の間の炭素 - 酸素 - 炭素共有結合）が除去されている単量体も包含する。別の例では、糖のC2' - C3' 結合（すなわち、C2' 炭素とC3' 炭素の間の炭素 - 炭素共有結合）が除去されている（これによって参照により本明細書に組み込まれるNuc. Acids Symp. Series, 52, 133-134 (2008)およびFluiter et al., Mol. Biosyst., 2009, 10, 1039を参照されたい）。

【0211】

UNAの調製を教示している代表的な米国公開としては、これだけに限定されないが、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる米国特許第8, 314, 227号；および米国特許公開第2013/0096289号；同第2013/0011922号；および同第2011/0313020号が挙げられる。

10

【0212】

RNA分子の末端に対する潜在的に安定化させる修飾としては、N-（アセチルアミノカプロイル）-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6-NHAc）、N-（カプロイル-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6）、N-（アセチル-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-NHAc）、チミジン-2'-0-デオキシチミジン（エーテル）、N-（アミノカプロイル）-4-ヒドロキシプロリノール（Hyp-C6-アミノ）、2-ドコサノイル-ウリジン-3''-リン酸、逆塩基dT（idT）およびその他を挙げることができる。この修飾の開示は、PCT公開第WO2011/005861号に見いだすことができる。

20

【0213】

本発明のiRNAの他の修飾としては、RNAi作用剤のアンチセンス鎖における5'リン酸または5'リン酸模倣体、例えば、5'末端リン酸またはリン酸模倣体が挙げられる。適切なリン酸模倣体は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許公開第2012/0157511号に開示されている。

【0214】

ある特定の具体的な実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、表2、3、7、8、10、11、または13のいずれか1つに列挙される作用剤の群から選択される、HSD17B13遺伝子の発現を阻害する作用剤である。これらの作用剤はいずれも、リガンドをさらに含み得る。

30

A. 本発明のモチーフを含む修飾iRNA

【0215】

本発明のある特定の態様では、本発明の二本鎖RNAi作用剤は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる2012年11月16日出願のWO2013/075035に開示されている化学修飾を伴う作用剤を含む。

【0216】

したがって、本発明は、in vivoにおいて標的遺伝子（すなわちHSD17B13遺伝子）の発現を阻害することができる二本鎖RNAi作用剤を提供する。RNAi作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含む。RNAi作用剤の各鎖は12~30ヌクレオチド長にわたり得る。例えば、各鎖は、14~30ヌクレオチド長、17~30ヌクレオチド長、25~30ヌクレオチド長、27~30ヌクレオチド長、17~23ヌクレオチド長、17~21ヌクレオチド長、17~19ヌクレオチド長、19~25ヌクレオチド長、19~23ヌクレオチド長、19~21ヌクレオチド長、21~25ヌクレオチド長、または21~23ヌクレオチド長であり得る。一実施形態では、センス鎖は、21ヌクレオチド長である。一実施形態では、アンチセンス鎖は、23ヌクレオチド長である。

40

【0217】

センス鎖およびアンチセンス鎖は、一般には、二重鎖である二本鎖RNA（「dsRNA」）を形成し、これは、本明細書では「RNAi作用剤」とも称される。RNAi作用剤の二重鎖領域は、12~30ヌクレオチド対の長さであり得る。例えば、二重鎖領域は、14~30ヌクレオチド対の長さ、17~30ヌクレオチド対の長さ、27~30ヌク

50

レオチド対の長さ、17～23ヌクレオチド対の長さ、17～21ヌクレオチド対の長さ、17～19ヌクレオチド対の長さ、19～25ヌクレオチド対の長さ、19～23ヌクレオチド対の長さ、19～21ヌクレオチド対の長さ、21～25ヌクレオチド対の長さ、または21～23ヌクレオチド対の長さであり得る。別の例では、二重鎖領域は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、および27ヌクレオチド長から選択される。

【0218】

一実施形態では、RNAi作用剤は、一方または両方の鎖の3'末端、5'末端、または両方の末端に1つまたは複数の突出領域および／またはキャップ形成基を含有し得る。突出は、1～6ヌクレオチド長、例えば、2～6ヌクレオチド長、1～5ヌクレオチド長、2～5ヌクレオチド長、1～4ヌクレオチド長、2～4ヌクレオチド長、1～3ヌクレオチド長、2～3ヌクレオチド長、または1～2ヌクレオチド長であり得る。突出は、一方の鎖が他方の鎖よりも長いことの結果であり得る、または、同じ長さの2つの鎖がずれていることの結果であり得る。突出は、標的mRNAとのミスマッチを形成し得る、または標的とされる遺伝子配列と相補的であり得るまたは別の配列であり得る。第1および第2の鎖は、例えば、ヘアピンを形成するための追加的な塩基によって、または他の非塩基リンカーによって接合していてもよい。

【0219】

一実施形態では、RNAi作用剤の突出領域内のヌクレオチドは、それぞれ独立に、2'一糖修飾されたもの、例えば、2'-F、2'-Oメチル、チミジン(T)、2'-O-メトキシエチル-5-メチルウリジン(Teo)、2'-O-メトキシエチルアデノシン(Aeo)、2'-O-メトキシエチル-5-メチルシチジン(m5Ceo)、およびこれらの任意の組合せを含むが、これだけに限定されない、修飾されたまたは修飾されていないヌクレオチドであり得る。例えば、TTは、いずれかの鎖のいずれかの末端の突出配列であり得る。突出は、標的mRNAとのミスマッチを形成し得る、または標的とされる遺伝子配列と相補的であり得るまたは別の配列であり得る。

【0220】

RNAi作用剤のセンス鎖、アンチセンス鎖または両方の鎖の5'-突出または3'-突出はリン酸化されていてよい。一部の実施形態では、突出領域は、2つのヌクレオチド間にホスホロチオエートを有する2つのヌクレオチドを含み、ここで、2つのヌクレオチドは同じであっても異なってもよい。一実施形態では、突出は、センス鎖、アンチセンス鎖、または両方の鎖の3'末端に存在する。一実施形態では、この3'-突出はアンチセンス鎖に存在する。一実施形態では、この3'-突出はセンス鎖に存在する。

【0221】

RNAi作用剤は、単一の突出のみを含有し得、それにより、RNAiの全体的な安定性に影響を及ぼすことなくRNAiの干渉活性を強化することができる。例えば、一本鎖突出は、センス鎖の3'末端またはその代わりに、アンチセンス鎖の3'末端に位置し得る。RNAiは、アンチセンス鎖の5'末端（またはセンス鎖の3'末端）に位置するまたはその逆に位置する平滑末端も有し得る。一般に、RNAiのアンチセンス鎖は、3'末端にヌクレオチド突出を有し、5'末端は平滑である。理論に制約されることを望むものではないが、アンチセンス鎖の5'末端における非対称の平滑末端とアンチセンス鎖の3'末端突出は、RISCプロセスへのガイド鎖ローディングに好都合である。

【0222】

一実施形態では、RNAi作用剤は、19ヌクレオチド長の両末端平滑鎖(double ended bluntmer)であり、センス鎖は、5'末端から7位、8位、9位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-F修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、5'末端から11位、12位、13位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。

【0223】

別の実施形態では、RNA i 作用剤は、20ヌクレオチド長の両末端平滑鎖であり、センス鎖は、5'末端から8位、9位、10位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-F修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、5'末端から11位、12位、13位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。

【0224】

さらに別の実施形態では、RNA i 作用剤は、21ヌクレオチド長の両末端平滑鎖であり、センス鎖は、5'末端から9位、10位、11位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-F修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。アンチセンス鎖は、5'末端から11位、12位、13位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。

【0225】

一実施形態では、RNA i 作用剤は、21ヌクレオチドのセンス鎖と23ヌクレオチドのアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、5'末端から9位、10位、11位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-F修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有し、アンチセンス鎖は、5'末端から11位、12位、13位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有し、RNA i 作用剤の一方の末端は平滑であり、他方の末端は、2ヌクレオチド突出を含む。2ヌクレオチド突出はアンチセンス鎖の3'末端にあることが好ましい。

【0226】

2ヌクレオチド突出がアンチセンス鎖の3'末端にある場合、末端の3ヌクレオチドの間に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結が存在し得、ここで、3つのヌクレオチドのうち2つは突出ヌクレオチドであり、第3のヌクレオチドは、突出ヌクレオチドの隣の対合ヌクレオチドである。一実施形態では、RNA i 作用剤は、センス鎖の5'末端とアンチセンス鎖の5'末端の両方において、末端の3ヌクレオチドの間に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに有する。一実施形態では、モチーフの一部であるヌクレオチドを含め、RNA i 作用剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖のあらゆるヌクレオチドが修飾ヌクレオチドである。一実施形態では、各残基が、独立に、例えば交互のモチーフとして、2'-O-メチルまたは3'-フルオロで修飾されている。必要に応じて、RNA i 作用剤は、リガンド (GalNAc₃が好ましい) をさらに含む。

【0227】

一実施形態では、RNA i 作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、25~30ヌクレオチド残基の長さであり、5'末端ヌクレオチド (1位) から始まり、第1の鎖の1位~23位は少なくとも8個のリボヌクレオチドを含み；アンチセンス鎖は、36~66ヌクレオチド残基の長さであり、3'末端ヌクレオチドから始まり、センス鎖の1位~23位と対合して二重鎖を形成する位置に少なくとも8個のリボヌクレオチドを含み；アンチセンス鎖の少なくとも3'末端のヌクレオチドがセンス鎖と対合せず、最大6つの連続した3'末端ヌクレオチドがセンス鎖と対合せず、それにより、1~6ヌクレオチドの3'-一本鎖突出が形成され；アンチセンス鎖の5'末端は、センス鎖と対合しない10~30個の連続したヌクレオチドを含み、それにより、10~30ヌクレオチドの一本鎖5'突出を形成し；センスおよびアンチセンス鎖を最大の相補性でアラインメントした場合、少なくともセンス鎖の5'末端および3'末端ヌクレオチドがアンチセンス鎖のヌクレオチドと塩基対合し、それにより、センスおよびアンチセンス鎖間で実質的に二重鎖の領域が形成され；かつ、アンチセンス鎖は、二本鎖核酸が哺乳動物細胞に導入された際に標的遺伝子発現が低減するように、アンチセンス鎖の少なくとも19個のリボヌクレオチド長に沿って標的RNAに対して十分に相補的であり；かつ、センス鎖は、3個の連続したヌクレオチドにおいて3つの2'-F修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有し、モチーフの少なくとも1つは切断部位またはその付近に存在する。アンチセンス鎖は、切断部位またはその付近の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有する。

【0228】

一実施形態では、RNAi作用剤は、センスおよびアンチセンス鎖を含み、RNAi作用剤は、長さが少なくとも25および最大29ヌクレオチドである第1の鎖および長さが最大30ヌクレオチドであり、5'末端から11位、12位、13位の3個の連続したヌクレオチドにおける3つの2'-O-メチル修飾を有する少なくとも1つのモチーフを有する第2の鎖を含み；第1の鎖の3'末端と第2の鎖の5'末端は平滑末端を形成し、第2の鎖はその3'末端が第1の鎖よりも1〜4ヌクレオチド長く、二重鎖領域は少なくとも25ヌクレオチド長であり、第2の鎖は、RNAi作用剤が哺乳動物細胞に導入された際に標的遺伝子発現が低減するように、少なくとも19ヌクレオチドの第2の鎖の長さに沿って標的mRNAと十分に相補的であり、かつ、RNAi作用剤のダイサーによる切断の結果、第2の鎖の3'末端を含むsiRNAが優先的にもたらされ、それにより、哺乳動物における標的遺伝子の発現が低減する。必要に応じて、RNAi作用剤は、リガンドをさらに含む。

10

【0229】

一実施形態では、RNAi作用剤のセンス鎖は、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有し、モチーフの1つはセンス鎖の切断部位に存在する。

【0230】

一実施形態では、RNAi作用剤のアンチセンス鎖は、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する少なくとも1つのモチーフも含み得、モチーフの1つは、アンチセンス鎖の切断部位またはその付近に存在する。

20

【0231】

17〜23ヌクレオチド長の二重鎖領域を有するRNAi作用剤に関しては、アンチセンス鎖の切断部位は、一般には5'末端から10位、11位および12位の近くである。したがって、3つの同一の修飾を有するモチーフは、アンチセンス鎖の9位、10位、11位；10位、11位、12位；11位、12位、13位；12位、13位、14位；または13位、14位、15位に存在し得、計数はアンチセンス鎖の5'末端から最初のヌクレオチドから開始される、または、計数はアンチセンス鎖の5'末端から二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドから開始される。アンチセンス鎖の切断部位は、5'末端から、RNAiの二重鎖領域の長さに応じても変化し得る。

30

【0232】

RNAi作用剤のセンス鎖は、鎖の切断部位に3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する少なくとも1つのモチーフを含有し得；アンチセンス鎖は、鎖の切断部位またはその付近に3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する少なくとも1つのモチーフを有し得る。センス鎖とアンチセンス鎖がdsRNA二重鎖を形成する場合、センス鎖とアンチセンス鎖を、センス鎖における3つのヌクレオチドという1つのモチーフおよびアンチセンス鎖における3つのヌクレオチドという1つのモチーフが少なくとも1つのヌクレオチドの重複を有するように、すなわち、センス鎖におけるモチーフの3つのヌクレオチドの少なくとも1つがアンチセンス鎖におけるモチーフの3つのヌクレオチドの少なくとも1つと塩基対を形成するようにアラインメントすることができる。あるいは、少なくとも2つのヌクレオチドが重複していてもよく、3つのヌクレオチド全てが重複していてもよい。

40

【0233】

一実施形態では、RNAi作用剤のセンス鎖は、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有するモチーフを1つよりも多く含有し得る。第1のモチーフは鎖の切断部位またはその付近に存在し得、他のモチーフはウイング修飾(wing modification)であり得る。「ウイング修飾」という用語は、本明細書では、同じ鎖の切断部位またはその付近のモチーフとは分離された、鎖の別の部分に存在するモチーフを指す。ウイング修飾は、第1のモチーフに近接しているか、または少なくとも1つもしくは複数のヌクレオチドにより分離されている。モチーフが互いのすぐ隣にある場合には

50

、モチーフの化学的性質は互いに異なり、モチーフが1つまたは複数のヌクレオチドにより分離されている場合には、化学的性質は同じであっても異なってもよい。2つまたはそれよりも多くのウイング修飾が存在してよい。例えば、2つのウイング修飾が存在する場合、各ウイング修飾は、切断部位またはその付近にある第1のモチーフに対して一端に存在してもよく、リードモチーフの両側に存在してもよい。

【0234】

センス鎖と同様に、RNAi作用剤のアンチセンス鎖は、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有するモチーフを1つよりも多く含有し得、モチーフの少なくとも1つは鎖の切断部位またはその付近に存在する。このアンチセンス鎖は、1つまたは複数のウイング修飾も、センス鎖に存在し得るウイング修飾と同様のアラインメントで

10

【0235】

一実施形態では、RNAi作用剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖におけるウイング修飾は、一般には、鎖の3'末端、5'末端または両方の末端の最初の1つまたは2つの末端ヌクレオチドを含まない。

【0236】

別の実施形態では、RNAi作用剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖におけるウイング修飾は、一般には、鎖の3'末端、5'末端または両方の末端の二重鎖領域内に最初の1つまたは2つの対合ヌクレオチドを含まない。

【0237】

RNAi作用剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖のそれぞれが少なくとも1つのウイング修飾を含む場合、これらのウイング修飾は、二重鎖領域の同じ末端に位置し、1つ、2つ、または3つのヌクレオチドの重複を有し得る。

20

【0238】

RNAi作用剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖のそれぞれが少なくとも2つのウイング修飾を含む場合、センス鎖とアンチセンス鎖を、それぞれ一方の鎖に由来する2つの修飾が二重鎖領域の一方の末端に位置し、1つ、2つまたは3つのヌクレオチドの重複を有するように；それぞれ一方の鎖に由来する2つの修飾が二重鎖領域の他方の末端に位置し、1つ、2つまたは3つのヌクレオチドの重複を有するように；一方の鎖の2つの修飾がリードモチーフのそれぞれの側に位置し、二重鎖領域内に1つ、2つまたは3つのヌクレオチドの重複を有するようにアラインメントすることができる。

30

【0239】

一実施形態では、モチーフの一部であるヌクレオチドを含め、RNAi作用剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖のあらゆるヌクレオチドが修飾されていてよい。各ヌクレオチドは、同じ修飾で修飾されていてもよく、異なる修飾で修飾されていてもよく、それらの修飾として、連結していないリン酸酸素の一方もしくは両方および／または連結しているリン酸酸素の1つもしくは複数の1つもしくは複数の変更；リボース糖の構成物、例えば、リボース糖の2'ヒドロキシルの変更；リン酸部分の「デホスホ」リンカーでの大規模な置換え；天然に存在する塩基の修飾または置換え；ならびにリボース-リン酸骨格の置換えまたは修飾を挙げることができる。

40

【0240】

核酸はサブユニットのポリマーであるので、修飾の多くは、核酸内で繰り返される位置、例えば、塩基の修飾、またはリン酸部分、またはリン酸部分の連結していないOに存在する。一部の場合では、修飾は核酸内の対象の位置の全てに存在するが、多くの場合、そうはならない。例として、修飾は、3'または5'末端位のみ存在し得る、末端領域内、例えば、鎖の末端ヌクレオチドの位置、または最後の2、3、4、5、もしくは10ヌクレオチドにおいてのみ存在し得る。修飾は、二本鎖領域内、一本鎖領域内、またはその両方において存在し得る。修飾は、RNAの二本鎖領域内においてのみ存在し得る、またはRNAの一本鎖領域内においてのみ存在し得る。例えば、連結していないO位におけるホスホロチオエート修飾は、一方の末端または両方の末端においてのみ存在し得る、末端領域内、例

50

例えば、鎖の末端ヌクレオチドの位置または最後の2、3、4、5、もしくは10ヌクレオチドにおいてのみ存在し得る、あるいは二本鎖および一本鎖領域内、特に末端において存在し得る。1つまたは複数の5'末端がリン酸化されていてよい。

【0241】

例えば、安定性を増強すること、特定の塩基を突出に含めること、または修飾ヌクレオチドもしくはヌクレオチド代理を一本鎖突出、例えば5'もしくは3'突出、もしくはその両方に含めることが可能であり得る。例えば、プリンヌクレオチドを突出に含めることが望ましい場合がある。一部の実施形態では、3'または5'突出の塩基の全部または一部が、例えば、本明細書に記載の修飾で修飾されていてよい。修飾としては、例えば、当技術分野で公知である修飾を用いた、リボース糖の2'位における修飾の使用、例えば、核酸塩基のリボ糖の代わりにデオキシリボヌクレオチド、2'-デオキシ-2'-フルオロ(2'-F)または2'-O-メチル修飾の使用、およびリン酸基における修飾、例えば、ホスホロチオエート修飾を挙げることができる。突出は標的配列と相同である必要はない。

【0242】

一実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、独立に、LNA、CRN、cET、UNA、HNA、CeNA、2'-メトキシエチル、2'-O-メチル、2'-O-アシル、2'-C-アシル、2'-デオキシ、2'-ヒドロキシル、または2'-フルオロで修飾されている。鎖は、1つよりも多くの修飾を含有し得る。一実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の各残基は、独立に、2'-O-メチルまたは2'-フルオロで修飾されている。

【0243】

一般には少なくとも2つの異なる修飾がセンス鎖およびアンチセンス鎖に存在する。これらの2つの修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾、または他のものであり得る。

【0244】

一実施形態では、N_aおよび/またはN_bは、交互パターンの修飾を含む。「交互モチーフ」という用語は、本明細書で使用される場合、1つまたは複数の修飾を有し、各修飾が一方の鎖の交互のヌクレオチドに存在するモチーフを指す。交互のヌクレオチドとは、1つおきのヌクレオチド毎に1つまたは3ヌクレオチド毎に1つ、または同様のパターンを指し得る。例えば、A、BおよびCがそれぞれヌクレオチドに対する修飾の1つの型を表す場合、交互モチーフは、「A B A B A B A B A B A B...」、「A A B B A A B B A A B B...」、「A A B A A B A A B A A B...」、「A A A B A A A B A A A B...」、「A A A B B B A A A B B B...」または「A B C A B C A B C A B C...」などであり得る。

【0245】

交互モチーフに含有される修飾の型は同じであっても異なってもよい。例えば、A、B、C、Dがそれぞれヌクレオチドに対する修飾の1つの型を表す場合、交互パターン、すなわち、1つおきのヌクレオチドに対する修飾は同じのものであってよいが、センス鎖またはアンチセンス鎖のそれぞれは、交互モチーフ内のいくつかの修飾の可能性、例えば、「A B A B A B...」、「A C A C A C...」、「B D B D B D...」または「C D C D C D...」などから選択することができる。

【0246】

一実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、アンチセンス鎖における交互モチーフの修飾パターンに対してシフトしたセンス鎖における交互モチーフの修飾パターンを含む。シフトは、センス鎖のヌクレオチドの修飾された基が、アンチセンス鎖のヌクレオチドの異なって修飾された基に対応するようなものであってよく、逆もまた同じである。例えば、dsRNA二重鎖においてセンス鎖とアンチセンス鎖が対合している場合、二重鎖領域内で、センス鎖における交互モチーフは鎖の5'から3'へ「A B A B A B」で始まってよく、アンチセンス鎖における交互モチーフは鎖の5'から3'へ「B A B A B A」で始まってよい。別の例として、二重鎖領域内で、センス鎖における交互モチーフは鎖の5'から3'

’へ「A A B B A A B B」で始まってよく、アンチセンス鎖における交互モチーフは鎖の5’から3’へ「B B A A B B A A」で始まってよく、したがって、センス鎖とアンチセンス鎖の間に修飾パターンの完全なまたは部分的なシフトが存在する。

【0247】

一実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖における最初に2’-O-メチル修飾と2’-F修飾の交互モチーフのパターンに対するシフトを有する、センス鎖における最初に2’-O-メチル修飾と2’-F修飾の交互モチーフのパターンを含む、すなわち、センス鎖塩基における2’-O-メチル修飾ヌクレオチドがアンチセンス鎖における2’-F修飾ヌクレオチドと対合する。および逆もまた同じである。センス鎖の1位は2’-F修飾で始まってよく、アンチセンス鎖の1位は2’-O-メチル修飾で始まってよい。

10

【0248】

3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つまたは複数のモチーフをセンス鎖および／またはアンチセンス鎖に導入することにより、センス鎖および／またはアンチセンス鎖に存在する最初の修飾パターンが中断される。3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つまたは複数のモチーフをセンス鎖および／またはアンチセンス鎖に導入することによるこのセンス鎖および／またはアンチセンス鎖の修飾パターンの中断により、驚いたことに、標的遺伝子に対する遺伝子サイレンシング活性が増強される。

【0249】

一実施形態では、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有するモチーフを鎖のいずれかに導入する場合、当該モチーフの隣のヌクレオチドの修飾は、当該モチーフの修飾とは異なる修飾である。例えば、モチーフを含有する配列の部分は、「・・・N_aY Y Y N_b・・・」であり、ここで、「Y」は、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有するモチーフの修飾を表し、「N_a」および「N_b」は、Yという修飾とは異なる、モチーフ「Y Y Y」の隣のヌクレオチドに対する修飾を表し、N_aとN_bは同じで修飾であっても異なる修飾であってもよい。あるいは、ウイング修飾が存在する場合にはN_aおよび／またはN_bは存在してもしなくてもよい。

20

【0250】

RNAi作用剤は、少なくとも1つのホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結をさらに含み得る。ホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾がセンス鎖またはアンチセンス鎖または両方の鎖の任意のヌクレオチドに対して鎖の任意の位置において存在してよい。例えば、ヌクレオチド間連結修飾は、センス鎖および／もしくはアンチセンス鎖のあらゆるヌクレオチドに存在してよい；各ヌクレオチド間連結修飾はセンス鎖および／もしくはアンチセンス鎖において交互パターンで存在してよい；またはセンス鎖もしくはアンチセンス鎖は両方のヌクレオチド間連結修飾を交互パターンで含有してよい。センス鎖におけるヌクレオチド間連結修飾の交互パターンはアンチセンス鎖と同じであっても異なってもよく、センス鎖におけるヌクレオチド間連結修飾の交互パターンは、アンチセンス鎖におけるヌクレオチド間連結修飾の交互パターンに対するシフトを有してよい。一実施形態では、二本鎖RNAi作用剤は、6-8ホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む。一実施形態では、アンチセンス鎖は、5’末端に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結および3’末端に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含み、センス鎖は、5’末端または3’末端のいずれかに少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結を含む。

30

40

【0251】

一実施形態では、RNAiは、突出領域内にホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結修飾を含む。例えば、突出領域は、2つのヌクレオチドの間にホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結を有する2つのヌクレオチドを含有し得る。ヌクレオチド間連結修飾はまた、突出ヌクレオチドが二重鎖領域内の末端の対合ヌクレオチドと連結するように作製することもできる。例えば、少なくとも2つ、3つ、4つ、または全ての突出ヌクレオチドがホスホロチオエートまたはメチルホス

50

ホネートヌクレオチド間連結を通じて連結していてよく、必要に応じて、突出ヌクレオチドを突出ヌクレオチドの隣の対合ヌクレオチドと連結する追加的なホスホロチオエートまたはメチルホスホネートヌクレオチド間連結が存在してよい。例えば、末端の3ヌクレオチドの間に少なくとも2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結が存在してよく、ここで、3つのヌクレオチドのうち2つは突出ヌクレオチドであり、第3のヌクレオチドは突出ヌクレオチドの隣の対合ヌクレオチドである。これらの末端3ヌクレオチドは、アンチセンス鎖の3'末端、センス鎖の3'末端、アンチセンス鎖の5'末端、および／またはアンチセンス鎖の5'末端にあってよい。

【 0 2 5 2 】

一実施形態では、2ヌクレオチド突出はアンチセンス鎖の3'末端にあり、末端の3ヌクレオチドの間に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結が存在し、ここで、3つのヌクレオチドのうち2つは突出ヌクレオチドであり、第3のヌクレオチドは、突出ヌクレオチドの隣の対合ヌクレオチドである。必要に応じて、RNAi作用剤は、センス鎖の5'末端およびアンチセンス鎖の5'末端の両方において末端の3ヌクレオチドの間に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結をさらに有し得る。

【 0 2 5 3 】

一実施形態では、RNAi作用剤は、標的とのミスマッチ、二重鎖内のミスマッチ、またはこれらの組合せを含む。ミスマッチは、突出領域内または二重鎖領域内に存在し得る。塩基対は、解離または融解を促進するそれらの傾向に基づいて（例えば、特定の対形成の会合または解離の自由エネルギーに基づいて、最も単純な手法は、個々の対ごとに対を調査することであるが、近接または同様の解析も使用することができる）順位づけることができる。解離の促進に関しては、A：UがG：Cよりも好ましく、G：UがG：Cよりも好ましく、I：CがG：Cよりも好ましい（I＝イノシン）。ミスマッチ、例えば、非標準または標準以外の対形成（本明細書の他の箇所に記載の通り）が標準（A：T、A：U、G：C）対形成よりも好ましく、ユニバーサル塩基を含む対形成が標準対形成よりも好ましい。

【 0 2 5 4 】

一実施形態では、RNAi作用剤は、二重鎖の5'末端におけるアンチセンス鎖の解離を促進するために、A:U、G:U、I:C、およびミスマッチ対、例えば、非標準または標準以外の対形成またはユニバーサル塩基を含む対形成の群から独立に選択される、アンチセンス鎖の5'末端から、二重鎖領域内の最初の1、2、3、4、または5塩基対のうちの少なくとも1つを含む。

【 0 2 5 5 】

一実施形態では、アンチセンス鎖における5'末端から、二重鎖領域内の1位のヌクレオチドは、A、dA、dU、U、およびdTからなる群から選択される。あるいは、アンチセンス鎖の5'末端から、二重鎖領域内の最初の1、2または3塩基対のうちの少なくとも1つは、AU塩基対である。例えば、アンチセンス鎖の5'末端から、二重鎖領域内の第1の塩基対は、AU塩基対である。

【 0 2 5 6 】

別の実施形態では、センス鎖の3'末端のヌクレオチドは、デオキシチミン(dT)である。別の実施形態では、アンチセンス鎖の3'末端のヌクレオチドは、デオキシチミン(dT)である。一実施形態では、センスおよび／またはアンチセンス鎖の3'末端に、デオキシチミンヌクレオチドの短い配列、例えば2つのdTヌクレオチドが存在する。

一実施形態では、センス鎖配列は、式（Ⅰ）：

$$5' \text{ } n_p - N_a - (X X X) \text{ } i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z) \text{ } j - N_a - n_q 3' \text{ (I)}$$

(式中、

i および j は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

p および q は、それぞれ独立に、0～6であり；

各 N_a は、独立に、0～25 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b は、独立に、0～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 n_p および n_q は、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

N_b と Y は同じ修飾を有さず；

XXX 、 YYY および ZZZ は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表す）

によって表すことができる。 YYY は全てが2'-F修飾ヌクレオチドであることが好ましい。

【0257】

一実施形態では、 N_a および／または N_b は、交互パターンの修飾を含む。

10

【0258】

一実施形態では、 YYY モチーフは、センス鎖の切断部位またはその付近に存在する。

例えば、RNAi作用剤が17～23ヌクレオチド長の二重鎖領域を有する場合、 YYY モチーフは、センス鎖の切断部位またはその付近に存在し得（例えば、6位、7位、8位、7位、8位、9位、8位、9位、10位、9位、10位、11位、10位、11位、12位または11位、12位、13位に存在し得）、計数は、5'末端から最初のヌクレオチドから開始される；または必要に応じて、計数は、5'末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドから開始される。

【0259】

一実施形態では、 i は1であり、 j は0である、または i は0であり j は1である、または i および j はどちらも1である。したがって、センス鎖は、以下の式によって表すことができる：

20

5' $n_p - N_a - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q$ 3' (Ib)；

5' $n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_a - n_q$ 3' (Ic)；または

5' $n_p - N_a - XXX - N_b - YYY - N_b - ZZZ - N_a - n_q$ 3' (Id)。

【0260】

センス鎖が、式 (Ib) によって表される場合、 N_b は、0～10個、0～7個、0～5個、0～4個、0～2個または0個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各 N_a は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

30

【0261】

センス鎖が式 (Ic) として表される場合、 N_b は、0～10個、0～7個、0～10個、0～7個、0～5個、0～4個、0～2個または0個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各 N_a は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

【0262】

センス鎖が式 (Id) として表される場合、各 N_b は、独立に、0～10個、0～7個、0～5個、0～4個、0～2個または0個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。 N_b は、0、1、2、3、4、5または6であることが好ましい。各 N_a は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

40

【0263】

X 、 Y および Z はそれぞれ互いと同じであっても異なってもよい。

【0264】

他の実施形態では、 i は0であり、 j は0であり、センス鎖は、式：

5' $n_p - N_a - YYY - N_a - n_q$ 3' (Ia)

によって表すことができる。

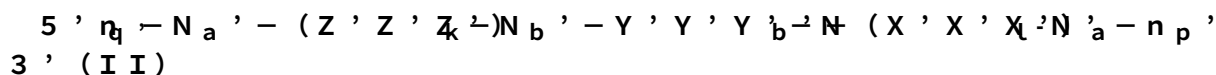
【0265】

センス鎖が、式 (Ia) によって表される場合、各 N_a は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し得る。

50

【0266】

一実施形態では、RNA i のアンチセンス鎖配列は、式 (II) :



(式中、

k および l は、それぞれ独立に、0 または 1 であり；

p' および q' は、それぞれ独立に、0 ~ 6 であり；

各 N_a' は、独立に、0 ~ 25 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し、各配列は、少なくとも 2 つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各 N_b' は、独立に、0 ~ 10 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各 n_p' および n_q' は、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

N_b' および Y' は同じ修飾を有さず；

$X' X' X'$ 、 $Y' Y' Y'$ および $Z' Z' Z'$ は、それぞれ独立に、3 個の連続したヌクレオチドに対する 3 つの同一の修飾を有する 1 つのモチーフを表す）
によって表すことができる。

【0267】

一実施形態では、 N_a' および / または N_b' は、交互パターンの修飾を含む。

【0268】

$Y' Y' Y'$ モチーフは、アンチセンス鎖の切断部位またはその付近に存在する。例えば、RNA i 作用剤が 17 ~ 23 ヌクレオチド長の二重鎖領域を有する場合、 $Y' Y' Y'$ モチーフは、アンチセンス鎖の 9 位、10 位、11 位；10 位、11 位、12 位；11 位、12 位、13 位；12 位、13 位、14 位；または 13 位、14 位、15 位に存在し得、計数は、5' 末端から最初のヌクレオチドから開始される；または必要に応じて、計数は、5' 末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドから開始される。 $Y' Y' Y'$ モチーフは 11 位、12 位、13 位に存在することが好ましい。

【0269】

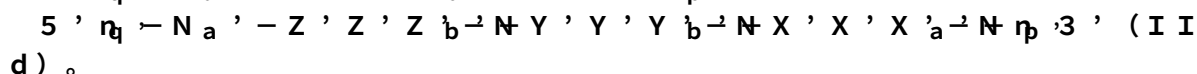
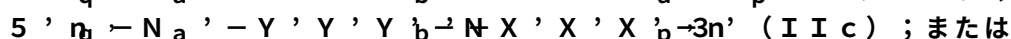
一実施形態では、 $Y' Y' Y'$ モチーフは、全て 2' - OMe 修飾ヌクレオチドである。

【0270】

一実施形態では、k は 1 であり、l は 0 であり、または k は 0 であり、l は 1 であり、または k および l はどちらも 1 である。

【0271】

したがって、アンチセンス鎖は、以下の式によって表すことができる：



【0272】

アンチセンス鎖が、式 (II b) によって表される場合、 N_b' は、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 5 個、0 ~ 4 個、0 ~ 2 個または 0 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各 N_a' は、独立に、2 ~ 20 個、2 ~ 15 個、または 2 ~ 10 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【0273】

アンチセンス鎖が式 (II c) として表される場合、 N_b' は、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 5 個、0 ~ 4 個、0 ~ 2 個または 0 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各 N_a' は、独立に、2 ~ 20 個、2 ~ 15 個、または 2 ~ 10 個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【0274】

アンチセンス鎖が式 (II d) として表される場合、各 N_b' は、独立に、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 10 個、0 ~ 7 個、0 ~ 5 個、0 ~ 4 個、0 ~ 2 個または 0 個の修飾ヌク

10

20

30

40

50

レオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各 N_a' は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。 N_b は、0、1、2、3、4、5または6であることが好ましい。

【0275】

他の実施形態では、 k は0であり、 l は0であり、アンチセンス鎖は、式：

$5' \text{ } \eta \text{ } - N_a - Y' Y' Y' \text{ } \bar{a} N n q \text{ } 3' \text{ (I a)}$

によって表すことができる。

【0276】

アンチセンス鎖が式 (I I a) として表される場合、各 N_a' は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

10

【0277】

X' 、 Y' および Z' はそれぞれ互いと同じであっても異なってもよい。

【0278】

センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、独立に、LNA、CRN、UNA、cEt、HNA、CeNA、2'-メトキシエチル、2'-O-メチル、2'-O-アリル、2'-C-アリル、2'-ヒドロキシル、または2'-フルオロで修飾されていてよい。例えば、センス鎖およびアンチセンス鎖の各ヌクレオチドは、独立に、2'-O-メチルまたは2'-フルオロで修飾されている。各 X 、 Y 、 Z 、 X' 、 Y' および Z' は、具体的には、2'-O-メチル修飾または2'-フルオロ修飾を表し得る。

【0279】

20

一実施形態では、RNAi作用剤のセンス鎖は、二重鎖領域が21ntである場合、鎖の9位、10位および11位に存在するYYYモチーフを含有し得、計数は、5'末端から、最初のヌクレオチドから開始される、または必要に応じて、計数は、5'末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドから開始され； Y は、2'-F修飾を表す。センス鎖は、二重鎖領域の逆の末端にウイング修飾としてXXXモチーフまたはZZZモチーフをさらに含有し得；XXXおよびZZZは、それぞれ独立に、2'-OMe修飾または2'-F修飾を表す。

【0280】

一実施形態では、アンチセンス鎖は、鎖の11位、12位、13位に存在する $Y' Y' Y'$ モチーフを含有し得、計数は、5'末端から、最初のヌクレオチドから開始される、または必要に応じて、計数は、5'末端から、二重鎖領域内の最初の対合ヌクレオチドから開始され； Y' は、2'-O-メチル修飾を表す。アンチセンス鎖は、二重鎖領域の逆の末端にウイング修飾として $X' X' X'$ モチーフまたは $Z' Z' Z'$ モチーフをさらに含有し得； $X' X' X'$ および $Z' Z' Z'$ は、それぞれ独立に、2'-OMe修飾または2'-F修飾を表す。

30

【0281】

上記の式 (I a)、(I b)、(I c)、および (I d) のいずれか1つによって表されるセンス鎖は、それぞれ式 (I I a)、(I I b)、(I I c)、および (I I d) のいずれか1つによって表されるアンチセンス鎖と二重鎖を形成する。

【0282】

したがって、本発明の方法において使用するためのRNAi作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み得、各鎖が14～30ヌクレオチドを有し、RNAi二重鎖は、式 (I I I)：

40

センス： $5' \text{ } n p - N_a - (X X X) \text{ } i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z) \text{ } j - N_a - n q \text{ } 3'$

アンチセンス： $3' \text{ } n p' - N_a' - (X' X' X') \text{ } k - N_b' - Y' Y' Y' - N_b' - (Z' Z' Z') \text{ } l - N_a' - n q' \text{ } 5' \text{ (I I I)}$

(式中、

i 、 j 、 k 、および l は、それぞれ独立に、0または1であり；

p 、 p' 、 q 、および q' は、それぞれ独立に、0～6であり；

各 N_a および N_a' は、独立に、0～25個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチ

50

ド配列を表し、各配列は、少なくとも2つの異なって修飾されたヌクレオチドを含み；

各NbおよびNb'は、独立に、0～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表し；

各np'、np、nq'、およびnqは、それぞれが存在してもしなくてもよく、独立に、突出ヌクレオチドを表し；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、およびZ'Z'Z'は、それぞれ独立に、3個の連続したヌクレオチドに対する3つの同一の修飾を有する1つのモチーフを表す）によって表される。

【0283】

一実施形態では、iは0であり、jは0である；またはiは1であり、jは0である；またはiは0であり、jは1である；またはiおよびjはどちらも0である；またはiおよびjはどちらも1である。別の実施形態では、kは0であり、lは0である；またはkは1であり、lは0である；kは0であり、lは1である；またはkおよびlはどちらも0である；またはkおよびlはどちらも1である。

10

【0284】

RNA i 二重鎖を形成するセンス鎖とアンチセンス鎖の例示的な組合せとして、以下の式が挙げられる：

5' np - Na - YYY - Na - nq 3'

3' np' - Na' - Y'Y'Y' - Na' nq' 5' (IIIa)

5' np - Na - YYY - Nb - ZZZ - Na - nq 3'

3' np' - Na' - Y'Y'Y' - Nb' - Z'Z'Z' - Na' nq' 5' (IIIb)

20

5' np - Na - XXX - Nb - YYY - Na - nq 3'

3' np' - Na' - X'X'X' - Nb' - Y'Y'Y' - Na' - nq' 5' (IIIc)

5' np - Na - XXX - Nb - YYY - Nb - ZZZ - Na - nq 3'

3' np' - Na' - X'X'X' - Nb' - Y'Y'Y' - Nb' - Z'Z'Z' - Na - nq' 5'

Id)

【0285】

RNA i 作用剤が式(IIIa)によって表される場合、各Naは、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

30

【0286】

RNA i 作用剤が式(IIIb)によって表される場合、各Nbは、独立に、1～10個、1～7個、1～5個または1～4個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Naは、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

【0287】

RNA i 作用剤が式(IIIc)として表される場合、各Nb、Nb'は、独立に、0～10個、0～7個、0～10個、0～7個、0～5個、0～4個、0～2個または0個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Naは、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。

40

【0288】

RNA i 作用剤が式(IId)として表される場合、各Nb、Nb'は、独立に、0～10個、0～7個、0～10個、0～7個、0～5個、0～4個、0～2個または0個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。各Na、Na'は、独立に、2～20個、2～15個、または2～10個の修飾ヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチド配列を表す。Na、Na'、NbおよびNb'はそれぞれ独立に、交互パターンの修飾を含む。

【0289】

式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)、および(IId)のX、YおよびZはそれぞれ互いと同じであっても異なってもよい。

50

【0290】

RNA i 作用剤が式 (I I I)、(I I I a)、(I I I b)、(I I I c)、および (I I I d) によって表される場合、Yヌクレオチドの少なくとも1つがY'ヌクレオチドの1つと塩基対を形成していてもよい。あるいは、Yヌクレオチドの少なくとも2つが対応するY'ヌクレオチドと塩基対を形成している；または、3つ全てのYヌクレオチドが全て対応するY'ヌクレオチドと塩基対を形成している。

【0291】

RNA i 作用剤が式 (I I I b) または (I I I d) によって表される場合、Zヌクレオチドの少なくとも1つがZ'ヌクレオチドの1つと塩基対を形成してよい。あるいは、Zヌクレオチドの少なくとも2つが対応するZ'ヌクレオチドと塩基対を形成している；または3つ全てのZヌクレオチドの全てが対応するZ'ヌクレオチドと塩基対を形成している。

10

【0292】

RNA i 作用剤が式 (I I I c) または (I I I d) として表される場合、Xヌクレオチドの少なくとも1つがX'ヌクレオチドの1つと塩基対を形成してよい。あるいは、Xヌクレオチドの少なくとも2つが対応するX'ヌクレオチドと塩基対を形成している；または3つ全てのXヌクレオチドが全て対応するX'ヌクレオチドと塩基対を形成している。

【0293】

一実施形態では、Yヌクレオチドに対する修飾はY'ヌクレオチドに対する修飾とは異なり、Zヌクレオチドに対する修飾はZ'ヌクレオチドに対する修飾とは異なり、かつ／またはXヌクレオチドに対する修飾はX'ヌクレオチドに対する修飾とは異なる。

20

【0294】

一実施形態では、RNA i 作用剤が式 (I I I d) によって表される場合、Na修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾である。別の実施形態では、RNA i 作用剤が式 (I I I d) によって表される場合、Na修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり、 $np' > 0$ であり、少なくとも1つの np' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結している。さらに別の実施形態では、RNA i 作用剤が式 (I I I d) によって表される場合、Na修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり、 $np' > 0$ であり、少なくとも1つの np' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており、センス鎖は、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体とコンジュゲートしている（下記）。別の実施形態では、RNA i 作用剤が式 (I I I d) によって表される場合、Na修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり、 $np' > 0$ であり、少なくとも1つの np' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており、センス鎖は、少なくとも1つのホスホロチオエート連結を含み、センス鎖は、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体とコンジュゲートしている。

30

【0295】

一実施形態では、RNA i 作用剤が式 (I I I a) によって表される場合、Na修飾は、2'-O-メチルまたは2'-フルオロ修飾であり、 $np' > 0$ であり、少なくとも1つの np' が隣接ヌクレオチドとホスホロチオエート連結によって連結しており、センス鎖は、少なくとも1つのホスホロチオエート連結を含み、センス鎖は、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc誘導体とコンジュゲートしている。

40

【0296】

一実施形態では、RNA i 作用剤は、式 (I I I)、(I I I a)、(I I I b)、(I I I c)、および (I I I d) によって表される二重鎖を少なくとも2つ含有する多量体であり、二重鎖はリンカーによって接続されている。リンカーは切断可能なものまたは切断不可能なものであり得る。必要に応じて、多量体は、リガンドをさらに含む。二重鎖のそれぞれは同じ遺伝子もしくは2つの異なる遺伝子を標的とし得る；または二重鎖のそれぞれは2つの異なる標的部位の同じ遺伝子を標的とし得る。

【0297】

50

一実施形態では、RNA i 作用剤は、式 (I I I)、(I I I a)、(I I I b)、(I I I c)、および (I I I d) によって表される二重鎖を3つ、4つ、5つ、6つまたはそれよりも多く含有する多量体であり、二重鎖はリンカーによって接続されている。リンカーは切断可能なものまたは切断不可能なものであり得る。必要に応じて、多量体は、リガンドをさらに含む。二重鎖のそれぞれは同じ遺伝子もしくは2つの異なる遺伝子を標的とし得る；または二重鎖のそれぞれは2つの異なる標的部位の同じ遺伝子を標的とし得る。

【0298】

一実施形態では、式 (I I I)、(I I I a)、(I I I b)、(I I I c)、および (I I I d) によって表される2つのRNA i 作用剤が5'末端において互いと連結しており、3'末端の一方または両方が必要に応じてリガンドとコンジュゲートしている。作用剤のそれぞれは同じ遺伝子もしくは2つの異なる遺伝子を標的とし得る；または作用剤のそれぞれは2つの異なる標的部位の同じ遺伝子を標的とし得る。

10

【0299】

ある特定の実施形態では、本発明のRNA i 作用剤は、2'-フルオロ修飾を含有するヌクレオチドを少数、例えば、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを10個またはそれ未満含有し得る。例えば、RNA i 作用剤は、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを10個、9個、8個、7個、6個、5個、4個、3個、2個、1個または0個含有し得る。特定の実施形態では、本発明のRNA i 作用剤は、センス鎖に、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを10個、例えば、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを4個含有し、アンチセンス鎖に、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを6個含有する。別の特定の実施形態では、本発明のRNA i 作用剤は、センス鎖に、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを6個、例えば、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを4個含有し、アンチセンス鎖に、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを2個含有する。

20

【0300】

他の実施形態では、本発明のRNA i 作用剤は、2'-フルオロ修飾を含有するヌクレオチドを非常に少数含有し得る、例えば、2'-フルオロ修飾を含有するヌクレオチドを2個またはそれ未満含有し得る。例えば、RNA i 作用剤は、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを2個、1個または0個含有し得る。特定の実施形態では、RNA i 作用剤は、2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを2個、例えば、センス鎖に2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを0個、およびアンチセンス鎖に2'-フルオロ修飾を有するヌクレオチドを2個含有し得る。

30

【0301】

種々の刊行物に本発明の方法において使用することができる多量体RNA i 作用剤が記載されている。そのような刊行物としては、WO 2007/091269、米国特許第7858769号、WO 2010/141511、WO 2007/117686、WO 2009/014887およびWO 2011/031520が挙げられ、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

【0302】

下により詳細に記載されている通り、1つまたは複数の炭水化物部分とRNA i 作用剤のコンジュゲーションを含有するRNA i 作用剤により、RNA i 作用剤の1つまたは複数の性質を最適化することができる。多くの場合、炭水化物部分をRNA i 作用剤の修飾されたサブユニットに付着させる。例えば、dsRNA作用剤の1つまたは複数のリボヌクレオチドサブユニットのリボース糖を、炭水化物リガンドが付着した別の部分、例えば、非炭水化物（環式が好ましい）担体で置き換えることができる。サブユニットのリボース糖がそのように置き換えられたリボヌクレオチドサブユニットは、本明細書では、リボース置換え修飾サブユニット (RRMS) と称される。環式担体は、炭素環式環系、すなわち、環原子の全てが炭素原子であるものであってもよく、複素環式環系、すなわち、1つまたは複数の環原子がヘテロ原子、例えば、窒素、酸素、硫黄であるものであってもよい。環式担体は、単環式環系であってもよく、2つまたはそれよりも多くの環、例えば、

40

50

融合した環を含有してもよい。環式担体は、完全飽和型環系であってもよく、1つまたは複数の二重結合を含有してもよい。

【0303】

リガンドをポリヌクレオチドに担体を介して付着させることができる。担体は、(i) 少なくとも1つの「骨格付着点」、好ましくは2つの「骨格付着点」および(ii) 少なくとも1つの「係留付着点」を含む。「骨格付着点」とは、本明細書で使用される場合、官能基、例えば、ヒドロキシル基、または一般に、骨格、例えば、リボ核酸のリン酸骨格、または修飾リン酸骨格、例えば、硫黄含有骨格に担体を組み入れるために利用可能であり、かつそれに適した結合を指す。「係留付着点」(TAP)とは、一部の実施形態では、選択された部分を接続する、環式担体の構成物である環原子、例えば、炭素原子またはヘテロ原子(骨格付着点をもたらす原子とは異なる)を指す。この部分は、例えば、炭水化物、例えば、単糖、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖および多糖であってよい。必要に応じて、選択された部分を、介在する係留によって環式担体と接続する。したがって、環式担体は、多くの場合、官能基、例えばアミノ基を含む、または一般に、別の化学的実体、例えば、リガンドを構成物である環に組み入れるまたは係留するために適した結合をもたらす。

10

【0304】

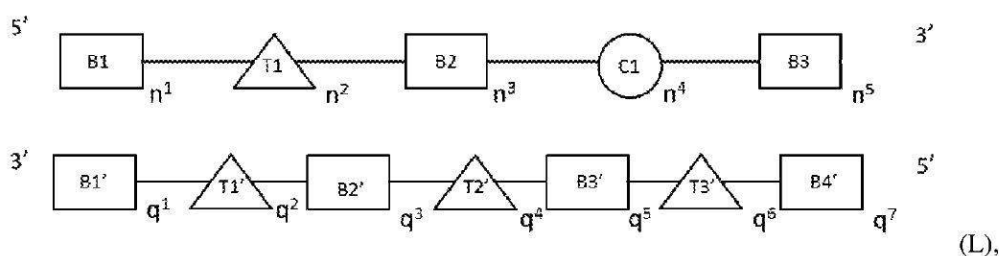
RNAi作用剤をリガンドと担体を介してコンジュゲートすることができ、ここで、担体は、環式基であっても非環式基であってもよく、環式基は、ピロリジニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、[1,3]ジオキサラン、オキサゾリジニル、イソオキサゾリジニル、モルホリニル、チアゾリジニル、イソチアゾリジニル、キノキサリニル、ピリダジノニル、テトラヒドロフリルおよびデカリンから選択されることが好ましく、非環式基は、セリノール骨格またはジエタノールアミン骨格から選択されることが好ましい。

20

【0305】

本発明の別の実施形態では、iRNA作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、各鎖が14~40ヌクレオチドを有する。RNAi作用剤は、式(L)：

【化5】



30

によって表すことができる。

【0306】

式(L)において、B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、およびB4'はそれぞれ独立に、2'-O-アルキル、2'置換アルコキシ、2'置換アルキル、2'-ハロ、ENA、およびBNA/LNAからなる群から選択される修飾を含有するヌクレオチドである。ある特定の実施形態では、B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、およびB4'はそれぞれ2'-OMe修飾を含有する。ある特定の実施形態では、B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、およびB4'はそれぞれ2'-OMeまたは2'-F修飾を含有する。ある特定の実施形態では、B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、およびB4'の少なくとも1つが2'-O-N-メチルアセトアミド(2'-O-NMA)修飾を含有する。

40

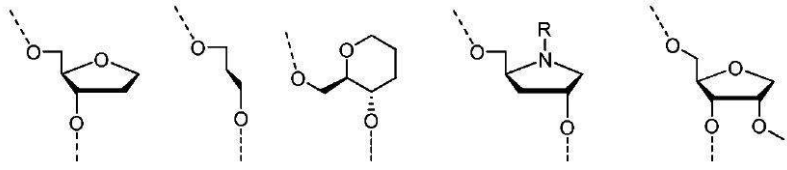
【0307】

C1は、アンチセンス鎖のシード領域(すなわち、アンチセンス鎖の5'末端の2位~8位の向かい側の部位に位置する、熱により不安定化するヌクレオチドである。例えば、C1は、アンチセンス鎖の5'末端の2位~8位のヌクレオチドと対合するセンス鎖の位置

50

にある。一例では、C 1 は、センス鎖の 5' 末端から 15 位にある。C 1 ヌクレオチドは、熱により不安定化する修飾を有し、当該修飾として、脱塩基修飾；二重鎖における向かい側のヌクレオチドとのミスマッチ；および 2' -デオキシ修飾などの糖修飾または非環式ヌクレオチド、例えば、アンロックド核酸（UNA）またはグリセロール核酸（GNA）を挙げることができる。ある特定の実施形態では、C 1 は、i）アンチセンス鎖における向かい側のヌクレオチドとのミスマッチ；ii）

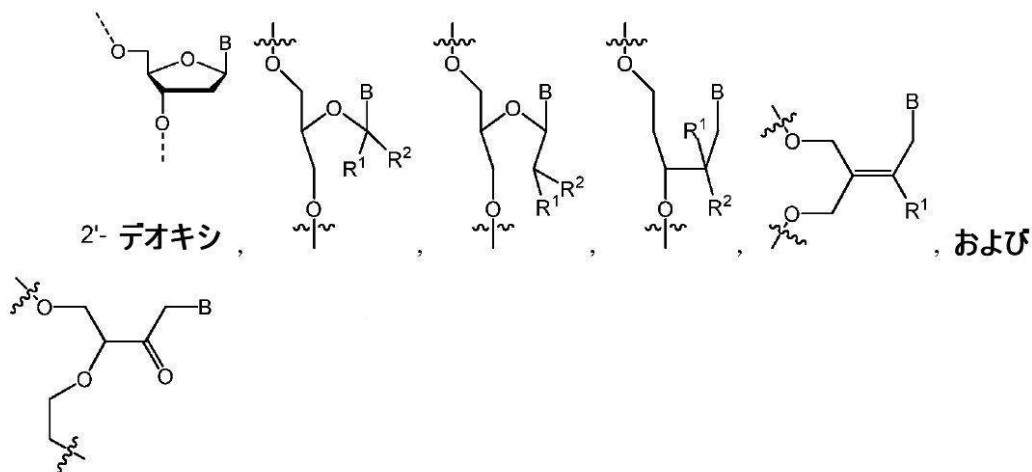
【化 6】



10

からなる群から選択される脱塩基修飾；ならびに iii）

【化 7】

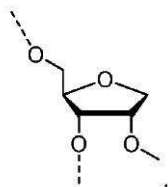


20

（式中、B は、修飾されたまたは修飾されていない核酸塩基であり、R¹ および R² は、独立に、H、ハロゲン、OR₃、またはアルキルであり；R₃ は、H、アルキル、シクロアルキル、アリール、アラールキル、ヘテロアリールまたは糖である）からなる群から選択される糖修飾からなる群から選択される、熱により不安定化する修飾を有する。ある特定の実施形態では、C 1 の熱により不安定化する修飾は、G : G、G : A、G : U、G : T、A : A、A : C、C : C、C : U、C : T、U : U、T : T、および U : T からなる群から選択されるミスマッチであり；必要に応じて、ミスマッチ対の少なくとも 1 つの核酸塩基は、2' -デオキシ核酸塩基である。一例では、C 1 の熱により不安定化する修飾は、GNA または

30

【化 8】



40

である。

【0308】

T₁、T₁'、T₂'、および T₃' はそれぞれ独立に、2' -OMe 修飾の立体的かさ高さよりも小さいまたはそれと等しい立体的かさ高さをヌクレオチドにもたらさず修飾を含むヌクレオチドを表す。立体的かさ高さは、修飾の立体的効果の合計を指す。ヌクレオチド

50

の修飾の立体的効果を決定するための方法は当業者には公知である。修飾は、ヌクレオチドのリボース糖の2'位におけるもの、または非リボースヌクレオチドに対する修飾、非環式ヌクレオチド、またはリボース糖の2'位と同様もしくは等価のヌクレオチドの骨格であってよく、2'-OMe修飾の立体的かさ高さよりも小さいまたはそれと等しい立体的かさ高さをヌクレオチドにもたらす。例えば、T1、T1'、T2'、およびT3'はそれぞれ独立に、DNA、RNA、LNA、2'-F、および2'-F-5'-メチルから選択される。ある特定の実施形態では、T1は、DNAである。ある特定の実施形態では、T1'は、DNA、RNAまたはLNAである。ある特定の実施形態では、T2'は、DNAまたはRNAである。ある特定の実施形態では、T3'は、DNAまたはRNAである。

【0309】

n^1 、 n^3 、および q^1 は、独立に、4~15ヌクレオチド長である。

【0310】

n^5 、 q^3 、および q^7 は独立に、1~6ヌクレオチド長である。

【0311】

n^4 、 q^2 、および q^6 は独立に、1~3ヌクレオチド長である；あるいは、 n^4 は、0である。

【0312】

q^5 は、独立に、0~10ヌクレオチド長である。

【0313】

n^2 および q^4 は独立に、0~3ヌクレオチド長である。

【0314】

あるいは、 n^4 は、0~3ヌクレオチド長である。

【0315】

ある特定の実施形態では、 n^4 は0であり得る。一例では、 n^4 は0であり、 q^2 および q^6 は1である。別の例では、 n^4 は0であり、 q^2 および q^6 は1であり、センス鎖の1位~5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位~23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0316】

ある特定の実施形態では、 n^4 、 q^2 、および q^6 はそれぞれ1である。

【0317】

ある特定の実施形態では、 n^2 、 n^4 、 q^2 、 q^4 、および q^6 はそれぞれ1である。

【0318】

ある特定の実施形態では、センス鎖が19~22ヌクレオチド長である場合、C1はセンス鎖の5'末端の14位~17位にあり、 n^4 は1である。ある特定の実施形態では、C1はセンス鎖の5'末端の15位にある。

【0319】

ある特定の実施形態では、T3'は、アンチセンス鎖の5'末端から2位から始まる。一実施例では、T3'は、アンチセンス鎖の5'末端から2位にあり、 q^6 は1と等しい。

【0320】

ある特定の実施形態では、T1'は、アンチセンス鎖の5'末端から14位から始まる。一例では、T1'は、アンチセンス鎖の5'末端から14位にあり、 q^4 は1と等しい。

【0321】

例示的な実施形態では、T3'は、アンチセンス鎖の5'末端から2位から始まり、T1'は、アンチセンス鎖の5'末端から14位から始まる。一例では、T3'は、アンチセンス鎖の5'末端から2位から始まり、 q^6 は1と等しく、T1'は、アンチセンス鎖の5'末端から14位から始まり、 q^2 は1と等しい。

【0322】

ある特定の実施形態では、T1'とT3'は11ヌクレオチド長隔てられている（すなわ

10

20

30

40

50

ち、 $T1'$ および $T3'$ ヌクレオチドを計数しない)。

【0323】

ある特定の実施形態では、 $T1'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から14位にある。一例では、 $T1'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から14位にあり、 ${}^2q$ は1と等しく、修飾は、2'位または2'-OMeリボースよりも小さい立体的かさ高さをもたらす非リボース、非環、もしくは骨格における位置におけるものである。

【0324】

ある特定の実施形態では、 $T3'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から2位にある。一例では、 $T3'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から2位にあり、 ${}^6q$ は1と等しく、修飾は、2'位または2'-OMeリボースよりも小さいもしくはそれと等しい立体的かさ高さをもたらす非リボース、非環、もしくは骨格における位置におけるものである。

【0325】

ある特定の実施形態では、 $T1$ は、センス鎖の切断部位にある。一例では、センス鎖が19~22ヌクレオチド長である場合、 $T1$ はセンス鎖の5'末端から11位にあり、 r^2 は1である。例示的な実施形態では、センス鎖が19~22ヌクレオチド長である場合、 $T1$ は、センス鎖の5'末端から11位のセンス鎖の切断部位にあり、 r^2 は1である。

【0326】

ある特定の実施形態では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から6位から始まる。一例では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から6~10位にあり、 ${}^4q$ は1である。

【0327】

例示的な実施形態では、 $T1$ は、センス鎖の切断部位にあり、例えば、センス鎖が19~22ヌクレオチド長である場合、センス鎖の5'末端から11位にあり、 r^2 は1である； $T1'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から14位にあり、 ${}^2q$ は1と等しく、 $T1'$ に対する修飾は、リボース糖の2'位または2'-OMeリボースよりも小さい立体的かさ高さをもたらす非リボース、非環、もしくは骨格における位置におけるものである； $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から6~10位におけるものであり、 ${}^4q$ は1である；ならびに $T3'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から2位にあり、 ${}^6q$ は1と等しく、 $T3'$ に対する修飾は、2'位または2'-OMeリボースよりも小さいもしくはそれと等しい立体的かさ高さをもたらす非リボース、非環、もしくは骨格における位置におけるものである。

【0328】

ある特定の実施形態では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から8位から始まる。一例では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から8位から始まり、 ${}^4q$ は2である。

【0329】

ある特定の実施形態では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から9位から始まる。一例では、 $T2'$ は、アンチセンス鎖の5'末端から9位にあり、 ${}^4q$ は1である。

【0330】

ある特定の実施形態では、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり ${}^1q$ は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ${}^2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり ${}^3q$ は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 ${}^4q$ は1であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は6であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 ${}^6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位~5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位~23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0331】

ある特定の実施形態では、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり ${}^1q$ は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ${}^2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり ${}^3q$ は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は1であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり ${}^5q$ は6であり、 $T3'$

10

20

30

40

50

は2'-Fであり、 q^6 は1であり、B4'は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0332】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 q^2 は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 q^4 は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 q^6 は1であり、B4'は2'-OMeであり、 q^7 は1である。

10

【0333】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 q^2 は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 q^4 は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 q^6 は1であり、B4'は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

20

【0334】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は6であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は7であり、T1'は2'-Fであり、 q^2 は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 q^4 は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 q^6 は1であり、B4'は2'-OMeであり、 q^7 は1である。

30

【0335】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は6であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は7であり、T1'は2'-Fであり、 q^2 は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 q^4 は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 q^6 は1であり、B4'は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

40

【0336】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 q^2 は1であり、B2'は2'-OMeまたは

50

2' - Fであり、 q^3 は4であり、T 2'は2' - Fであり、 ^4q は1であり、B 3'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^5 は6であり、T 3'は2' - Fであり、 ^6q は1であり、B 4'は2' - OMeであり、 ^7q は1である。

【0337】

ある特定の実施形態では、B 1は2' - OMeまたは2' - Fであり、 ^1n は8であり、T 1は2' - Fであり、 r^2 は3であり、B 2は2' - OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3は2' - OMeであり、 r^5 は3であり、B 1'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^1 は9であり、T 1'は2' - Fであり、 ^2q は1であり、B 2'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^3 は4であり、T 2'は2' - Fであり、 ^4q は1であり、B 3'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^5 は6であり、T 3'は2' - Fであり、 ^6q は1であり、B 4'は2' - OMeであり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

10

【0338】

ある特定の実施形態では、B 1は2' - OMeまたは2' - Fであり、 ^1n は8であり、T 1は2' - Fであり、 r^2 は3であり、B 2は2' - OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3は2' - OMeであり、 r^5 は3であり、B 1'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^1 は9であり、T 1'は2' - Fであり、 ^2q は1であり、B 2'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^3 は5であり、T 2'は2' - Fであり、 ^4q は1であり、B 3'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^5 は5であり、T 3'は2' - Fであり、 ^6q は1であり、B 4'は2' - OMeであり、 ^7q は1である；必要に応じて、アンチセンス鎖の3'末端に少なくとも2つの追加的なTTが伴う。

20

【0339】

ある特定の実施形態では、B 1は2' - OMeまたは2' - Fであり、 ^1n は8であり、T 1は2' - Fであり、 r^2 は3であり、B 2は2' - OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3は2' - OMeであり、 r^5 は3であり、B 1'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^1 は9であり、T 1'は2' - Fであり、 ^2q は1であり、B 2'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^3 は5であり、T 2'は2' - Fであり、 ^4q は1であり、B 3'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^5 は5であり、T 3'は2' - Fであり、 ^6q は1であり、B 4'は2' - OMeであり、 ^7q は1である；必要に応じて、アンチセンス鎖の3'末端に少なくとも2つの追加的なTTが伴う；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

30

【0340】

ある特定の実施形態では、B 1は2' - OMeまたは2' - Fであり、 ^1n は8であり、T 1は2' - Fであり、 r^2 は3であり、B 2は2' - OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3は2' - OMeであり、 r^5 は3であり、B 1'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^1 は9であり、T 1'は2' - Fであり、 ^2q は1であり、B 2'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B 3'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^5 は7であり、T 3'は2' - Fであり、 ^6q は1であり、B 4'は2' - OMeであり、 q^7 は1である。

40

【0341】

ある特定の実施形態では、B 1は2' - OMeまたは2' - Fであり、 ^1n は8であり、T 1は2' - Fであり、 r^2 は3であり、B 2は2' - OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3は2' - OMeであり、 r^5 は3であり、B 1'は2' - OMeまたは2' - Fであり、 q^1 は9であり、T 1'は2' - Fであり、 ^2q は1であり、B 2'は2' - OMeまた

50

は2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0342】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である。

【0343】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0344】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である。

【0345】

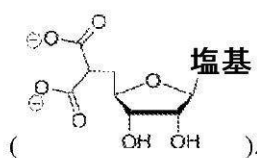
ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。

【0346】

RNAi作用剤は、センス鎖またはアンチセンス鎖の5'末端にリン含有基を含み得る。5'末端リン含有基は、5'末端リン酸（5'-P）、5'末端ホスホロチオエート（5'-PS）、5'末端ホスホロジチオエート（5'-P₂S）、5'末端ビニルホスホネート（5'-VP）、5'末端メチルホスホネート（MePhos）、または5'-デオキシ-5'-C-

マロニル

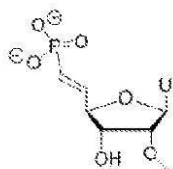
【化 9】



であり得る。5'末端リン含有基が5'末端ビニルホスホネート(5'-VP)である場合、5'-VPは、5'-E-VP異性体(すなわち、トランス-ビニルホスフェート、

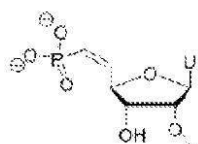
10

【化 10】



)、5'-Z-VP異性体(すなわち、シス-ビニルホスフェート、

【化 11】



20

)のいずれか、またはそれらの混合物であってよい。

【0347】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、センス鎖の5'末端にリン含有基を含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の5'末端にリン含有基を含む。

【0348】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、5'-Pを含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-Pを含む。

30

【0349】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、5'-PSを含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-PSを含む。

【0350】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、5'-VPを含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-VPを含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-E-VPを含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-Z-VPを含む。

40

【0351】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、5'-P₂を含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-P₂を含む。

【0352】

ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、5'-P₂を含む。ある特定の実施形態では、RNAi作用剤は、アンチセンス鎖に5'-デオキシ-5'-C-マロニルを含む。

【0353】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²nは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵nは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであ

50

り、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である。RNA i作用剤は、5'-PSも含む。

【0354】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である。RNA i作用剤は、5'-Pも含む。

10

【0355】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である。RNA i作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

20

【0356】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である。RNA i作用剤は、5'-P₂も含む。

30

【0357】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である。RNA i作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

【0358】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 $4q$ は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 $7q$ は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i作用剤は、5'-Pも含む。

40

50

【0359】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 ^2q は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 ^4q は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 ^6q は1であり、B4'は2'-OMeであり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PSも含む。

10

【0360】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 ^2q は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 ^4q は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 ^6q は1であり、B4'は2'-OMeであり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

20

【0361】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 ^2q は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 ^4q は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 ^6q は1であり、B4'は2'-OMeであり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PS₂も含む。

30

【0362】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 ^2q は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、T2'は2'-Fであり、 ^4q は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、T3'は2'-Fであり、 ^6q は1であり、B4'は2'-OMeであり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

40

50

【0363】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である。RNAi作用剤は、5'-Pも含む。

【0364】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である。dsRNA作用剤は、5'-PSも含む。

【0365】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である。RNAi作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

【0366】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である。RNAi作用剤は、5'-PS₂も含む。

【0367】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

【0368】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹qは9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、³qは4であり、⁴qは0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁵qは7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の

10

20

30

40

50

1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23 位内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi 作用剤は、5' -P も含む。

【0369】

ある特定の実施形態では、B1 は 2' -OMe または 2' -F であり、 $1n$ は 8 であり、T1 は 2' -F であり、 r^2 は 3 であり、B2 は 2' -OMe であり、 r^3 は 7 であり、 n^4 は 0 であり、B3 は 2' -OMe であり、 r^5 は 3 であり、B1' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^1 は 9 であり、T1' は 2' -F であり、 $2q$ は 1 であり、B2' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^3 は 4 であり、 q^4 は 0 であり、B3' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^5 は 7 であり、T3' は 2' -F であり、 $6q$ は 1 であり、B4' は 2' -OMe であり、 q^7 は 1 である；センス鎖の 1 位～5 位（5' 末端から計数する）内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5' 末端から計数する）の 1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23 位内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi 作用剤は、5' -PS も含む。

【0370】

ある特定の実施形態では、B1 は 2' -OMe または 2' -F であり、 $1n$ は 8 であり、T1 は 2' -F であり、 r^2 は 3 であり、B2 は 2' -OMe であり、 r^3 は 7 であり、 n^4 は 0 であり、B3 は 2' -OMe であり、 r^5 は 3 であり、B1' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^1 は 9 であり、T1' は 2' -F であり、 $2q$ は 1 であり、B2' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^3 は 4 であり、 q^4 は 0 であり、B3' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^5 は 7 であり、T3' は 2' -F であり、 $6q$ は 1 であり、B4' は 2' -OMe であり、 q^7 は 1 である；センス鎖の 1 位～5 位（5' 末端から計数する）内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5' 末端から計数する）の 1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23 位内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi 作用剤は、5' -VP も含む。5' -VP は、5' -E-VP、5' -Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

【0371】

ある特定の実施形態では、B1 は 2' -OMe または 2' -F であり、 $1n$ は 8 であり、T1 は 2' -F であり、 r^2 は 3 であり、B2 は 2' -OMe であり、 r^3 は 7 であり、 n^4 は 0 であり、B3 は 2' -OMe であり、 r^5 は 3 であり、B1' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^1 は 9 であり、T1' は 2' -F であり、 $2q$ は 1 であり、B2' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^3 は 4 であり、 q^4 は 0 であり、B3' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^5 は 7 であり、T3' は 2' -F であり、 $6q$ は 1 であり、B4' は 2' -OMe であり、 q^7 は 1 である；センス鎖の 1 位～5 位（5' 末端から計数する）内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5' 末端から計数する）の 1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23 位内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi 作用剤は、5' -PS₂ も含む。

【0372】

ある特定の実施形態では、B1 は 2' -OMe または 2' -F であり、 $1n$ は 8 であり、T1 は 2' -F であり、 r^2 は 3 であり、B2 は 2' -OMe であり、 r^3 は 7 であり、 n^4 は 0 であり、B3 は 2' -OMe であり、 r^5 は 3 であり、B1' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^1 は 9 であり、T1' は 2' -F であり、 $2q$ は 1 であり、B2' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^3 は 4 であり、 q^4 は 0 であり、B3' は 2' -OMe または 2' -F であり、 q^5 は 7 であり、T3' は 2' -F であり、 $6q$ は 1 であり、B4' は 2' -OMe であり、 q^7 は 1 である；センス鎖の 1 位～5 位（5' 末端から計数する）内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5' 末端から計数する）の 1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23

位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

【0373】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹⁰qは5であり、T3'は2'-Fであり、¹¹qは1であり、B4'は2'-Fであり、¹²qは1である。RNA i作用剤は、5'-Pも含む。

10

【0374】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹⁰qは5であり、T3'は2'-Fであり、¹¹qは1であり、B4'は2'-Fであり、¹²qは1である。RNA i作用剤は、5'-PSも含む。

【0375】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹⁰qは5であり、T3'は2'-Fであり、¹¹qは1であり、B4'は2'-Fであり、¹²qは1である。RNA i作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

20

【0376】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹⁰qは5であり、T3'は2'-Fであり、¹¹qは1であり、B4'は2'-Fであり、¹²qは1である。dsRNA RNA作用剤は、5'-P₂も含む。

30

【0377】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹⁰qは5であり、T3'は2'-Fであり、¹¹qは1であり、B4'は2'-Fであり、¹²qは1である。RNA i作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

40

【0378】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、²rは3であり、B2は2'-OMeであり、³nは7であり、⁴nは0であり、B3は2'-OMeであり、⁵rは3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁶qは9であり、T1'は2'-Fであり、⁷qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、⁸qは4であり、T2'は2'-Fであり、⁹qは2であり、B3'は2'-

50

OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^5$ は5であり、T3'は2'-Fであり、 $\bar{q}^6$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 $\bar{q}^7$ は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-Pも含む。

【0379】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{1}n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 $\bar{r}^2$ は3であり、B2は2'-OMeであり、 $\bar{n}^3$ は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 $\bar{r}^5$ は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $\bar{q}^2$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^3$ は4であり、T2'は2'-Fであり、 $\bar{q}^4$ は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^5$ は5であり、T3'は2'-Fであり、 $\bar{q}^6$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 $\bar{q}^7$ は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PSも含む。

【0380】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{1}n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 $\bar{r}^2$ は3であり、B2は2'-OMeであり、 $\bar{n}^3$ は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 $\bar{r}^5$ は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $\bar{q}^2$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^3$ は4であり、T2'は2'-Fであり、 $\bar{q}^4$ は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^5$ は5であり、T3'は2'-Fであり、 $\bar{q}^6$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 $\bar{q}^7$ は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

【0381】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{1}n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 $\bar{r}^2$ は3であり、B2は2'-OMeであり、 $\bar{n}^3$ は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 $\bar{r}^5$ は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $\bar{q}^2$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^3$ は4であり、T2'は2'-Fであり、 $\bar{q}^4$ は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^5$ は5であり、T3'は2'-Fであり、 $\bar{q}^6$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 $\bar{q}^7$ は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-P₂も含む。

【0382】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{1}n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 $\bar{r}^2$ は3であり、B2は2'-OMeであり、 $\bar{n}^3$ は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 $\bar{r}^5$ は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $\bar{q}^2$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^3$ は4であり、T2'は2'-Fであり、 $\bar{q}^4$ は2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $\bar{q}^5$ は5であり、T3'は2'-Fであり、 $\bar{q}^6$ は1であり、

B 4' は 2' - F であり、⁷q は 1 である；センス鎖の 1 位～5 位（センス鎖の 5' 末端から計数する）内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の 5' 末端から計数する）の 1 位および 2 位に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および 18 位～23 位内に 2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i 作用剤は、5' - デオキシ - 5' - C - マロニルも含む。

【0383】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - P も含む。

10

【0384】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - P S も含む。

20

【0385】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - V P も含む。5' - V P は、5' - E - V P、5' - Z - V P、またはこれらの組合せであり得る。

30

【0386】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - P S₂ も含む。

【0387】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - デオキシ - 5' - C - マロニルも含む。

40

【0388】

ある特定の実施形態では、B 1 は 2' - OMe または 2' - F であり、¹n は 8 であり、T 1 は 2' - F であり、^r2 は 3 であり、B 2 は 2' - OMe であり、ⁿ3 は 7 であり、n⁴ は 0 であり、B 3 は 2' - OMe であり、^r5 は 3 であり、B 1' は 2' - OMe または 2' - F であり、q¹ は 9 であり、T 1' は 2' - F であり、²q は 1 であり、B 2' は 2' - OMe または 2' - F であり、q³ は 4 であり、q⁴ は 0 であり、B 3' は 2' - OMe または 2' - F であり、q⁵ は 7 であり、T 3' は 2' - F であり、⁶q は 1 であり、B 4' は 2' - F であり、q⁷ は 1 である。RNA i 作用剤は、5' - デオキシ - 5' - C - マロニルも含む。

50

あり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-Pも含む。

【0389】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PSも含む。

【0390】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VPも含む。5'-VPは、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せであり得る。

【0391】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PS₂も含む。

【0392】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 ^1n は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 r^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまた

は2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルも含む。

【0393】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 n^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-Pおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-Pはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0394】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 n^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PSおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-PSはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0395】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、 $T1$ は2'-Fであり、 n^2 は3であり、 $B2$ は2'-OMeであり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は2'-OMeであり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は2'-Fであり、 q^2 は1であり、 $B2'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は2'-Fであり、 q^4 は2であり、 $B3'$ は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は2'-Fであり、 q^6 は1であり、 $B4'$ は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VP（例えば、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せ）、および標的化リガンドも含む。

【0396】

ある特定の実施形態では、5'-VPはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガン

ドはセンス鎖の3'末端にある。

【0397】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、r²は3であり、B2は2'-OMeであり、r³は7であり、n⁴は0であり、B3は2'-OMeであり、r⁵は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q¹は9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q³は4であり、T2'は2'-Fであり、⁴qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q⁵は5であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-P₅および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-P₅はアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

10

【0398】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、r²は3であり、B2は2'-OMeであり、r³は7であり、n⁴は0であり、B3は2'-OMeであり、r⁵は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q¹は9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q³は4であり、T2'は2'-Fであり、⁴qは2であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q⁵は5であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、⁷qは1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-デオキシ-5'-C-マロニルはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

20

【0399】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、r²は3であり、B2は2'-OMeであり、r³は7であり、n⁴は0であり、B3は2'-OMeであり、r⁵は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q¹は9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q³は4であり、q⁴は0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q⁵は7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、q⁷は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-Pおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-Pはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

30

【0400】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、¹nは8であり、T1は2'-Fであり、r²は3であり、B2は2'-OMeであり、r³は7であり、n⁴は0であり、B3は2'-OMeであり、r⁵は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q¹は9であり、T1'は2'-Fであり、²qは1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q³は4であり、q⁴は0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、q⁵は7であり、T3'は2'-Fであり、⁶qは1であり、B4'は2'-OMeであり、q⁷は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロ

40

50

チオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-P S および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-P S はアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0401】

ある特定の実施形態では、B 1 は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T 1 は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B 2 は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3 は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B 1' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T 1' は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、B 2' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B 3' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、T 3' は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、B 4' は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VP（例えば、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せ）および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-VPはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0402】

ある特定の実施形態では、B 1 は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T 1 は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B 2 は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3 は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B 1' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T 1' は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、B 2' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B 3' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、T 3' は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、B 4' は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-P S₂ および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-P S₂ はアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0403】

ある特定の実施形態では、B 1 は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T 1 は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B 2 は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3 は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B 1' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T 1' は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、B 2' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B 3' は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、T 3' は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、B 4' は2'-OMeであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-デオキシ-5'-C-マロニルはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0404】

ある特定の実施形態では、B 1 は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T 1 は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B 2 は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B 3 は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B 1' は2'-OMeまたは2'-Fで

あり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は $2'-F$ であり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は $2'-F$ であり、 ^4q は2であり、 $B3'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は $2'-F$ であり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は $2'-F$ であり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-Pおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-Pはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

10

【0405】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 ^1n は8であり、 $T1$ は $2'-F$ であり、 n^2 は3であり、 $B2$ は $2'-OMe$ であり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は $2'-OMe$ であり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は $2'-F$ であり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は $2'-F$ であり、 ^4q は2であり、 $B3'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は $2'-F$ であり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は $2'-F$ であり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-PSおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-PSはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

20

【0406】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 ^1n は8であり、 $T1$ は $2'-F$ であり、 n^2 は3であり、 $B2$ は $2'-OMe$ であり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は $2'-OMe$ であり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は $2'-F$ であり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は $2'-F$ であり、 ^4q は2であり、 $B3'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は $2'-F$ であり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は $2'-F$ であり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VP（例えば、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せ）、および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-VPはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

30

【0407】

ある特定の実施形態では、 $B1$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 ^1n は8であり、 $T1$ は $2'-F$ であり、 n^2 は3であり、 $B2$ は $2'-OMe$ であり、 n^3 は7であり、 n^4 は0であり、 $B3$ は $2'-OMe$ であり、 n^5 は3であり、 $B1'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^1 は9であり、 $T1'$ は $2'-F$ であり、 ^2q は1であり、 $B2'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^3 は4であり、 $T2'$ は $2'-F$ であり、 ^4q は2であり、 $B3'$ は $2'-OMe$ または $2'-F$ であり、 q^5 は5であり、 $T3'$ は $2'-F$ であり、 ^6q は1であり、 $B4'$ は $2'-F$ であり、 ^7q は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレ

40

50

オチド間連結修飾が伴う。RNA i 作用剤は、5' - P S₂ および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5' - P S₂ はアンチセンス鎖の5' 末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3' 末端にある。

【0408】

ある特定の実施形態では、B 1 は2' - OMe または2' - F であり、¹n は8 であり、T 1 は2' - F であり、r² は3 であり、B 2 は2' - OMe であり、r³ は7 であり、n⁴ は0 であり、B 3 は2' - OMe であり、r⁵ は3 であり、B 1' は2' - OMe または2' - F であり、q¹ は9 であり、T 1' は2' - F であり、²q は1 であり、B 2' は2' - OMe または2' - F であり、q³ は4 であり、T 2' は2' - F であり、⁴q は2 であり、B 3' は2' - OMe または2' - F であり、q⁵ は5 であり、T 3' は2' - F であり、⁶q は1 であり、B 4' は2' - F であり、⁷q は1 である；センス鎖の1 位～5 位（センス鎖の5' 末端から計数する）内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5' 末端から計数する）の1 位および2 位に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および1 8 位～2 3 位内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i 作用剤は、5' - デオキシ-5' - C - マロニルおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5' - デオキシ-5' - C - マロニルはアンチセンス鎖の5' 末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3' 末端にある。

10

【0409】

ある特定の実施形態では、B 1 は2' - OMe または2' - F であり、¹n は8 であり、T 1 は2' - F であり、r² は3 であり、B 2 は2' - OMe であり、r³ は7 であり、n⁴ は0 であり、B 3 は2' - OMe であり、r⁵ は3 であり、B 1' は2' - OMe または2' - F であり、q¹ は9 であり、T 1' は2' - F であり、²q は1 であり、B 2' は2' - OMe または2' - F であり、q³ は4 であり、q⁴ は0 であり、B 3' は2' - OMe または2' - F であり、q⁵ は7 であり、T 3' は2' - F であり、⁶q は1 であり、B 4' は2' - F であり、q⁷ は1 である；センス鎖の1 位～5 位（センス鎖の5' 末端から計数する）内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5' 末端から計数する）の1 位および2 位に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および1 8 位～2 3 位内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i 作用剤は、5' - P および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5' - P はアンチセンス鎖の5' 末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3' 末端にある。

20

30

【0410】

ある特定の実施形態では、B 1 は2' - OMe または2' - F であり、¹n は8 であり、T 1 は2' - F であり、r² は3 であり、B 2 は2' - OMe であり、r³ は7 であり、n⁴ は0 であり、B 3 は2' - OMe であり、r⁵ は3 であり、B 1' は2' - OMe または2' - F であり、q¹ は9 であり、T 1' は2' - F であり、²q は1 であり、B 2' は2' - OMe または2' - F であり、q³ は4 であり、q⁴ は0 であり、B 3' は2' - OMe または2' - F であり、q⁵ は7 であり、T 3' は2' - F であり、⁶q は1 であり、B 4' は2' - F であり、q⁷ は1 である；センス鎖の1 位～5 位（センス鎖の5' 末端から計数する）内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5' 末端から計数する）の1 位および2 位に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および1 8 位～2 3 位内に2 つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNA i 作用剤は、5' - P S および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5' - P S はアンチセンス鎖の5' 末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3' 末端にある。

40

【0411】

ある特定の実施形態では、B 1 は2' - OMe または2' - F であり、¹n は8 であり、T 1 は2' - F であり、r² は3 であり、B 2 は2' - OMe であり、r³ は7 であり、n⁴ は0 であり、B 3 は2' - OMe であり、r⁵ は3 であり、B 1' は2' - OMe または2' - F であり、q¹ は9 であり、T 1' は2' - F であり、²q は1 であり、B 2' は2' - OMe または2' - F であり、q³ は4 であり、q⁴ は0 であり、B 3' は2' - OMe または2' - F であり、q⁵ は7 であり、T 3' は2' - F であり、⁶q は1 であり、B 4' は2' - F であり、

50

q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-VP（例えば、5'-E-VP、5'-Z-VP、またはこれらの組合せ）、および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-VPはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0412】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、T3'は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-P₅および標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-P₅はアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0413】

ある特定の実施形態では、B1は2'-OMeまたは2'-Fであり、 $1n$ は8であり、T1は2'-Fであり、 r^2 は3であり、B2は2'-OMeであり、 r^3 は7であり、 n^4 は0であり、B3は2'-OMeであり、 r^5 は3であり、B1'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^1 は9であり、T1'は2'-Fであり、 $2q$ は1であり、B2'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^3 は4であり、 q^4 は0であり、B3'は2'-OMeまたは2'-Fであり、 q^5 は7であり、T3'は2'-Fであり、 $6q$ は1であり、B4'は2'-Fであり、 q^7 は1である；センス鎖の1位～5位（センス鎖の5'末端から計数する）内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾、ならびにアンチセンス鎖（アンチセンス鎖の5'末端から計数する）の1位および2位に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾および18位～23位内に2つのホスホロチオエートヌクレオチド間連結修飾が伴う。RNAi作用剤は、5'-デオキシ-5'-C-マロニルおよび標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、5'-デオキシ-5'-C-マロニルはアンチセンス鎖の5'末端にあり、標的化リガンドはセンス鎖の3'末端にある。

【0414】

特定の実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、

(a)

(i) 21ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3'末端に付着したASGPRリガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した3つのGalNAc誘導体を含むASGPRリガンド；ならびに

(iii) 1位、3位、5位、7位、9位～11位、13位、17位、19位、および21位における2'-F修飾、および2位、4位、6位、8位、12位、14位～16位、18位、および20位における2'-OMe修飾（5'末端から計数する）を有するセンス鎖と；

(b)

(i) 23ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1位、3位、5位、9位、11位～13位、15位、17位、19位、21位、および23位における2'-OMe修飾、および2位、4位、6位～8位、10位、14位、16位、18位、20位、および22位における2'-F修飾（5'末端から計数する）

）；ならびに

(i i i) ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する) を有するアンチセンス鎖とを含み、

d s R N A 作用剤は、アンチセンス鎖の 3 ' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5 ' 末端に平滑末端を有する。

【 0 4 1 5 】

別の特定の実施形態では、本発明の R N A i 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 3 ' 末端に付着した A S G P R リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの G a l N A c 誘導体を含む A S G P R リガンド；

(i i i) 1 位、3 位、5 位、7 位、9 位～ 1 1 位、1 3 位、1 5 位、1 7 位、1 9 位、および 2 1 位における 2 ' - F 修飾、および 2 位、4 位、6 位、8 位、1 2 位、1 4 位、1 6 位、1 8 位、および 2 0 位における 2 ' - O M e 修飾 (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i v) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する) を有するセンス鎖と

(b)

(i) 2 3 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 1 位、3 位、5 位、7 位、9 位、1 1 位～ 1 3 位、1 5 位、1 7 位、1 9 位、および 2 1 位～ 2 3 位における 2 ' - O M e 修飾、および 2 位、4 位、6 位、8 位、1 0 位、1 4 位、1 6 位、1 8 位、および 2 0 位における 2 ' F 修飾 (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i i i) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する)

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

R N A i 作用剤は、アンチセンス鎖の 3 ' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5 ' 末端に平滑末端を有する。

【 0 4 1 6 】

別の特定の実施形態では、本発明の R N A i 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 3 ' 末端に付着した A S G P R リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの G a l N A c 誘導体を含む A S G P R リガンド；

(i i i) 1 位～ 6 位、8 位、1 0 位、および 1 2 位～ 2 1 位における 2 ' - O M e 修飾、7 位および 9 位における 2 ' - F 修飾、および 1 1 位におけるデオキシヌクレオチド (例えば、d T) (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i v) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する) を有するセンス鎖と

(b)

(i) 2 3 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 1 位、3 位、7 位、9 位、1 1 位、1 3 位、1 5 位、1 7 位、および 1 9 位～ 2 3 位における 2 ' - O M e 修飾、および 2 位、4 位～ 6 位、8 位、1 0 位、1 2 位、1 4 位、1 6 位、および 1 8 位における 2 ' - F 修飾 (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i i i) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する)

を有するアンチセンス鎖と
を含み、

RNA i 作用剤は、アンチセンス鎖の 3 ' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5 ' 末端に平滑末端を有する。

【 0 4 1 7 】

別の特定の実施形態では、本発明の RNA i 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 3 ' 末端に付着した ASGPR リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの GalNAc 誘導体を含む ASGPR リガンド；

(i i i) 1 位 ~ 6 位、8 位、1 0 位、1 2 位、1 4 位、および 1 6 位 ~ 2 1 位における 2 ' -OMe 修飾、および 7 位、9 位、1 1 位、1 3 位、および 1 5 位における 2 ' -F 修飾；ならびに

(i v) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する)
を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 2 3 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 1 位、5 位、7 位、9 位、1 1 位、1 3 位、1 5 位、1 7 位、1 9 位、および 2 1 位 ~ 2 3 位における 2 ' -OMe 修飾、および 2 位 ~ 4 位、6 位、8 位、1 0 位、1 2 位、1 4 位、1 6 位、1 8 位、および 2 0 位における 2 ' -F 修飾 (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i i i) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する)

を有するアンチセンス鎖と
を含み、

RNA i 作用剤は、アンチセンス鎖の 3 ' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5 ' 末端に平滑末端を有する。

【 0 4 1 8 】

別の特定の実施形態では、本発明の RNA i 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 3 ' 末端に付着した ASGPR リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの GalNAc 誘導体を含む ASGPR リガンド；

(i i i) 1 位 ~ 9 位および 1 2 位 ~ 2 1 位における 2 ' -OMe 修飾、および 1 0 位および 1 1 位における 2 ' -F 修飾；ならびに

(i v) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結 (5 ' 末端から計数する)
を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 2 3 ヌクレオチドの長さ；

(i i) 1 位、3 位、5 位、7 位、9 位、1 1 位 ~ 1 3 位、1 5 位、1 7 位、1 9 位、および 2 1 位 ~ 2 3 位における 2 ' -OMe 修飾、および 2 位、4 位、6 位、8 位、1 0 位、1 4 位、1 6 位、1 8 位、および 2 0 位における 2 ' -F 修飾 (5 ' 末端から計数する) ；ならびに

(i i i) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5' 末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と
を含み、

RNAi 作用剤は、アンチセンス鎖の 3' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5' 末端に平滑末端を有する。

【0419】

別の特定の実施形態では、本発明の RNAi 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3' 末端に付着した ASGPR リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの GalNAc 誘導体を含む ASGPR リガンド；

(iii) 1 位、3 位、5 位、7 位、9 位～1 1 位、および 1 3 位における 2'-F 修飾、および 2 位、4 位、6 位、8 位、1 2 位、および 1 4 位～2 1 位における 2'-OMe 修飾；ならびに

(iv) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5' 末端から計数する）

を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 2 3 ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1 位、3 位、5 位～7 位、9 位、1 1 位～1 3 位、1 5 位、1 7 位～1 9 位、および 2 1 位～2 3 位における 2'-OMe 修飾、および 2 位、4 位、8 位、1 0 位、1 4 位、1 6 位、および 2 0 位における 2'-F 修飾（5' 末端から計数する）；ならびに

(iii) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5' 末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

RNAi 作用剤は、アンチセンス鎖の 3' 末端に 2 ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の 5' 末端に平滑末端を有する。

【0420】

別の特定の実施形態では、本発明の RNAi 作用剤は、

(a)

(i) 2 1 ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3' 末端に付着した ASGPR リガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した 3 つの GalNAc 誘導体を含む ASGPR リガンド；

(iii) 1 位、2 位、4 位、6 位、8 位、1 2 位、1 4 位、1 5 位、1 7 位、および 1 9 位～2 1 位における 2'-OMe 修飾、および 3 位、5 位、7 位、9 位～1 1 位、1 3 位、1 6 位、および 1 8 位における 2'-F 修飾；ならびに

(iv) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、およびヌクレオチド 2 位と 3 位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5' 末端から計数する）

を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 2 5 ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1 位、4 位、6 位、7 位、9 位、1 1 位～1 3 位、1 5 位、1 7 位、および 1 9 位～2 3 位における 2'-OMe 修飾、2 位、3 位、5 位、8 位、1 0 位、1 4 位、1 6 位、および 1 8 位における 2'-F 修飾、および 2 4 位および 2 5 位におけるデオキシヌクレオチド（例えば、dT）（5' 末端から計数する）；ならびに

(iii) ヌクレオチド 1 位と 2 位の間、ヌクレオチド 2 位と 3 位の間、ヌクレオチド 2 1 位と 2 2 位の間、およびヌクレオチド 2 2 位と 2 3 位の間のホスホロチオエートヌ

10

20

30

40

50

クレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の3'末端に4ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を有する。

【0421】

別の特定の実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、

(a)

(i) 21ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3'末端に付着したASGPRリガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した3つのGalNAc誘導体を含むASGPRリガンド；

(iii) 1位～6位、8位、および12位～21位における2'-OMe修飾、および7位および9位～11位における2'-F修飾；ならびに

(iv) ヌクレオチド1位と2位の間、およびヌクレオチド2位と3位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 23ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1位、3位～5位、7位、8位、10位～13位、15位、および17位～23位における2'-OMe修飾、および2位、6位、9位、14位、および16位における2'-F修飾（5'末端から計数する）；ならびに

(iii) ヌクレオチド1位と2位の間、ヌクレオチド2位と3位の間、ヌクレオチド21位と22位の間、およびヌクレオチド22位と23位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の3'末端に2ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を有する。

【0422】

別の特定の実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、

(a)

(i) 21ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3'末端に付着したASGPRリガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した3つのGalNAc誘導体を含むASGPRリガンド；

(iii) 1位～6位、8位、および12位～21位における2'-OMe修飾、および7位および9位～11位における2'-F修飾；ならびに

(iv) ヌクレオチド1位と2位の間、およびヌクレオチド2位と3位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 23ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1位、3位～5位、7位、10位～13位、15位、および17位～23位における2'-OMe修飾、および2位、6位、8位、9位、14位、および16位における2'-F修飾（5'末端から計数する）；ならびに

(iii) ヌクレオチド1位と2位の間、ヌクレオチド2位と3位の間、ヌクレオチド21位と22位の間、およびヌクレオチド22位と23位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の3'末端に2ヌクレオチド突出、およびアンチセン

10

20

30

40

50

ス鎖の5'末端に平滑末端を有する。

【0423】

別の特定の実施形態では、本発明のRNAi作用剤は、

(a)

(i) 19ヌクレオチドの長さ；

(ii) 3'末端に付着したASGPRリガンドであって、三価の分枝リンカーを通じて付着した3つのGalNAc誘導体を含むASGPRリガンド；

(iii) 1位～4位、6位、および10位～19位における2'-OMe修飾、および5位および7位～9位における2'-F修飾；ならびに

(iv) ヌクレオチド1位と2位の間、およびヌクレオチド2位と3位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するセンス鎖と、

(b)

(i) 21ヌクレオチドの長さ；

(ii) 1位、3位～5位、7位、10位～13位、15位、および17位～21位における2'-OMe修飾、および2位、6位、8位、9位、14位、および16位における2'-F修飾（5'末端から計数する）；ならびに

(iii) ヌクレオチド1位と2位の間、ヌクレオチド2位と3位の間、ヌクレオチド19位と20位の間、およびヌクレオチド20位と21位の間のホスホロチオエートヌクレオチド間連結（5'末端から計数する）

を有するアンチセンス鎖と

を含み、

RNAi作用剤は、アンチセンス鎖の3'末端に2ヌクレオチド突出、およびアンチセンス鎖の5'末端に平滑末端を有する。

【0424】

ある特定の実施形態では、本発明の方法において使用するためのiRNAは、表2、3、7、8、10、11、または13に列挙される作用剤から選択される作用剤である。一実施形態では、作用剤は、AD-288917である。別の実施形態では、作用剤は、AD-288996である。別の実施形態では、作用剤は、AD-413639である。一実施形態では、作用剤は、AD-413644である。別の実施形態では、作用剤は、AD-413669である。これらの作用剤は、リガンドをさらに含み得る。

IV. リガンドとコンジュゲートしたiRNA

【0425】

本発明のiRNAのRNAの別の修飾は、RNAにiRNAの活性、細胞分布または細胞内取り込みを増強する1つまたは複数のリガンド、部分またはコンジュゲートを化学的に連結することに関する。そのような部分としては、これだけに限定されないが、脂質部分、例えば、コレステロール部分 (Letsinger et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86: 6553-6556)、コール酸 (Manoharan et al., (1994) Biorg. Med. Chem. Lett., 4: 1053-1060)、チオエーテル、例えば、ベリルーS-トリチルチオール (Manoharan et al., (1992) Ann. N.Y. Acad. Sci., 660: 306-309; Manoharan et al., (1993) Biorg. Med. Chem. Lett., 3: 2765-2770)、チオコレステロール (Oberhauser et al., (1992) Nucl. Acids Res., 20: 533-538)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., (1991) EMBO J, 10: 1111-1118; Kabanov et al., (1990) FEBS Lett., 259: 327-330; Svinarchuk et al., (1993) Biochimie, 75: 49-54)、リン脂質、例えば、ジヘキサデシル-rac-グリセロールまたはトリエチルーアンモニウム1,2-ジヘキサデシル-rac-グリセロール-3-ホスホネート (Manoharan et al., (1995) Tetrahedron Lett., 36: 3651-3654; Shea et al., (1990) Nucl. Acids Res., 18: 3777-3783)、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., (1995) Nucleosides & Nucleotides, 14: 969-973

)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., (1995) Tetrahedron Lett., 36: 3651-3654)、パルミチル部分 (Mishra et al., (1995) Biochim. Biophys. Acta, 1264: 229-237)、またはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニルオキシコレステロール部分 (Crooke et al., (1996) J. Pharmacol. Exp. Ther., 277: 923-937) などが挙げられる。

【0426】

一実施形態では、リガンドにより、リガンドが組み入れられる iRNA 作用剤の分布、標的化または寿命が変更される。好ましい実施形態では、リガンドにより、選択された標的、例えば、分子、細胞もしくは細胞型、体の区画、例えば、細胞区画もしくは器官区画、組織、器官または領域に対して、例えば、そのようなリガンドが存在しない種と比較して増強された親和性がもたらされる。好ましいリガンドは、二重鎖核酸における二重鎖対形成には関与しない。

【0427】

リガンドとしては、天然に存在する物質、例えば、タンパク質 (例えば、ヒト血清アルブミン (HSA)、低密度リボタンパク質 (LDL)、もしくはグロブリン); 炭水化物 (例えば、デキストラン、プルラン、キチン、キトサン、イヌリン、シクロデキストリン、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミンもしくはヒアルロン酸); または脂質などを挙げることができる。リガンドは、組換えまたは合成分子、例えば、合成ポリマー、例えば、合成ポリアミノ酸などであってもよい。ポリアミノ酸の例としては、ポリリシン (PLL)、ポリ-L-アスパラギン酸、ポリ-L-グルタミン酸、スチレン-無水マレイン酸共重合体、ポリ (L-ラクチド-co-グリコリド) 共重合体、ジビニルエーテル-無水マレイン酸共重合体、N-(2-ヒドロキシプロピル) メタクリルアミド共重合体 (HMPA)、ポリエチレングリコール (PEG)、ポリビニルアルコール (PVA)、ポリウレタン、ポリ (アクリル酸 2-エチル)、N-イソプロピルアクリルアミドポリマー、またはポリホスファジンが挙げられる。ポリアミンの例としては、ポリエチレンイミン、ポリリシン (PLL)、スペルミン、スペルミジン、ポリアミン、偽ペプチド-ポリアミン、ペプチド模倣ポリアミン、デンドリマーポリアミン、アルギニン、アミジン、プロタミン、カチオン性脂質、カチオン性ポリフィリン、ポリアミンの四級塩、またはアルファヘリックスペプチドが挙げられる。

【0428】

リガンドは、標的化群、例えば、細胞または組織標的化作用物質、例えば、レクチン、糖タンパク質、脂質またはタンパク質、例えば、腎臓細胞などの特定の細胞型に結合する抗体も含み得る。標的化群は、甲状腺刺激ホルモン、メラノトロピン、レクチン、糖タンパク質、サーファクタントタンパク質 A、ムチン型糖鎖、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン多価マンノース、多価フコース、グリコシル化ポリアミノ酸、多価ガラクトース、トランスフェリン、ビスホスホネート、ポリグルタミン酸、ポリアスパルテート、脂質、コレステロール、ステロイド、胆汁酸、葉酸、ビタミン B12、ビタミン A、ビオチン、または RGD ペプチドまたは RGD ペプチド模倣体であり得る。

【0429】

リガンドの他の例としては、色素、挿入剤 (例えば、アクリジン)、架橋剤 (例えば、ソラレン、マイトマイシン C)、ポリフィリン (TPPC4、テキサフィリン、サフィリン)、多環式芳香族炭化水素 (例えば、フェナジン、ジヒドロフェナジン)、人工エンドヌクレアーゼ (例えば、EDTA)、親油性分子、例えば、コレステロール、コール酸、アダマンタン酢酸、1-ピレン酪酸、ジヒドロテストステロン、1,3-ビス-O (ヘキサデシル) グリセロール、ゲラニルオキシヘキシル基、ヘキサデシルグリセロール、ボルネオール、メントール、1,3-プロパンジオール、ヘプタデシル基、パルミチン酸、ミリスチン酸、O3- (オレオイル) リトコール酸、O3- (オレオイル) コレン酸、ジメトキシトリチル、またはフェノキサジン) およびペプチドコンジュゲート (例えば、アンテナペディアペプチド、Tat ペプチド)、アルキル化剤、リン酸、アミノ、メルカプト

、PEG（例えば、PEG-40K）、MPEG、[MPEG]₂、ポリアミノ、アルキル、置換アルキル、放射標識されたマーカー、酵素、ハプテン（例えば、ビオチン）、輸送／吸収促進因子（例えば、アスピリン、ビタミンE、葉酸）、合成リボヌクレアーゼ（例えば、イミダゾール、ビスイミダゾール、ヒスタミン、イミダゾールクラスター、アクリジン-イミダゾールコンジュゲート、テトラアザ大環式化合物のEu³⁺複合体）、ジニトロフェニル、HRP、またはAPが挙げられる。

【0430】

リガンドは、タンパク質、例えば、糖タンパク質、またはペプチド、例えば、共リガンドに対する特異的親和性を有する分子、または抗体、例えば、肝細胞などの特定の細胞型に結合する抗体であり得る。リガンドは、ホルモンおよびホルモン受容体も含み得る。リガンドは、非ペプチド種、例えば、脂質、レクチン、炭水化物、ビタミン、補助因子、多価ラクトース、多価ガラクトース、N-アセチル-ガラクトサミン、N-アセチル-グルコサミン多価マンノース、または多価フコースなども含む得る。リガンドは、例えば、リポ多糖、p38MAPキナーゼの活性化因子、またはNF-κBの活性化因子であり得る。

【0431】

リガンドは、例えば、細胞の細胞骨格を破壊することによって、例えば、細胞の微小管、マイクロフィラメント、および／または中間径フィラメントを破壊することによって、iRNA作用剤の細胞内への取り込みを増大させることができる物質、例えば薬物であり得る。薬物は、例えば、タキサン（taxon）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、サイトカラシン、ノコダゾール、ジャブラキノリド、ラトランクリンA、ファロイジン、スウィンホリドA、インダノシン、またはミオセルビンであり得る。

【0432】

一部の実施形態では、本明細書に記載のiRNAに付着したリガンドは、薬物動態モジュレーター（PKモジュレーター）として作用する。PKモジュレーターは、脂肪親和性物質、胆汁酸、ステロイド、リン脂質類似体、ペプチド、タンパク質結合性物質、PEG、ビタミンなどを含む。例示的なPKモジュレーターとしては、これだけに限定されないが、コレステロール、脂肪酸、コール酸、リトコール酸、ジアルキルグリセリド、ジアシルグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、ナプロキセン、イブプロフェン、ビタミンE、ビオチンなどが挙げられる。いくつかのホスホロチオエート連結を含むオリゴヌクレオチドも血清タンパク質に結合することが公知であり、したがって、短いオリゴヌクレオチド、例えば、骨格内に多数のホスホロチオエート連結を含む約5塩基、10塩基、15塩基または20塩基のオリゴヌクレオチドもリガンドとして（例えば、PKをモジュレートするリガンドとして）本発明に適する。さらに、血清構成成分（例えば、血清タンパク質）に結合するアプタマーも本明細書に記載の実施形態においてPKをモジュレートするリガンドとして使用するのに適している。

【0433】

本発明のリガンドとコンジュゲートしたオリゴヌクレオチドは、連結性分子のオリゴヌクレオチドへの付着に由来するものなどのペンダント反応性官能基を有するオリゴヌクレオチドを使用することによって合成することができる（下記）。この反応性オリゴヌクレオチドは、市販のリガンド、種々の保護基のいずれかを有する合成されたリガンド、またはそれに付着する連結性部分を有するリガンドと直接反応させることができる。

【0434】

本発明のコンジュゲートに使用するオリゴヌクレオチドは、周知の固相合成の技法によって都合よく常套的に作製することができる。そのような合成のための設備は、例えば、Applied Biosystems（Foster City, Calif.）を含めたいくつかのベンダーによって販売されている。それに加えて、またはその代わりに、そのような合成のための当技術分野で公知の任意の他の手段を使用することができる。同様の技法を使用してホスホロチオエートおよびアルキル化誘導体などの他のオリゴヌクレオチドを調製することも公知である。

【0435】

リガンドとコンジュゲートしたオリゴヌクレオチド、およびリガンドー本発明の配列特異的連結したヌクレオシドを有する分子では、オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオシドを、適切なDNA合成機において、標準のヌクレオチドもしくはヌクレオシド前駆体、または連結性部分をすでに有するヌクレオチドもしくはヌクレオシドコンジュゲート前駆体、リガンド分子をすでに有するリガンドーヌクレオチドもしくはヌクレオシドーコンジュゲート前駆体、または非ヌクレオシドリガンドを有する構成要素を利用してアSEMBLすることができる。

【0436】

連結性部分をすでに有するヌクレオチドーコンジュゲート前駆体を使用する場合、配列特異的連結したヌクレオシドの合成は、一般には完了しており、次いで、リガンド分子を連結性部分と反応させて、リガンドとコンジュゲートしたオリゴヌクレオチドを形成する。一部の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドまたは連結したヌクレオシドを、市販されており、オリゴヌクレオチド合成において常套的に使用される標準のホスホラミダイトおよび非標準のホスホラミダイトに加えて、リガンドーヌクレオシドコンジュゲートに由来するホスホラミダイトを使用する自動合成機によって合成する。

A. 脂質コンジュゲート

【0437】

一実施形態では、リガンドまたはコンジュゲートは、脂質または脂質に基づく分子である。そのような脂質または脂質に基づく分子は、血清タンパク質、例えば、ヒト血清アルブミン(HSA)に結合することが好ましい。HSA結合性リガンドにより、コンジュゲートを体の標的組織、例えば、腎臓ではない標的組織に分布させることが可能になる。例えば、標的組織は、肝臓の実質細胞を含めた肝臓であり得る。HSAに結合する他の分子もリガンドとして使用することができる。例えば、ネプロキシンまたはアスピリンを使用することができる。脂質または脂質に基づくリガンドは、(a)コンジュゲートの分解に対する抵抗性を増大させることができ、(b)標的細胞または細胞膜への標的化または輸送を増大させることができ、かつ/または(c)血清タンパク質、例えばHSAへの結合を調整するために使用することができる。

【0438】

脂質に基づくリガンドを使用して、コンジュゲートの標的組織への結合を阻害する、例えば調節することができる。例えば、HSAへの結合がより強力な脂質または脂質に基づくリガンドは、腎臓にターゲティングされる可能性は低く、したがって、体内から取り除かれる可能性が低い。コンジュゲートを腎臓にターゲティングするためにはHSAへの結合があまり強力でない脂質または脂質に基づくリガンドを使用することができる。

【0439】

好ましい実施形態では、脂質に基づくリガンドは、HSAに結合する。脂質に基づくリガンドは、HSAに十分な親和性で結合し、したがって、コンジュゲートは好ましくは腎臓ではない組織に分布することが好ましい。しかし、親和性はHSAーリガンド結合が逆転できないほど強力ではないことが好ましい。

【0440】

別の好ましい実施形態では、脂質に基づくリガンドは、HSAに弱く結合するまたは全く結合せず、したがって、コンジュゲートは好ましくは腎臓に分布する。脂質に基づくリガンドの代わりにまたはそれに加えて、腎臓細胞にターゲティングされる他の部分を使用することもできる。

【0441】

別の態様では、リガンドは、標的細胞、例えば、増殖している細胞によって取り込まれる部分、例えばビタミンである。これらは、例えば、悪性または非悪性型、例えば、がん細胞の望ましくない細胞増殖を特徴とする障害を処置するために特に有用である。例示的なビタミンとしては、ビタミンA、E、およびKが挙げられる。他の例示的なビタミンとしては、ビタミンB、例えば、葉酸、B12、リボフラビン、ビオチン、ピリドキサルまたは肝細胞などの標的細胞によって取り込まれる他のビタミンもしくは栄養分が挙げら

10

20

30

40

50

れる。H S Aおよび低密度リボタンパク質（L D L）も含まれる。

B．細胞透過作用剤

【0442】

別の態様では、リガンドは、細胞透過作用剤、好ましくはヘリックス細胞透過作用剤である。作用剤は両親媒性であることが好ましい。例示的な作用剤は、t a tまたはアンテナペディアなどのペプチドである。作用剤がペプチドである場合、ペプチジル模倣体、逆転異性体、非ペプチドまたは偽性ペプチド連結、およびD-アミノ酸の使用を含め、改変されたものであってよい。ヘリックス作用剤は、アルファヘリックス作用剤であることが好ましく、これは親油性および疎油性相を有することが好ましい。

【0443】

リガンドは、ペプチドまたはペプチド模倣体であってよい。ペプチド模倣体（本明細書ではオリゴペプチド模倣体とも称される）は、天然のペプチドと同様の定義された三次元構造にフォールディングすることが可能な分子である。ペプチドおよびペプチド模倣体のiRNA作用剤への付着により、例えば細胞による認識および吸収の増強により、iRNAの薬物動態分布に影響を及ぼすことができる。ペプチドまたはペプチド模倣体部分は、約5～50アミノ酸長、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50アミノ酸長であり得る。

【0444】

ペプチドまたはペプチド模倣体は、例えば、細胞透過ペプチド、カチオン性ペプチド、両親媒性ペプチド、または疎水性ペプチド（例えば、主にTyr、TrpまたはPheからなる）であり得る。ペプチド部分は、デンドリマーペプチド、拘束ペプチドまたは架橋結合したペプチドであり得る。別の代替では、ペプチド部分は、疎水性膜移行配列（MTS）を含み得る。例示的な疎水性MTS含有ペプチドは、アミノ酸配列A A V A L L P A V L L A L L A P（配列番号2977）を有するR F G Fである。疎水性MTSを含有するR F G F類似体（例えば、アミノ酸配列A A L L P V L L A A P（配列番号2978）も標的化部分になり得る。ペプチド部分は、ペプチド、オリゴヌクレオチド、およびタンパク質を含めた大きな極性分子を細胞膜を横切って運ぶことができる「送達」ペプチドであり得る。例えば、H I V T a tタンパク質由来の配列（G R K K R R Q R R R P P Q（配列番号2979））およびD r o s o p h i l a A n t e n n a p e d i aタンパク質由来の配列（R Q I K I W F Q N R R M K W K K（配列番号2980））が送達ペプチドとして機能することができるが見いだされている。ペプチドまたはペプチド模倣体は、例えば、ファージディスプレイライブラリー、または1ビーズ1化合物（O B O C）コンビナトリアルライブラリー（Lam et al., Nature, 354: 82-84, 1991）から同定されたペプチドなど、DNAのランダムな配列によってコードされ得る。細胞標的化のために組み入れられた単量体単位を介してd s RNA作用剤に係留されるペプチドまたはペプチド模倣体の例は、アルギニン-グリシン-アスパラギン酸（R G D）-ペプチド、またはR G D模倣体である。ペプチド部分は、約5アミノ酸から約40アミノ酸までの長さにわたり得る。ペプチド部分は、例えば、安定性を増大させるまたはコンフォメーション性を方向付けるために構造的修飾を有してよい。下記の構造的修飾のいずれも利用することができる。

【0445】

本発明の組成物および方法において使用するためのR G Dペプチドは、直鎖状であっても環状であってもよく、また、特定の組織へのターゲティングを容易にするために、修飾、例えば、グリコシル化またはメチル化されてよい。R G D含有ペプチドおよびペプチド模倣体は、D-アミノ酸、ならびに合成R G D模倣体を含み得る。R G Dに加えて、インテグリンリガンドをターゲティングする他の部分を使用することができる。このリガンドの好ましいコンジュゲートは、P E C A M-1またはV E G Fを標的とする。

【0446】

「細胞透過ペプチド」は、細胞、例えば、細菌もしくは真菌細胞などの微生物細胞、またはヒト細胞などの哺乳動物細胞を透過することができる。微生物細胞透過性ペプチドは

10

20

30

40

50

、例えば、 α -ヘリックス直鎖ペプチド（例えば、LL-37もしくはCeropin P1）、ジスルフィド結合含有ペプチド（例えば、 α -デフェンシン、 β -デフェンシンもしくはバクテネシン）、または、ただ1つもしくは2つの優位を占めるアミノ酸だけを含有するペプチド（例えば、PR-39もしくはインドリシジン）であり得る。細胞透過ペプチドは、核局在化シグナル（NLS）も含み得る。例えば、細胞透過ペプチドは、HIV-1 gp41およびSV40ラージT抗原のNLSの融合ペプチドドメインに由来するMPGなどの二分両親媒性ペプチドであり得る（Simeoni et al., Nucl. Acids Res. 31: 2717-2724, 2003）。

C. 炭水化物コンジュゲート

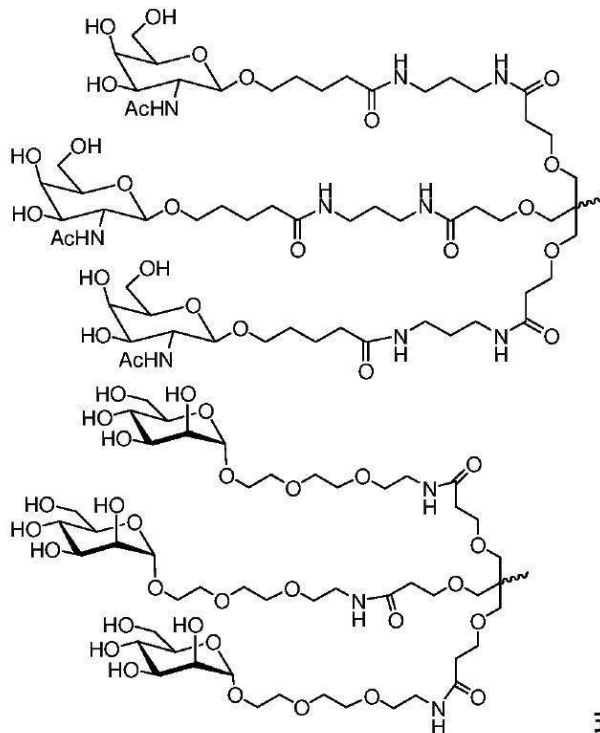
【0447】

本発明の組成物および方法の一部の実施形態では、iRNAオリゴヌクレオチドは、炭水化物をさらに含む。炭水化物とコンジュゲートしたiRNAは、*in vivo*における核酸の送達、ならびに本明細書に記載の*in vivo*における治療的使用に適した組成物に有利である。本明細書で使用される場合、「炭水化物」は、それ自体が少なくとも6個の炭素原子を有し、各炭素原子に酸素、窒素もしくは硫黄原子が結合した1つもしくは複数の単糖単位（直鎖状、分枝、もしくは環状であってよい）で構成される炭水化物である化合物；または、それぞれが少なくとも6個の炭素原子を有し、各炭素原子に酸素、窒素または硫黄原子が結合した1つもしくは複数の単糖単位（直鎖状、分枝、または環状であってよい）で構成される炭水化物部分をその一部として有する化合物を指す。代表的な炭水化物としては、糖（単糖、二糖、三糖および約4個、約5個、約6個、約7個、約8個、または約9個の単糖単位を含有するオリゴ糖）、ならびにデンプン、グリコーゲン、セルロースおよび多糖ゴムなどの多糖が挙げられる。特定の単糖は、C5およびそれを上回る（例えば、C5、C6、C7、またはC8）糖を含み；二糖および三糖は、2つまたは3つの単糖単位を有する糖を含む（例えば、C5、C6、C7、またはC8）。

【0448】

一実施形態では、本発明の組成物および方法において使用するための炭水化物コンジュゲートは、以下からなる群から選択される：

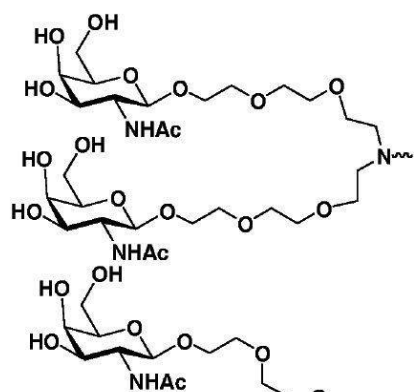
【化12】



式 II,

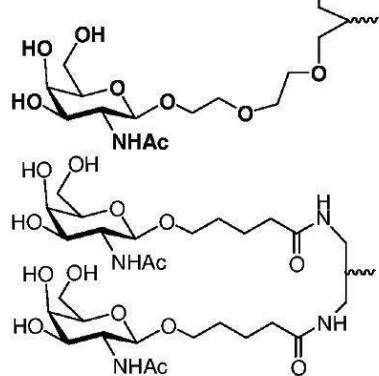
式 III,

【化 1 3】



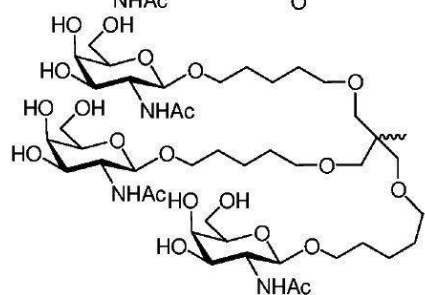
式 IV,

10

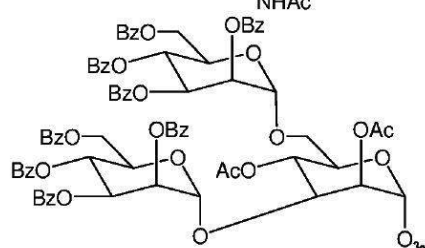


式 V,

20

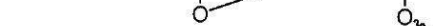


式 VI,



式 VII,

30

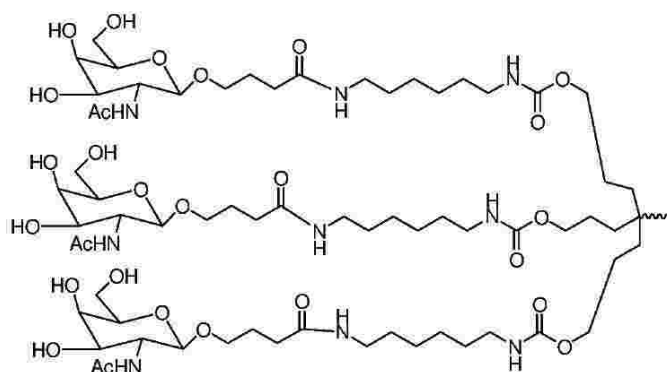


式 VIII,

40

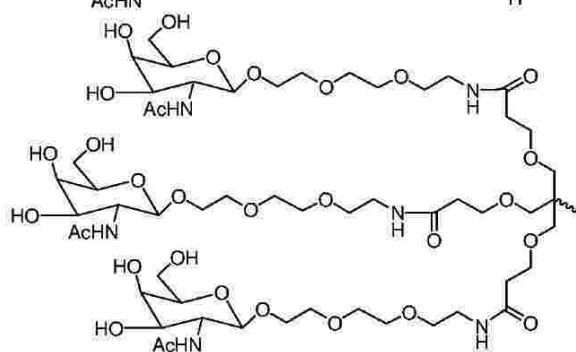
50

【化 1 4】



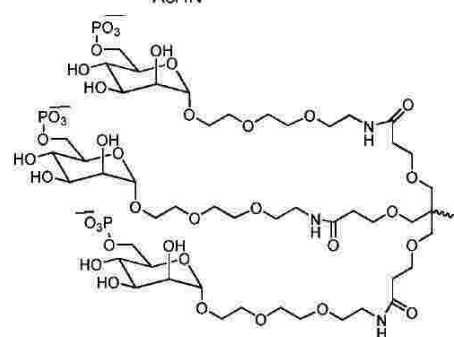
式 IX,

10



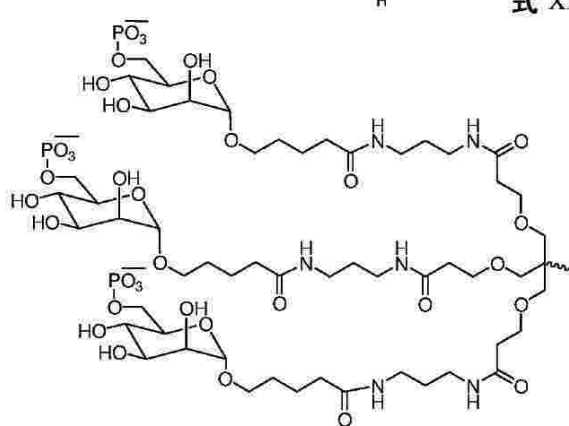
式 X,

20



式 XI,

30



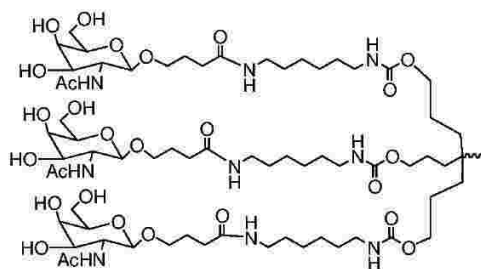
式 XII,

40

【 0 4 4 9 】

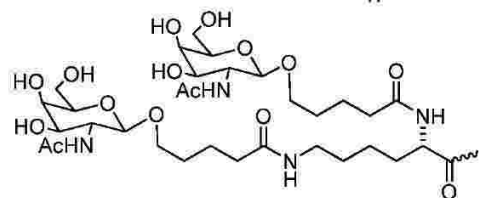
50

【化 1 5】

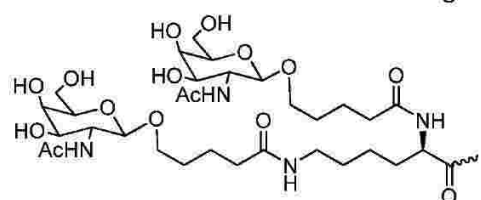


式 XIII,

10

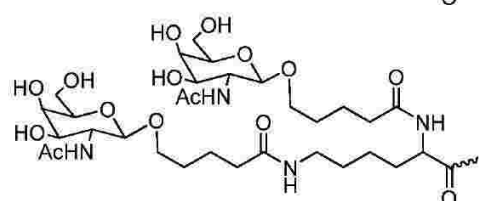


式 XIV,

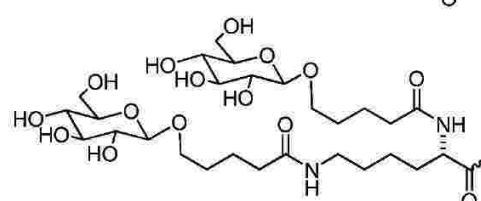


式 XV,

20

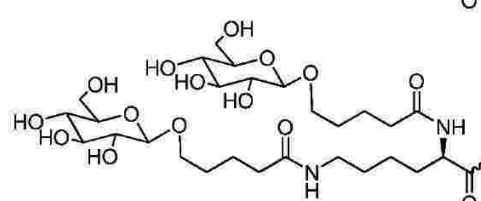


式 XVI,

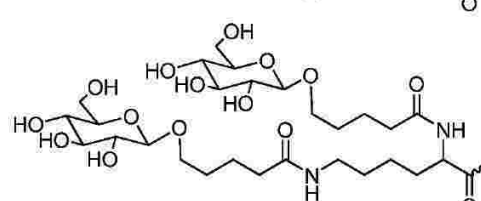


式 XVII,

30



式 XVIII,

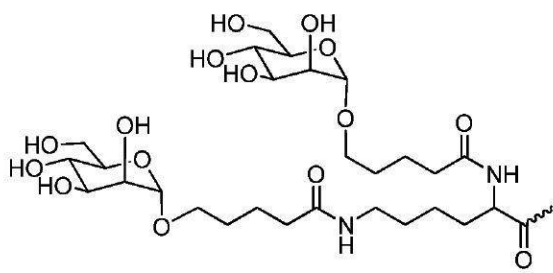


式 XIX,

40

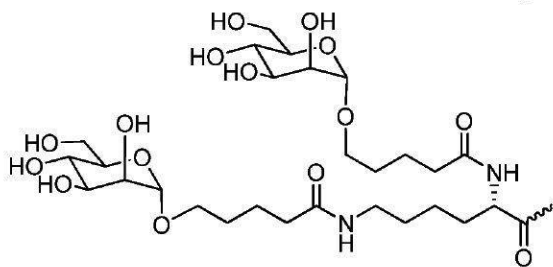
50

【化 16】

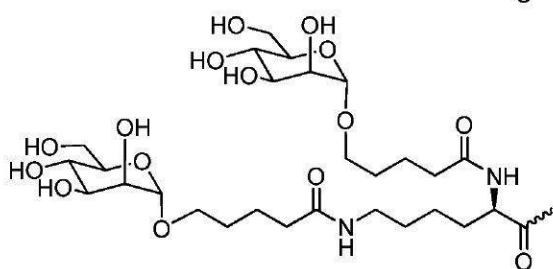


式 XX,

10

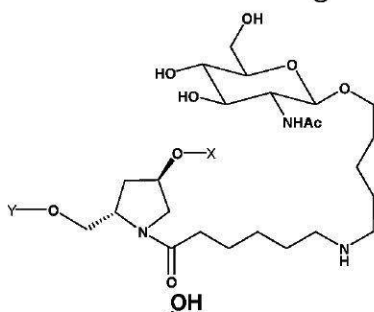


式 XXI,



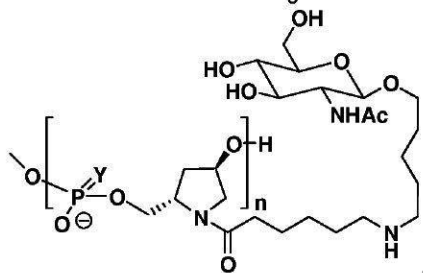
式 XXII,

20



式 XXIII;

30

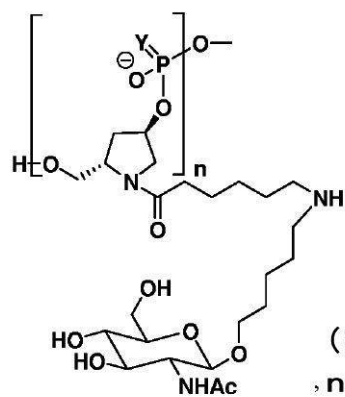
(式中、YはOまたはSであり、
nは3～6である)

(式 XXIV);

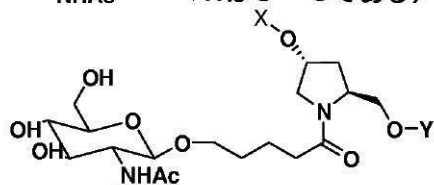
40

50

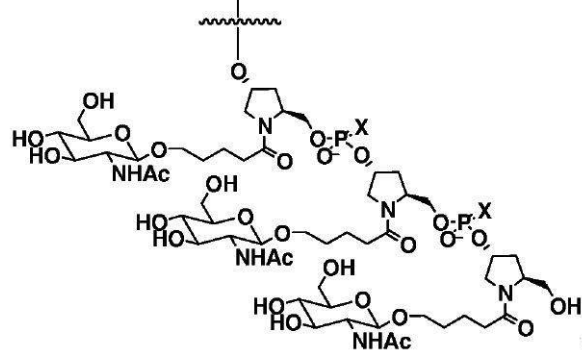
【化 17】



(式 XXV);



式 XXVI;



(式 XXVII);

式中、XはOまたはSである

10

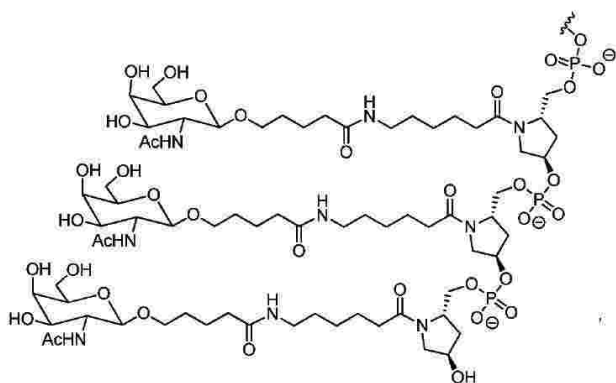
20

30

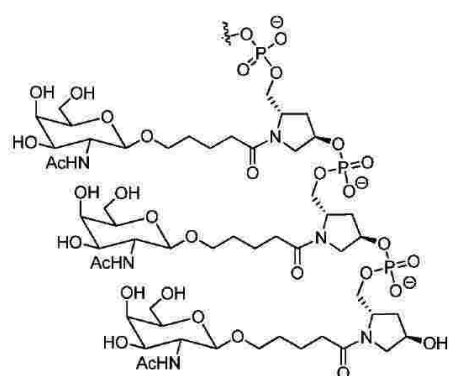
40

50

【化 1 8】



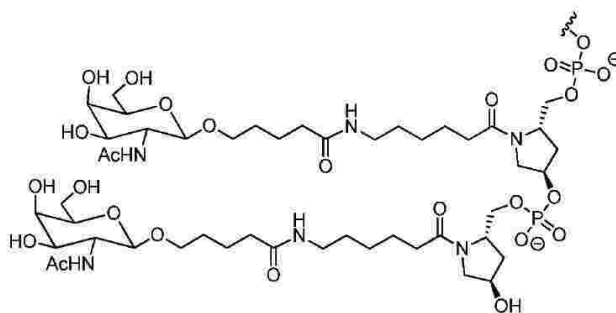
10



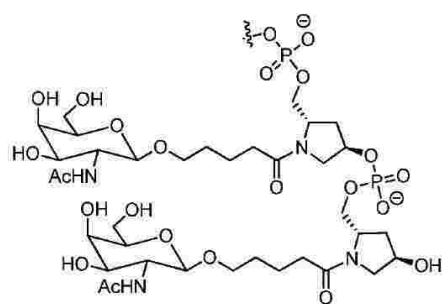
20

式 XXVIII; 式

XXIX;



30



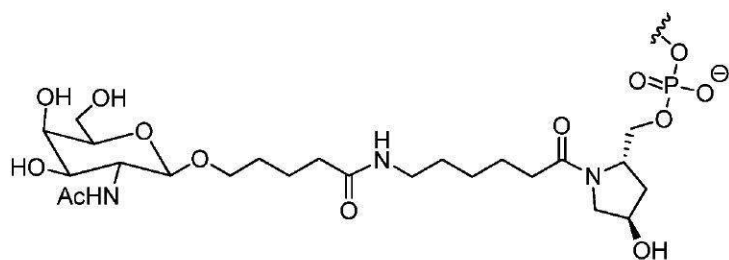
式 XXX;

40

50

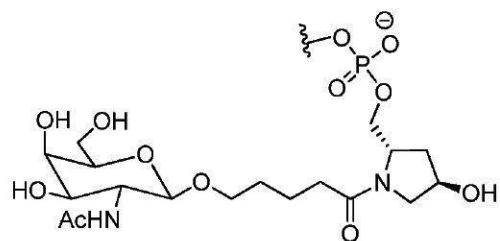
【化 19】

式 XXXI;



, および

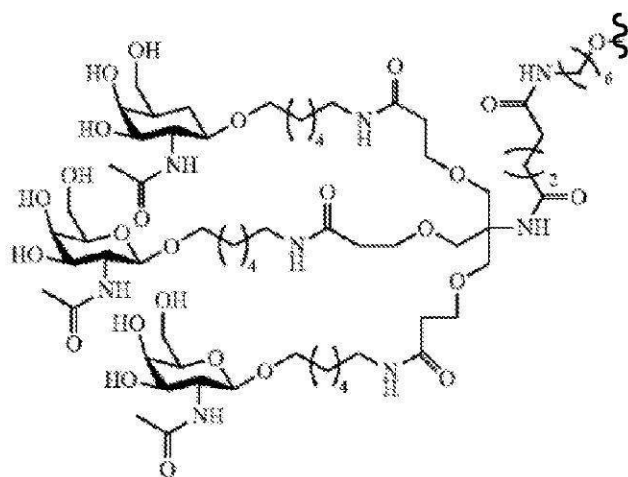
10



式 XXXII;

式 XXXIII.

20



式 XXXIV.

30

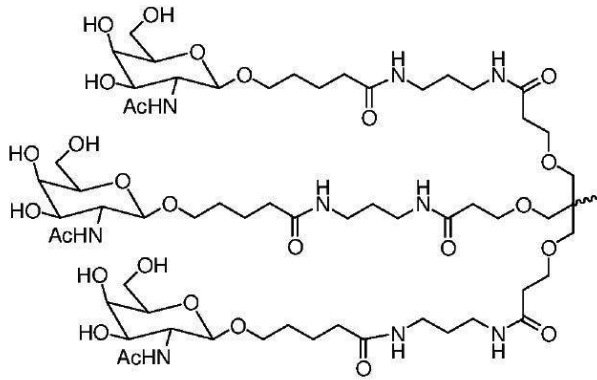
【0450】

別の実施形態では、本発明の組成物および方法において使用するための炭水化物コンジュゲートは、単糖である。一実施形態では、単糖は、

40

50

【化 2 0】



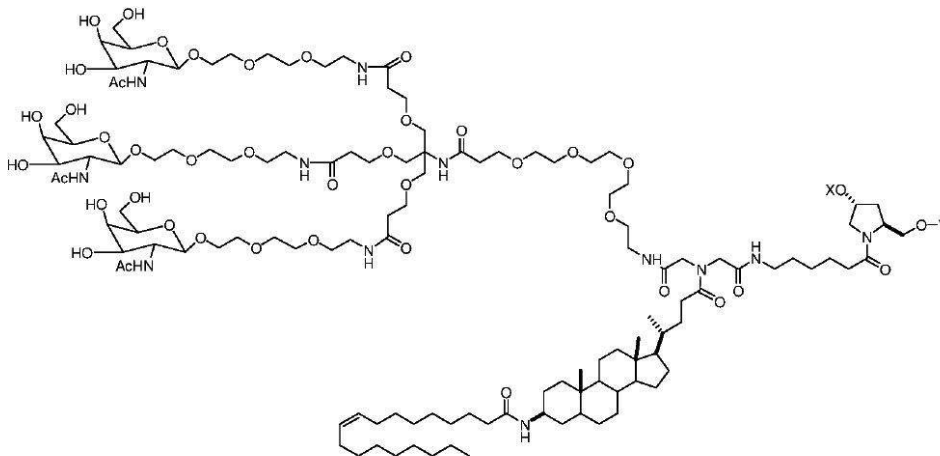
式 II.

などの N-アセチルガラクトサミンである。

【 0 4 5 1】

本明細書に記載の実施形態において使用するための別の代表的な炭水化物コンジュゲートとしては、これだけに限定されないが、

【化 2 1】



(式 XXXVI),

(X または Y の一方がオリゴヌクレオチドである場合、他方は水素である) が挙げられる。

【 0 4 5 2】

本発明のある特定の実施形態では、GalNAc または GalNAc 誘導体は、本発明の iRNA 作用剤に一価リンカーを介して付着している。一部の実施形態では、GalNAc または GalNAc 誘導体は、本発明の iRNA 作用剤に二価リンカーを介して付着している。本発明のさらに他の実施形態では、GalNAc または GalNAc 誘導体は、本発明の iRNA 作用剤に三価リンカーを介して付着している。

【 0 4 5 3】

一実施形態では、本発明の二本鎖 RNA i 作用剤は、本明細書に記載の iRNA 作用剤、例えば、dsRNA 作用剤のセンス鎖の 3' または 5' 末端に付着した 1 つの GalNAc または GalNAc 誘導体を含む。別の実施形態では、本発明の二本鎖 RNA i 作用剤は、二本鎖 RNA i 作用剤の複数のヌクレオチドに複数の一価リンカーを通じてそれぞれ独立に付着した複数 (例えば、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、または 6 つ) の GalNAc または GalNAc 誘導体を含む。

【 0 4 5 4】

一部の実施形態では、例えば、本発明の iRNA 作用剤の 2 つの鎖が、一方の鎖の 3' 末端とそれぞれ他方の鎖の 5' 末端の間で中断されていないヌクレオチドの鎖によって接続

し、複数の対合していないヌクレオチドを含むヘアピンループを形成する1つのより大きな分子の一部である場合、ヘアピンループ内の対合していないヌクレオチドはそれぞれが独立に、一価リンカーを介して付着したGalNAcまたはGalNAc誘導体を含んでよい。

【0455】

一部の実施形態では、炭水化物コンジュゲートは、これだけに限定されないが、PKモジュレーターおよび／または細胞透過ペプチドなどの上記の1つまたは複数の追加的なリガンドをさらに含む。

【0456】

本発明における使用に適した追加的な炭水化物コンジュゲート（およびリンカー）としては、そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれるPCT公開第WO2014/179620号および同第WO2014/179627号に記載されているものが挙げられる。

D. リンカー

【0457】

一部の実施形態では、本明細書に記載のコンジュゲートまたはリガンドをiRNAオリゴヌクレオチドに、切断可能なものであっても切断不可能なものであってもよい種々のリンカーを用いて付着させることができる。

【0458】

「リンカー」または「連結基」という用語は、化合物の2つの部分を接続する、例えば、化合物の2つの部分を共有結合により付着させる有機部分を意味する。リンカーは、一般には、直接結合または酸素もしくは硫黄などの原子、NR₈、C(O)、C(O)NH、SO、SO₂、SO₂NHなどの単位、またはこれだけに限定されないが、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、置換もしくは非置換アルキニル、アリールアルキル、アリールアルケニル、アリールアルキニル、ヘテロアリールアルキル、ヘテロアリールアルケニル、ヘテロアリールアルキニル、ヘテロシクリルアルキル、ヘテロシクリルアルケニル、ヘテロシクリルアルキニル、アリール、ヘテロアリール、ヘテロシクリル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アルキルアリールアルキル、アルキルアリールアルケニル、アルキルアリールアルキニル、アルケニルアリールアルキル、アルケニルアリールアルケニル、アルケニルアリールアルキニル、アルキニルアリールアルキル、アルキニルアリールアルケニル、アルキニルアリールアルキニル、アルキルヘテロアリールアルキル、アルキルヘテロアリールアルケニル、アルキルヘテロアリールアルキニル、アルケニルヘテロアリールアルキル、アルケニルヘテロアリールアルケニル、アルケニルヘテロアリールアルキニル、アルキニルヘテロアリールアルキル、アルキニルヘテロアリールアルケニル、アルキニルヘテロアリールアルキニル、アルキルヘテロシクリルアルキル、アルキルヘテロシクリルアルケニル、アルキルヘテロシクリルアルキニル (alkynylheterocyclalkynyl)、アルケニルヘテロシクリルアルキル、アルケニルヘテロシクリルアルケニル、アルケニルヘテロシクリルアルキニル、アルキニルヘテロシクリルアルキル、アルキニルヘテロシクリルアルケニル、アルキニルヘテロシクリルアルキニル、アルキルアリール、アルケニルアリール、アルキニルアリール、アルキルヘテロアリール、アルケニルヘテロアリール、アルキニルヘテロアリール (alkynylheteroaryl) などの原子鎖を含み、1つまたは複数のメチレンがO、S、S(O)、SO₂、N(R₈)、C(O)、置換もしくは非置換アリール、置換もしくは非置換ヘテロアリール、置換もしくは非置換複素環式によって中断または終結されていてもよく；R₈は、水素、アシル、脂肪族または置換脂肪族である。一実施形態では、リンカーは、約1～24個の原子、2～24個、3～24個、4～24個、5～24個、6～24個、6～18個、7～18個、8～18個の原子、7～17個、8～17個、6～16個、7～17個、または8～16個の原子である。

【0459】

切断可能な連結基とは、細胞の外部では十分に安定であるが、標的細胞に進入すると、

切断されてリンカーが合わせて保持していた2つの部分を放出する連結基である。好ましい実施形態では、切断可能な連結基は、標的細胞内または第1の参照条件下（例えば、細胞内条件を模倣するまたは表すように選択することができる）では、対象の血液中または第2の参照条件下（例えば、血液または血清中で見いだされる条件を模倣するまたは表すように選択することができる）よりも少なくとも約10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍もしくはそれよりも大きな、または少なくとも約100倍の速さで切断される。

【0460】

切断可能な連結基は、切断作用因子、例えば、pH、酸化還元電位または分解性分子の存在の影響を受けやすい。一般に、切断作用因子は、細胞の内部において血清または血液中よりも広くいきわたっているまたはより高いレベルもしくは活性で見いだされる。そのような分解性作用因子の例としては、例えば酸化的もしくは還元的酵素を含めた特定の基質に対して選択されるもしくは基質特異性を有さない酸化還元因子、または、酸化還元で切断可能な連結基を還元によって分解することができる、細胞内に存在するメルカプタンなどの還元因子；エステラーゼ；エンドソーム、または酸性環境を創出することができる作用因子、例えば、pH5もしくはそれ未満をもたらす作用因子；一般酸、ペプチダーゼ（基質特異的なものであってよい）、およびホスファターゼとして作用することにより、酸により切断可能な連結基を加水分解もしくは分解することができる酵素が挙げられる。

【0461】

ジスルフィド結合などの切断可能な連結基は、pHの影響を受けやすいものであり得る。ヒト血清のpHは7.4であり、一方、細胞内pHの平均はわずかに低く、約7.1〜7.3にわたる。エンドソームは5.5〜6.0の範囲のより酸性のpHを有し、リソソームは約5.0のさらにいっそう酸性のpHを有する。いくつかのリンカーは、好ましいpHで切断され、それにより、リガンドからカチオン性脂質を細胞の内部に、または細胞の所望の区画中に放出する切断可能な連結基を有する。

【0462】

リンカーは、特定の酵素によって切断可能である切断可能な連結基を含み得る。リンカーに組み入れられる切断可能な連結基の型は、標的とされる細胞に依存し得る。例えば、肝臓を標的とするリガンドは、エステル基を含むリンカーを通じてカチオン性脂質と連結することができる。肝細胞ではエステラーゼが豊富であり、したがって、当該リンカーは肝細胞においてエステラーゼが豊富でない細胞型よりも効率的に切断される。エステラーゼが豊富な他の細胞型としては、肺、腎臓皮質、および精巣の細胞が挙げられる。

【0463】

肝細胞および滑膜細胞などのペプチダーゼが豊富な細胞型を標的とする場合にはペプチド結合を含有するリンカーを使用することができる。

【0464】

一般に、候補の切断可能な連結基の適性は、分解性作用因子（または条件）の候補連結基を切断する能力を試験することによって評価することができる。候補の切断可能な連結基を、血液中でまたは他の非標的組織と接触した際の切断に抵抗する能力について試験することも望ましい。したがって、第1条件と第2の条件の間での相対的な切断の受けやすさを決定することができ、この場合、第1の条件は、標的細胞における切断が示されるように選択し、第2の条件は、他の組織または生体液、例えば、血液または血清における切断が示されるように選択する。評価は、無細胞系で、細胞内で、細胞培養下で、器官もしくは組織培養下で、または動物全体において行うことができる。無細胞または培養条件において最初の評価を行うこと、および動物全体においてさらなる評価によって確認することが有用であり得る。好ましい実施形態では、有用な候補化合物は、細胞内（または細胞内条件が模倣されるように選択された*in vitro*条件下）では、血液または血清（または細胞外条件が模倣されるように選択された*in vitro*条件下）と比較して少なくとも約2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または約100倍の速さで切断される。

i . 酸化還元で切断可能な連結基

【0465】

一実施形態では、切断可能な連結基は、還元または酸化時に切断される、酸化還元で切断可能な連結基である。還元的に切断可能な連結基の例は、ジスルフィド連結基（ $-S-S-$ ）である。候補の切断可能な連結基が適切な「還元的に切断可能な連結基」であるか、または、例えば、特定の *iRNA* 部分および特定の標的化作用剤と共に使用するのに適しているかどうかを決定するために、本明細書に記載の方法に頼ることができる。例えば、候補を、ジチオスレイトール（DTT）、または他の還元剤と一緒に、当技術分野で公知の試薬を使用してインキュベートし、それにより細胞、例えば、標的細胞内で観察されることになる切断速度を模倣することによって評価することができる。候補を血液または血清条件が模倣されるように選択された条件下で評価することもできる。一実施形態では、候補化合物は血液中で最大約10%切断される。他の実施形態では、有用な候補化合物は、細胞内（または細胞内条件が模倣されるように選択された *in vitro* 条件下）では、血液（または細胞外条件が模倣されるように選択された *in vitro* 条件下）と比較して少なくとも約2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90、または約100倍の速さで分解される。候補化合物の切断速度を細胞内環境が模倣されるように選択された条件下で標準の酵素カインेटクスアッセイを使用して決定し、細胞外環境が模倣されるように選択された条件と比較することができる。

10

【0466】

ii . リン酸に基づく切断可能な連結基

別の実施形態では、切断可能なリンカーは、リン酸に基づく切断可能な連結基を含む。リン酸に基づく切断可能な連結基は、リン酸基を分解するまたは加水分解する作用物質によって切断される。細胞内でリン酸基を切断する作用物質の例は、細胞内のホスファターゼなどの酵素である。リン酸に基づく連結基の例は、 $-O-P(O)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(SR_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(O)(OR_k)-S-$ 、 $-S-P(O)(OR_k)-S-$ 、 $-O-P(S)(OR_k)-S-$ 、 $-S-P(S)(OR_k)-O-$ 、 $-O-P(O)(R_k)-O-$ 、 $-O-P(S)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(S)(R_k)-O-$ 、 $-S-P(O)(R_k)-S-$ 、 $-O-P(S)(R_k)-S-$ 、 $-O-P(O)(OH)-O-$ 、 $-O-P(S)(OH)-O-$ 、 $-O-P(S)(SH)-O-$ 、 $-S-P(O)(OH)-O-$ 、 $-O-P(O)(OH)-S-$ 、 $-S-P(O)(OH)-S-$ 、 $-O-P(S)(OH)-S-$ 、 $-S-P(S)(OH)-O-$ 、 $-O-P(O)(H)-O-$ 、 $-O-P(S)(H)-O-$ 、 $-S-P(O)(H)-O-$ 、 $-S-P(S)(H)-O-$ 、 $-S-P(O)(H)-S-$ 、 $-O-P(S)(H)-S-$ である。好ましい実施形態は、 $-O-P(O)(OH)-O-$ である。これらの候補を、上記のものと類似した方法を使用して評価することができる。

20

30

iii . 酸により切断可能な連結基

【0467】

別の実施形態では、切断可能なリンカーは、酸により切断可能な連結基を含む。酸により切断可能な連結基は、酸性条件下で切断される連結基である。好ましい実施形態では、酸により切断可能な連結基は、pHが約6.5もしくはそれ未満（例えば、約6.0、5.75、5.5、5.25、5.0、もしくはそれ未満）である酸性環境において、または一般酸として作用し得る酵素などの作用物質によって切断される。細胞内では、エンドソームおよびリソソームなどの特定の低pH細胞小器官により、酸により切断可能な連結基の切断環境がもたらされ得る。酸により切断可能な連結基の例としては、これだけに限定されないが、ヒドラゾン、エステル、およびアミノ酸のエステルが挙げられる。酸により切断可能な基は、一般式 $-C=NN-$ 、 $C(O)O$ 、または $-OC(O)$ を有し得る。好ましい実施形態は、エステル（アルコキシ基）の酸素に付着した炭素がアリール基、置換アルキル基、または第三級アルキル基、例えば、ジメチルペンチルまたは α -ブチルな

40

50

どである場合である。これらの候補を、上記のものと類似した方法を使用して評価することができる。

【0468】

i v. エステルに基づく連結基

別の実施形態では、切断可能なリンカーは、エステルに基づく切断可能な連結基を含む。エステルに基づく切断可能な連結基は、細胞内のエステラーゼおよびアミダーゼなどの酵素によって切断される。エステルに基づく切断可能な連結基の例としては、これだけに限定されないが、アルキレン、アルケニレンおよびアルキニレン基のエステルが挙げられる。エステルである切断可能な連結基は、一般式 $-C(O)O-$ 、または $-OC(O)-$ を有する。これらの候補を、上記のものと類似した方法を使用して評価することができる。

10

v. ペプチドに基づく切断性基

【0469】

さらに別の実施形態では、切断可能なリンカーは、ペプチドに基づく切断可能な連結基を含む。ペプチドに基づく切断可能な連結基は、細胞内のペプチダーゼおよびプロテアーゼなどの酵素によって切断される。ペプチドに基づく切断可能な連結基は、アミノ酸間で形成されて、オリゴペプチド（例えば、ジペプチド、トリペプチドなど）およびポリペプチドをもたらすペプチド結合である。ペプチドに基づく切断可能な基は、アミド基 ($-C(O)NH-$) を含まない。アミド基は、任意のアルキレン、アルケニレンまたはアルキニレンの間で形成され得る。ペプチド結合は、アミノ酸間で形成されてペプチドおよびタンパク質をもたらす特別な型のアミド結合である。ペプチドに基づく切断基は、一般に、アミノ酸間で形成され、ペプチドおよびタンパク質をもたらすペプチド結合（すなわち、アミド結合）に限定され、アミド官能基全体は含まない。ペプチドに基づく切断可能な連結基は、一般式 $-NHCHRA C(O)NHCHRB C(O)-$ を有し、式中、RA および RB は2つの隣り合うアミノ酸のR基である。これらの候補を、上記のものと類似した方法を使用して評価することができる。

20

【0470】

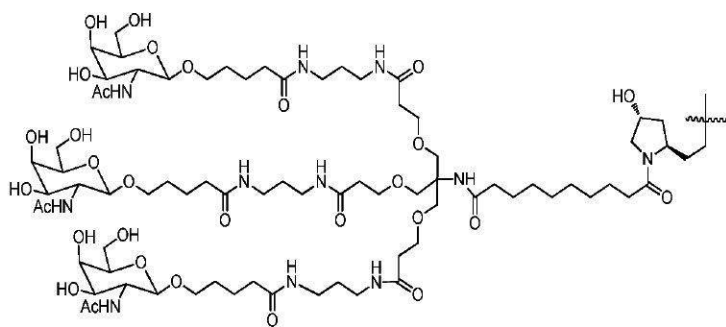
一実施形態では、本発明の iRNA は、リンカーを通じて炭水化物とコンジュゲートしている。本発明の組成物および方法のリンカーを伴う iRNA 炭水化物コンジュゲートの非限定的な例としては、これだけに限定されないが、

30

40

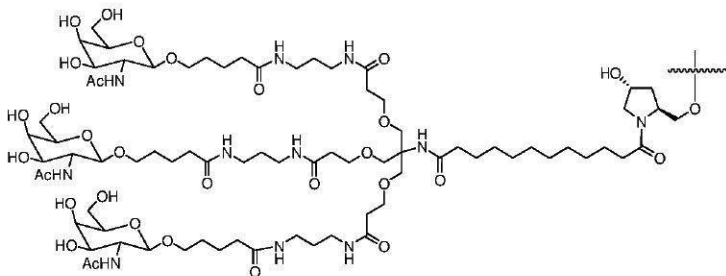
50

【化 2 2】



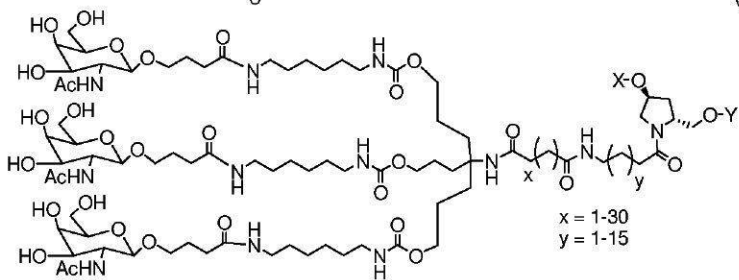
(式 XXXVII),

10



(式 XXXVIII),

20



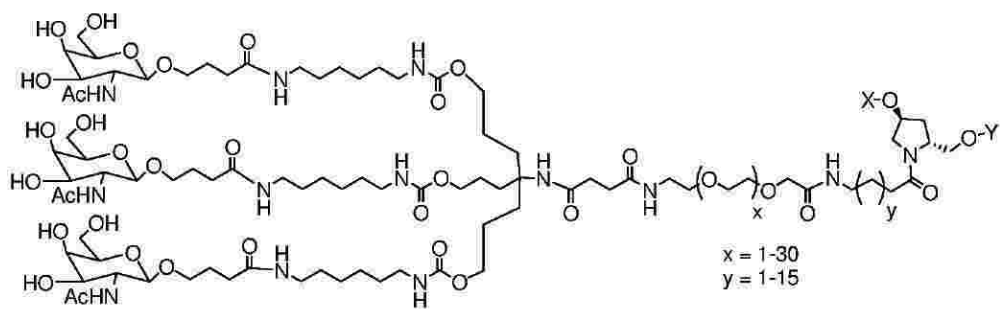
(式 XXXIX),

30

40

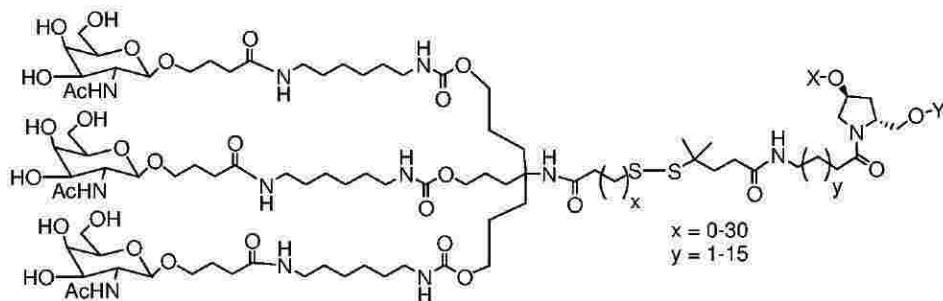
50

【化 2 3】



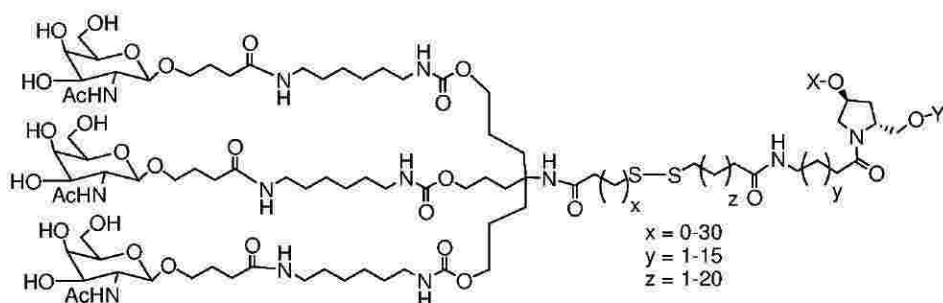
(式 XL),

10



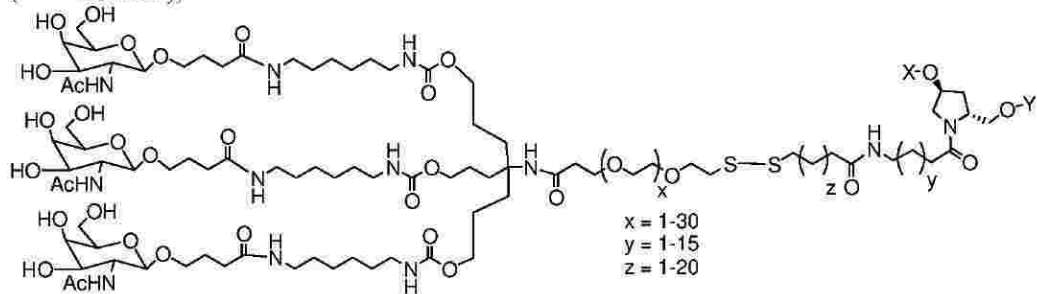
(式 XLI),

20



(式 XLII),

30

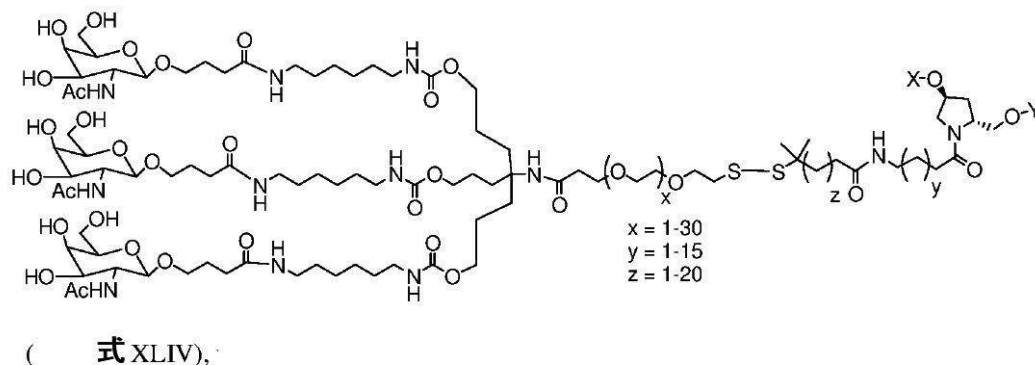


(式 XLIII), および

40

50

【化 2 4】



10

(X または Y の一方がオリゴヌクレオチドである場合、他方は水素である)
が挙げられる。

【0 4 7 1】

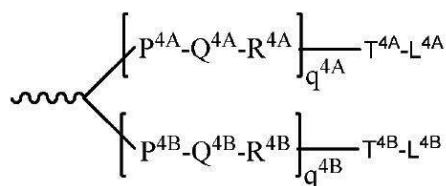
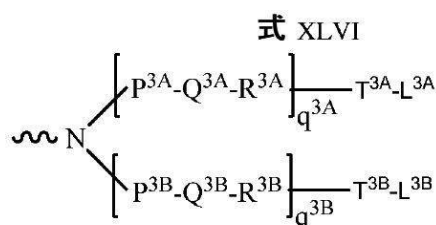
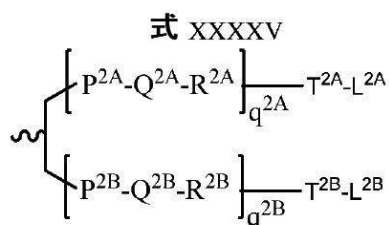
本発明の組成物および方法のある特定の実施形態では、リガンドは、二価または三価の分枝リンカーを通じて付着した1つまたは複数のGalNAc (N-アセチルガラクトサミン) 誘導体である。

【0 4 7 2】

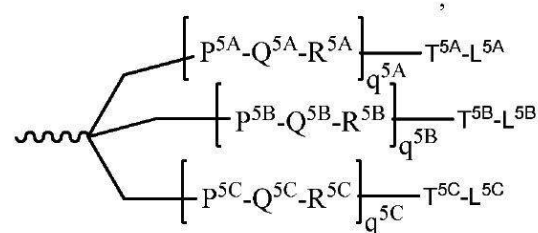
一実施形態では、本発明のdsRNAは、式(XLV) ~ (XLVI) のいずれかの構造の群から選択される二価または三価の分枝リンカーとコンジュゲートしている：

20

【化 2 5】



式 XLVII



式 XLVIII

30

(式中、

40

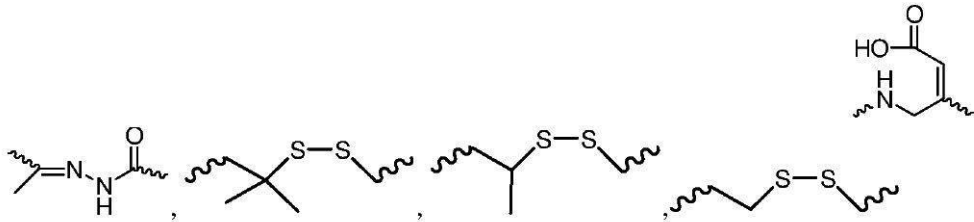
q_{2A} 、 q_{2B} 、 q_{3A} 、 q_{3B} 、 q_{4A} 、 q_{4B} 、 q_{5A} 、 q_{5B} および q_{5C} は、独立に、出現毎に、0 ~ 20 を表し、反復単位は同じであっても異なってもよく；

p_{2A} 、 p_{2B} 、 p_{3A} 、 p_{3B} 、 p_{4A} 、 p_{4B} 、 p_{5A} 、 p_{5B} 、 p_{5C} 、 T_{2A} 、 T_{2B} 、 T_{3A} 、 T_{3B} 、 T_{4A} 、 T_{4B} 、 T_{4A} 、 T_{5B} 、 T_{5C} はそれぞれ独立に、出現毎に、存在しない、CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、CH₂、CH₂NH または CH₂O であり；

Q_{2A} 、 Q_{2B} 、 Q_{3A} 、 Q_{3B} 、 Q_{4A} 、 Q_{4B} 、 Q_{5A} 、 Q_{5B} 、 Q_{5C} は、独立に、出現毎に、存在しない、アルキレン、置換アルキレンであり、1つまたは複数のメチレンが O、S、S(O)、SO₂、N(R^N)、C(R')=C(R'')、C≡C または C(O) の1つまたは複数によって中断または終結されていてよく；

50

R^{2A} 、 R^{2B} 、 R^{3A} 、 R^{3B} 、 R^{4A} 、 R^{4B} 、 R^{5A} 、 R^{5B} 、 R^{5C} はそれぞれ独立に、出現毎に、存在しない、 NH 、 O 、 S 、 CH_2 、 $C(O)O$ 、 $C(O)NH$ 、 NHC 、 $H(R^a)C(O)$ 、 $-C(O)-CH(R^a)-NH-$ 、 CO 、 $CH=N-O$ 、
【化26】

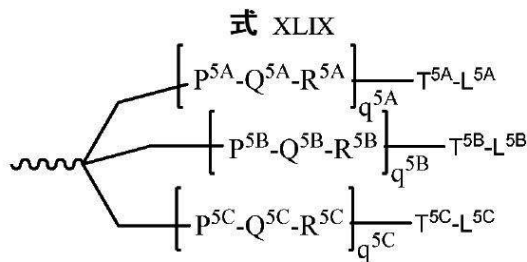


10

またはヘテロシクリルであり；

L^{2A} 、 L^{2B} 、 L^{3A} 、 L^{3B} 、 L^{4A} 、 L^{4B} 、 L^{5A} 、 L^{5B} および L^{5C} はリガンドを表す；すなわち、それぞれ独立に、出現毎に、単糖（例えば、 $GalNAc$ など）、二糖、三糖、四糖、オリゴ糖、または多糖を表し； R^a は、 H またはアミノ酸の側鎖である。標的遺伝子の発現を阻害するための $RNAi$ 作用剤との使用には、式（ $XLIX$ ）：

【化27】



20

（式中、 L^{5A} 、 L^{5B} および L^{5C} は、 $GalNAc$ 誘導体などの単糖を表す）のものなどの三価のコンジュゲート性 $GalNAc$ 誘導体が特に有用である。

【0473】

$GalNAc$ 誘導体をコンジュゲートする適切な二価および三価の分枝リンカー基の例としては、これだけに限定されないが、上で式II、VII、XI、X、およびXIIIとして記載されている構造が挙げられる。

30

【0474】

RNA コンジュゲートの調製を教示している代表的な米国特許としては、これだけに限定されないが、米国特許第4,828,979号；同第4,948,882号；同第5,218,105号；同第5,525,465号；同第5,541,313号；同第5,545,730号；同第5,552,538号；同第5,578,717号、同第5,580,731号；同第5,591,584号；同第5,109,124号；同第5,118,802号；同第5,138,045号；同第5,414,077号；同第5,486,603号；同第5,512,439号；同第5,578,718号；同第5,608,046号；同第4,587,044号；同第4,605,735号；同第4,667,025号；同第4,762,779号；同第4,789,737号；同第4,824,941号；同第4,835,263号；同第4,876,335号；同第4,904,582号；同第4,958,013号；同第5,082,830号；同第5,112,963号；同第5,214,136号；同第5,082,830号；同第5,112,963号；同第5,214,136号；同第5,245,022号；同第5,254,469号；同第5,258,506号；同第5,262,536号；同第5,272,250号；同第5,292,873号；同第5,317,098号；同第5,371,241号、同第5,391,723号；同第5,416,203号、同第5,451,463号；同第5,510,475号；同第5,512,667号；同第5,514,785号；同第5,565,552号；同第5,567,810号；同第5,574,142号；同第5,585

40

50

、481号；同第5、587、371号；同第5、595、726号；同第5、597、696号；同第5、599、923号；同第5、599、928号および同第5、688、941号；同第6、294、664号；同第6、320、017号；同第6、576、752号；同第6、783、931号；同第6、900、297号；同第7、037、646号；同第8、106、022号が挙げられ、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる。

【0475】

所与の化合物の全ての位置が一様に修飾されている必要はなく、実際は、上述の修飾の1つよりも多くがiRNAの単一の化合物、またはさらには単一のヌクレオシドに組み入れられていてよい。本発明は、キメラ化合物であるiRNA化合物も含む。

【0476】

「キメラ」iRNA化合物または「キメラ」は、本発明に関しては、それぞれが少なくとも1つの単量体単位、すなわち、dsRNA化合物の場合ではヌクレオチドで構成される2つまたはそれよりも多くの化学的に別個の領域を含有するiRNA化合物、好ましくはdsRNAである。これらのiRNAは、一般には、少なくとも1つの領域を含有し、iRNAにヌクレアーゼ分解に対する抵抗性の増大、細胞内取り込みの増大、および／または標的核酸に対する結合親和性の増大が付与されるようにRNAが修飾されている。iRNAの追加的な領域がRNA:DNAまたはRNA:RNAハイブリッドを切断することができる酵素の基質としての機能を果し得る。例として、RNase Hは、RNA:DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞内エンドヌクレアーゼである。したがって、RNase Hの活性化の結果、RNA標的の切断がもたらされ、それにより、遺伝子発現のiRNAによる阻害の効率が著しく増強される。したがって、キメラdsRNAを使用した場合、同じ標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシdsRNAと比較して、より短いiRNAを用いて同等の結果を得ることができることが多い。RNA標的の切断は、ゲル電気泳動、および必要であれば、関連する当技術分野で公知の核酸ハイブリダイゼーション技法によって常套的に検出することができる。

【0477】

ある特定の例では、iRNAのRNAは、非リガンド基によって修飾されていてよい。iRNAの活性、細胞分布または細胞内取り込みを増強するためにいくつかの非リガンド分子がiRNAにコンジュゲートされており、そのようなコンジュゲーションを実施するための手順は科学文献において入手可能である。そのような非リガンド部分には、脂質部分、例えば、コレステロール (Kubo, T. et al., Biochem. Biophys. Res. Comm., 2007, 365 (1): 54-61; Letsinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553)、コール酸 (Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4: 1053)、チオエーテル、例えば、ヘキシル-S-トリチルチオール (Manoharan et al., Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660: 306; Manoharan et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3: 2765)、チオコレステロール (Oberhauser et al., Nucl. Acids Res., 1992, 20: 533)、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオールもしくはウンデシル残基 (Saison-Behmoaras et al., EMBO J., 1991, 10: 111; Kabanov et al., FEBS Lett., 1990, 259: 327; Svinarchuk et al., Biokhimie, 1993, 75: 49)、リン脂質、例えば、ジ-ヘキサデシル-rac-グリセロールもしくはトリエチルアンモニウム1,2-ジ-オ-ヘキサデシル-rac-グリセロール-3-H-ホスホネート (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36: 3651; Shea et al., Nucl. Acids Res., 1990, 18: 3777)、ポリアミンもしくはポリエチレングリコール鎖 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14: 969)、またはアダマンタン酢酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36: 3651)、パルミチル部分 (Mishra et al., Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264: 229)、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分 (Crooke et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277: 923) などが含まれている。そのようなRNAコンジュゲートの調製を教示してい

10

20

30

40

50

る代表的な米国特許は上に列挙されている。典型的なコンジュゲーションプロトコールは、配列の1つまたは複数の位置にアミノリンカーを有するRNAの合成を伴う。次いで、アミノ基を、コンジュゲートしようとする分子と、妥当なカップリングまたは活性化試薬を使用して反応させる。コンジュゲーション反応は、固体支持体になお結合しているRNAを用いてか、またはRNAの切断後に液相において実施することができる。一般にはHPLCによるRNAコンジュゲートの精製により純粋なコンジュゲートがもたらされる。

IV. 本発明のiRNAの送達

【0478】

本発明のiRNAの、細胞、例えば、ヒト対象（例えば、脂質代謝の障害を有する対象などの、それを必要とする対象）などの対象内の細胞への送達は、いくつかの異なるやり方で実現することができる。例えば、送達は、細胞を本発明のiRNAと*in vitro*または*in vivo*のいずれかで接触させることによって実施することができる。*in vivo*における送達はまた、iRNA、例えばdsRNAを含む組成物を対象に投与することによって直接実施することもできる。あるいは、*in vivo*における送達は、iRNAをコードし、その発現を方向付ける1つまたは複数のベクターを投与することによって間接的に実施することができる。これらの代替を以下でさらに考察する。

【0479】

一般に、核酸分子を送達する(*in vitro*または*in vivo*)任意の方法を本発明のiRNAとの使用に適合させることができる(例えば、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれるAkhtar S. and Julian RL., (1992) Trends Cell. Biol. 2 (5): 139-144およびWO94/02595を参照されたい)。*in vivo*における送達に関しては、iRNA分子を送達するために考慮すべき因子としては、例えば、送達される分子の生物学的安定性、非特異的な影響の防止、および標的組織における送達された分子の蓄積が挙げられる。iRNAの非特異的な影響は、局所投与によって、例えば、組織に直接注射するもしくは埋め込むこと、または調製物を局所的に投与することによって最小化することができる。処置部位への局所投与により、作用剤の局所的濃度が最大になり、そうでなければ作用剤によって害される可能性があるまたは作用剤を分解する可能性がある作用剤の全身組織への曝露が限定され、また、投与されるiRNA分子の総用量をより少なくすることが可能になる。いくつかの研究により、iRNAを局所的に投与した場合に遺伝子産物が上首尾にノックダウンされることが示されている。例えば、カニクイザルにおける硝子体内注射によるVEGF dsRNAの眼内送達(Tolentino, MJ. et al., (2004) Retina 24: 132-138)およびマウスにおける網膜下注射によるVEGF dsRNAの眼内送達(Reich, SJ. et al. (2003) Mol. Vis. 9: 210-216)のどちらによっても、加齢黄斑変性症の実験モデルにおける血管新生が防止されることが示されている。さらに、マウスにおけるdsRNAの直接腫瘍内注射により、腫瘍体積が低下し(Pille, J. et al. (2005) Mol. Ther. 11: 267-274)、腫瘍を有するマウスの生存を延長することができる(Kim, WJ. et al., (2006) Mol. Ther. 14: 343-350; Li, S. et al., (2007) Mol. Ther. 15: 515-523)。RNA干渉は、直接注射によるCNSへの局所送達を用いた成功(Dorn, G. et al., (2004) Nucleic Acids 32: e49; Tan, PH. et al. (2005) Gene Ther. 12: 59-66; Makimura, H. et al. (2002) BMC Neurosci. 3: 18; Shishkina, GT., et al. (2004) Neuroscience 129: 521-528; Thakker, ER., et al. (2004) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 101: 17270-17275; Akaneya, Y., et al. (2005) J. Neurophysiol. 93: 594-602)および鼻腔内投与による肺への局所送達を用いた成功(Howard, KA. et al., (2006) Mol. Ther. 14: 476-484; Zhang, X. et al., (2004) J. Biol. Chem. 279: 10677-10684; Bitko, V. et al., (2005) Nat. Med. 11: 50-55)も示されている。疾患を処置するためにiRNAを全身投与することに関しては、RNAを修飾すること、あるいは、薬物送達システムを使用して送達することができる; どちらの方法も、*in vivo*におけるエンドヌクレアーゼおよびエキソヌクレアーゼによるdsRNAの迅速な分解が防止されるように作用する。RNAまたは医薬担

10

20

30

40

50

体の修飾により、iRNA組成物を標的組織にターゲティングすることを可能にし、望ましくないオフターゲットの効果を回避することもできる。iRNA分子をコレステロールなどの親油基との化学的コンジュゲーションによって修飾して、細胞内取り込みを増強し、分解を防止することができる。例えば、親油性コレステロール部分とコンジュゲートした、ApoBを対象とするiRNAをマウスに全身注射し、その結果、肝臓および空腸の両方におけるapoB mRNAのノックダウンがもたらされた (Soutschek, J. et al., (2004) Nature 432: 173-178)。iRNAとアプタマーのコンジュゲーションにより、前立腺がんのマウスモデルにおける腫瘍成長が阻害され、腫瘍退縮が媒介されることが示されている (McNamara, JO. et al., (2006) Nat. Biotechnol. 24: 1005-1015)。代替の実施形態では、ナノ粒子、デンドリマー、ポリマー、リポソーム、またはカチオン性送達系などの薬物送達システムを使用してiRNAを送達することができる。正に荷電したカチオン性送達系により、iRNA分子（負に荷電した）の結合が容易になり、また、負に荷電した細胞膜における相互作用が増強されて、細胞によるiRNAの効率的な取り込みが可能になる。カチオン性脂質、デンドリマー、もしくはポリマーをiRNAに結合させること、またはiRNAを包む小胞もしくはミセルを形成するように誘導することができる（例えば、Kim SH. et al., (2008) Journal of Controlled Release 129 (2): 107-116を参照されたい）。小胞またはミセルの形成により、全身投与した場合のiRNAの分解がさらに防止される。カチオン性iRNA複合体を作製し、投与する方法は当業者の能力の範囲内に十分に入る（例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれるSorensen, DR., et al. (2003) J. Mol. Biol 327: 761-766; Verma, UN. et al., (2003) Clin. Cancer Res. 9: 1291-1300; Arnold, AS et al., (2007) J. Hypertens. 25: 197-205を参照されたい）。iRNAの全身送達に有用な薬物送達システムのいくつかの非限定的な例としては、DOTAP (Sorensen, DR., et al (2003), supra; Verma, UN. et al., (2003), supra)、オリゴフェクタミン、「固体核酸脂質粒子」(Zimmermann, TS. et al., (2006) Nature 441: 111-114)、カルジオリピン (Chien, PY. et al., (2005) Cancer Gene Ther. 12: 321-328; Pal, A. et al., (2005) Int J. Oncol. 26: 1087-1091)、ポリエチレンイミン (Bonnet ME. et al., (2008) Pharm. Res. Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) J. Biomed. Biotechnol. 71659)、Arg-Gly-Asp (RGD) ペプチド (Liu, S. (2006) Mol. Pharm. 3: 472-487)、およびポリアミドアミン (Tomalia, DA. et al., (2007) Biochem. Soc. Trans. 35: 61-67; Yoo, H. et al., (1999) Pharm. Res. 16: 1799-1804) が挙げられる。一部の実施形態では、全身投与のためにiRNAはシクロデキストリンと複合体を形成する。iRNAおよびシクロデキストリンの投与方法および医薬組成物は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第7,427,605号に見いだすことができる。

A. 本発明のiRNAをコードするベクター

【0480】

HSD17B13遺伝子を標的とするiRNAは、DNAまたはRNAベクターに挿入された転写ユニットから発現させることができる（例えば、Couture, A, et al., TIG. (1996), 12: 5-10; Skillern, A., et al., 国際PCT公開第WO00/22113号、Conrad、国際PCT公開第WO00/22114号、およびConrad、米国特許第6,054,299号を参照されたい）。発現は、使用される特定の構築物および標的組織または細胞型に応じて一過性（およそ数時間～数週間）または持続的（数週間～数カ月またはそれよりも長い）であり得る。これらの導入遺伝子は、直鎖状構築物、環状プラスミド、または組込み型ベクターもしくは非組込み型ベクターであり得るウイルスベクターとして導入することができる。導入遺伝子は、遺伝性になるように染色体外プラスミドとして構築することもできる (Gassmann, et al., (1995) Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 92: 1292)。

【0481】

iRNAの個々の鎖を発現ベクター上のプロモーターから転写させることができる。例えばdsRNAを生成するために2つの別々の鎖を発現させる場合、2つの別々の発現ベクターを標的細胞に同時導入することができる（例えば、トランスフェクションまたは感染によって）。あるいは、dsRNAの個々の鎖それぞれを、両方が同じ発現プラスミド上に位置するプロモーターによって転写することができる。一実施形態では、dsRNAをリンカーポリヌクレオチド配列によって接合した逆方向反復ポリヌクレオチドとして発現させ、したがって、dsRNAはステム・ループ構造を有する。

【0482】

iRNA発現ベクターは、一般に、DNAプラスミドまたはウイルスベクターである。真核細胞と適合する発現ベクター、好ましくは脊椎動物細胞と適合する発現ベクターを使用して、本明細書に記載のiRNAを発現させるための組換え構築物を作成することができる。真核細胞発現ベクターが当技術分野で周知であり、いくつかの商業的な供給源から入手可能である。一般には、所望の核酸セグメントを挿入するための都合のよい制限部位を含有するそのようなベクターが提供される。iRNA発現性ベクターの送達は、全身性、例えば、静脈内または筋肉内投与によるものなど、患者から外植された標的細胞への投与、その後の患者への再導入によるもの、または、所望の標的細胞への導入を可能にする任意の他の手段であってよい。

【0483】

本明細書に記載の方法および組成物と共に利用することができるウイルスベクター系としては、これだけに限定されないが、(a) アデノウイルスベクター；(b) レンチウイルスベクター、モロニー Maus 白血病ウイルスなどを含むがこれだけに限定されないレトロウイルスベクター；(c) アデノ随伴ウイルスベクター；(d) 単純ヘルペスウイルスベクター；(e) SV40ベクター；(f) ポリオーマウイルスベクター；(g) パピローマウイルスベクター；(h) ピコルナウイルスベクター；(i) オルソボックス、例えば、ワクシニアウイルスベクター、またはアビボックス、例えば、カナリアボックスもしくは鶏痘などのボックスウイルスベクター；ならびに(j) ヘルパー依存性またはガットレスアデノウイルスが挙げられる。複製欠損ウイルスも有利であり得る。異なるベクターが細胞のゲノムに組み入れられるようになるまたはならない。構築物は、所望であれば、トランスフェクションのためのウイルス配列を含んでよい。あるいは、構築物を、エピソーム複製が可能なベクター、例えば、EPVおよびEBVベクターに組み入れることができる。iRNAの組換え発現のための構築物には、一般に、標的細胞におけるiRNAの発現を確実にするために、制御エレメント、例えば、プロモーター、エンハンサーなどが必要である。ベクターおよび構築物を考察するための他の態様が当技術分野で公知である。

V. 本発明の医薬組成物

【0484】

本発明は、本発明のiRNAを含む医薬組成物および製剤も含む。したがって、一実施形態では、肝細胞などの細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素13型(HSD17B13)の発現を阻害する二本鎖リボ核酸(dsRNA)作用剤であって、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖が、配列番号1のヌクレオチド配列からの1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖が、配列番号7のヌクレオチド配列からの1、2、または3ヌクレオチド以下が異なる少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む、dsRNA作用剤；および、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書に提示される。一部の実施形態では、dsRNA作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、センス鎖は、配列番号1のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含み、前記アンチセンス鎖は、配列番号7のヌクレオチド配列からの少なくとも15個の連続したヌクレオチドを含む。

【0485】

別の実施形態では、肝細胞などの細胞における17β-水酸化ステロイド脱水素酵素(HSD17B13)の発現を阻害するdsRNA作用剤であって、センス鎖とアンチセン

ス鎖とを含み、アンチセンス鎖が、表 2、3、7、8、10、11、または 13 のいずれか 1 つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか 1 つと 1、2、または 3 ヌクレオチド以下が異なる少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む相補性領域を含む、dsRNA 作用剤；および、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書に提示される。一部の実施形態では、dsRNA 作用剤は、センス鎖とアンチセンス鎖とを含み、アンチセンス鎖は、表 2、3、7、8、10、11、または 13 のいずれか 1 つに列挙されるアンチセンス配列のうちのいずれか 1 つからの少なくとも 15 個の連続したヌクレオチドを含む相補性領域を含む。

【0486】

本発明の iRNA を含有する医薬組成物は、HSD17B13 遺伝子の発現または活性に関連する疾患または障害、例えば、慢性線維炎症性疾患を処置するために有用である。

【0487】

そのような医薬組成物は、送達方式に基づいて製剤化される。1 つの例は、非経口送達による、例えば静脈内 (IV)、筋肉内 (IM) による全身投与用に、または皮下送達用に製剤化されている組成物である。別の例は、例えば連続ポンプ注入などによる肝臓への注入による肝臓への直接送達用に製剤化されている組成物である。本発明の医薬組成物は、HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するのに十分な投与量で投与することができる。一般に、本発明の iRNA の適切な用量は、1 日当たりレシピエントの体重 1 キログラム当たり約 0.001 ~ 約 200.0 ミリグラムの範囲内、一般に、1 日当たり体重 1 キログラム当たり約 1 ~ 50 mg の範囲内に入る。一般には、本発明の iRNA の適切な用量は、約 0.1 mg / kg ~ 約 5.0 mg / kg、好ましくは約 0.3 mg / kg ~ 約 3.0 mg / kg の範囲内に入る。

【0488】

反復投薬レジメンは、治療量の iRNA を定期的に、例えば、2 日に 1 回 ~ 1 年に 1 回などで投与することを含み得る。ある特定の実施形態では、iRNA を、およそ 1 週間に 1 回、7 ~ 10 日に 1 回、2 週間に 1 回、3 週間に 1 回、4 週間に 1 回、5 週間に 1 回、6 週間に 1 回、7 週間に 1 回、8 週間に 1 回、9 週間に 1 回、10 週間に 1 回、11 週間に 1 回、12 週間に 1 回、1 カ月に 1 回、2 カ月に 1 回、3 カ月に 1 回（四半期に 1 回）、4 カ月に 1 回、5 カ月に 1 回、または 6 カ月に 1 回投与する。

【0489】

最初の処置レジメンの後、処置をより低頻度で施行することができる。

【0490】

疾患または障害の重症度、以前の処置、対象の全体的な健康および / または年齢、ならびに存在する他の疾患を含むがこれだけに限定されない、ある特定の因子が、対象を有効に処置するために必要な投与量およびタイミングに影響を及ぼし得ることが当業者には理解されよう。さらに、対象を治療有効量の組成物を用いて処置することは、単回処置または一連の処置を含み得る。本発明に包含される個々の iRNA についての有効な投与量および in vivo 半減期の推定を、本明細書の他の箇所に記載の通り、従来する方法体系を使用して、または妥当な動物モデルを使用した in vivo における試験に基づいて行うことができる。

【0491】

マウス遺伝学の進歩により、HSD17B13 の発現の低減が有益であると予想される HSD17B13 に関連する疾患、障害、または状態などの種々のヒト疾患を研究するためのいくつかのマウスモデルが生成されてきた。そのようなモデルを、iRNA の in vivo における試験のため、ならびに治療有効用量を決定するために使用することができる。そのようなモデルを、iRNA の in vivo における試験のため、ならびに治療有効用量を決定するために使用することができる。適切なマウスモデルは当技術分野で公知であり、それらとして、例えば、高脂肪食 (HFD；西洋食とも称される)、メチオニン-コリン欠乏 (MCD) 食、または高脂肪 (15%)、高コレステロール (1%) 食 (HFHC) を摂食させたマウスおよびラット、肥満 (ob) 遺伝子に突然変異を含有す

10

20

30

40

50

る肥満 (ob/ob) マウス (Wiegman et al., (2003) Diabetes, 52: 1081-1089) ; LDL 受容体のホモ接合性ノックアウトを含有するマウス (LDLR^{-/-}マウス ; Ishibashi et al., (1993) J Clin Invest 92 (2): 883-893) ; 食餌誘導性アテローム性動脈硬化症マウスモデル (Ishida et al., (1991) J. Lipid. Res., 32: 559-568) ; ヘテロ接合性リポタンパク質リパーゼノックアウトマウスモデル (Weistock et al., (1995) J. Clin. Invest. 96 (6): 2555-2568) ; コリン欠乏、L-アミノ酸限定、高脂肪食 (CDAHFD) を摂食させたマウスおよびラット (Matsumoto et al. (2013) Int. J. Exp. Path. 94: 93-103) ; 高トランス脂肪、コレステロール食 (HTFC) を摂食させたマウスおよびラット (Clapper et al. (2013) Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 305: G483-G495) ; 高脂肪、高コレステロール、胆汁酸塩食 (HF/HC/BS) を摂食させたマウスおよびラット (Matsuzawa et al. (2007) Hepatology 46: 1392-1403) ; ならびに高脂肪食+フルクトース (30%) 水を摂食させたマウスおよびラット (Softic et al. (2018) J. Clin. Invest. 128 (1)-85-96) が挙げられる。

【0492】

本発明の医薬組成物は、局所的処置が望ましいのか全身処置が望ましいのかに基づいて、および処置される領域に基づいて、いくつかのやり方で投与することができる。投与は、局所的 (例えば、経皮吸収パッチによるもの)、肺へのもの、例えば、ネブライザーによるものを含めた、粉末またはエアロゾルの吸入または吹送によるもの ; 気管内、鼻腔内、表皮および経皮的、経口的または非経口的であり得る。非経口投与は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射もしくは注入 ; 皮下、例えば、埋め込まれたデバイスを介したもの ; または頭蓋内、例えば、実質内、髄腔内もしくは脳室内投与を含む。

【0493】

iRNA は、肝臓 (例えば、肝臓の肝細胞) などの特定の細胞または組織が標的とされる様式で送達することができる。

【0494】

一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、対象への筋肉内投与に適する。他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、対象への静脈内投与に適する。本発明の一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、例えば、29 g または 30 g の針を使用した対象への皮下投与に適する。

【0495】

本発明の医薬組成物は、生理食塩水または水などの緩衝化されていない溶液中、あるいはアセテート、シトレート、プロラミン、カーボネート、もしくはホスフェートまたはこれらの任意の組合せを含む緩衝溶液などの緩衝溶液中の本発明の RNAi 作用剤を含み得る。

【0496】

一実施形態では、例えば皮下投与に適した組成物などの本発明の医薬組成物は、リン酸緩衝食塩水 (PBS) 中の本発明の RNAi 作用剤を含む。PBS の適切な濃度としては、例えば、1 mM、1.5 mM、2 mM、2.5 mM、3 mM、3.5 mM、4 mM、4.5 mM、5 mM、6.5 mM、7 mM、7.5 mM、9 mM、8.5 mM、9 mM、9.5 mM、または約 10 mM の PBS が挙げられる。本発明の一実施形態では、本発明の医薬組成物は、約 5 mM の PBS (例えば、0.64 mM の NaH_2PO_4 、4.36 mM の Na_2HPO_4 、85 mM の NaCl) の溶液中に溶解させた本発明の RNAi 作用剤を含む。上記の範囲および値の中間の値も本発明の一部であることが意図されている。さらに、上記の値のいずれかの組合せを上限および/または下限として使用した値の範囲が含まれることが意図されている。

【0497】

本発明の医薬組成物の pH は、約 5.0 ~ 約 8.0、約 5.5 ~ 約 8.0、約 6.0 ~ 約 8.0、約 6.5 ~ 約 8.0、約 7.0 ~ 約 8.0、約 5.0 ~ 約 7.5、約 5.5 ~ 約 7.5、約 6.0 ~ 約 7.5、約 6.5 ~ 約 7.5、約 5.0 ~ 約 7.2、約 5.25

～約 7.2、約 5.5～約 7.2、約 5.75～約 7.2、約 6.0～約 7.2、約 6.5～約 7.2、または約 6.8～約 7.2 であり得る。上記の範囲および値の中間の範囲および値も本発明の一部であることが意図されている。

【0498】

本発明の医薬組成物の重量オスモル濃度は、例えば、約 400 mOsm/kg 以下、例えば、50 から 400 mOsm/kg の間、75 から 400 mOsm/kg の間、100 から 400 mOsm/kg の間、125 から 400 mOsm/kg の間、150 から 400 mOsm/kg の間、175 から 400 mOsm/kg の間、200 から 400 mOsm/kg の間、250 から 400 mOsm/kg の間、300 から 400 mOsm/kg の間、50 から 375 mOsm/kg の間、75 から 375 mOsm/kg の間、100 から 375 mOsm/kg の間、125 から 375 mOsm/kg の間、150 から 375 mOsm/kg の間、175 から 375 mOsm/kg の間、200 から 375 mOsm/kg の間、250 から 375 mOsm/kg の間、300 から 375 mOsm/kg の間、50 から 350 mOsm/kg の間、75 から 350 mOsm/kg の間、100 から 350 mOsm/kg の間、125 から 350 mOsm/kg の間、150 から 350 mOsm/kg の間、175 から 350 mOsm/kg の間、200 から 350 mOsm/kg の間、250 から 350 mOsm/kg の間、50 から 325 mOsm/kg の間、75 から 325 mOsm/kg の間、100 から 325 mOsm/kg の間、125 から 325 mOsm/kg の間、150 から 325 mOsm/kg の間、175 から 325 mOsm/kg の間、200 から 325 mOsm/kg の間、250 から 325 mOsm/kg の間、300 から 325 mOsm/kg の間、300 から 350 mOsm/kg の間、50 から 300 mOsm/kg の間、75 から 300 mOsm/kg の間、100 から 300 mOsm/kg の間、125 から 300 mOsm/kg の間、150 から 300 mOsm/kg の間、175 から 300 mOsm/kg の間、200 から 300 mOsm/kg の間、250 から 300 の間、50 から 250 mOsm/kg の間、75 から 250 mOsm/kg の間、100 から 250 mOsm/kg の間、125 から 250 mOsm/kg の間、150 から 250 mOsm/kg の間、175 から 350 mOsm/kg の間、200 から 250 mOsm/kg の間、例えば、約 50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195、200、205、210、215、220、225、230、235、240、245、250、255、260、265、270、275、280、285、295、300、305、310、320、325、330、335、340、345、350、355、360、365、370、375、380、385、390、395、または約 400 mOsm/kg など、皮下投与に適し得る。上記の範囲および値の中間の範囲および値も本発明の一部であることが意図されている。

【0499】

本発明の RNAi 作用剤を含む本発明の医薬組成物は、約 0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、または 2.0 mL の医薬組成物を含有するバイアル中に存在し得る。本発明の医薬組成物中の RNAi 作用剤の濃度は、約 10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、130、125、130、135、140、145、150、175、180、185、190、195、200、205、210、215、230、225、230、235、240、245、250、275、280、285、290、295、300、305、310、315、330、325、330、335、340、345、350、375、380、385、390、395、400、405、410、415、430、425、430、435、440、445、450、475、480、485、490、495、または約 500 mg/mL であり得る。一実施形態では、本発明の医薬組成物中の RNAi 作用剤の濃度は、約 100 mg/mL である。上記の範囲お

10

20

30

40

50

よび値の中間の値も本発明の一部であることが意図されている。

【0500】

本発明の医薬組成物は、本発明の dsRNA 作用剤を遊離酸の形態で含み得る。本発明の他の実施形態では、本発明の医薬組成物は、本発明の dsRNA 作用剤をナトリウム塩の形態などの塩の形態で含み得る。ある特定の実施形態では、本発明の dsRNA 作用剤がナトリウム塩の形態である場合、作用剤中に存在するリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の実質的に全てに対して対イオンとしてナトリウムイオンが作用剤中に存在する。リン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結の実質的に全てがナトリウム対イオンを有する作用剤は、ナトリウム対イオンを伴わないリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート連結を 5 個、4 個、3 個、2 個、または 1 個以下含む。一部の実施形態では、本発明の dsRNA 作用剤がナトリウム塩の形態である場合、作用剤中に存在するリン酸ジエステルおよび／またはホスホロチオエート基の全てに対して対イオンとしてナトリウムイオンが作用剤中に存在する。

10

【0501】

局所的投与用の医薬組成物および製剤としては、経皮吸収パッチ、軟膏剤、ローション剤、クリーム剤、ゲル剤、点滴剤、坐剤、噴霧剤、液剤および散剤を挙げることができる。従来の医薬担体、水性、粉末または油性基剤、増粘剤などが必要であるまたは望ましい場合がある。コーティングされたコンドーム、手袋なども有用であり得る。適切な局部用製剤としては、本発明において特徴付けられる iRNA を脂質、リポソーム、脂肪酸、脂肪酸エステル、ステロイド、キレート剤および界面活性物質などの局所的送達剤と混和させた製剤が挙げられる。適切な脂質およびリポソームとしては、中性（例えば、ジオレオイルホスファチジル D O P E エタノールアミン、ジミリストイルホスファチジルコリン D M P C、ジステアロイルホスファチジル (distearolyphosphatidyl) コリン）陰性（例えば、ジミリストイルホスファチジルグリセロール D M P G）およびカチオン性（例えば、ジオレオイルテトラメチルアミノプロピル D O T A P およびジオレオイルホスファチジルエタノールアミン D O T M A）が挙げられる。本発明において特徴付けられる iRNA は、リポソーム中に封入することができる、または、リポソーム、特にカチオン性リポソームと複合体を形成させることができる。あるいは、iRNA を、脂質、特にカチオン性脂質と複合体を形成させることができる。適切な脂肪酸およびエステルとしては、これだけに限定されないが、アラキドン酸、オレイン酸、エイコサン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン、ジラウリン、グリセリル 1-モノカプリン酸、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、アシルカルニチン、アシルコリン、または C₁~20 アルキルエステル（例えば、ミリスチン酸イソプロピル I P M）、モノグリセリド、ジグリセリドまたは薬学的に許容されるその塩が挙げられる。局部用製剤は、参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 6, 747, 014 号に詳しく記載されている。

20

30

A. 膜様分子アセンブリを含む iRNA 製剤

【0502】

本発明の組成物および方法において使用するための iRNA は、膜様分子アセンブリ、例えば、リポソームまたはミセルとして送達するために製剤化することができる。マイクロエマルジョンに加えて、薬物の製剤化のために研究され、使用されている多くの組織化された界面活性物質構造がある。これらとしては、単層、ミセル、二重層および小胞が挙げられる。リポソームなどの小胞には、薬物送達の観点からそれらによってもたらされる特異性および作用の持続時間が理由で大きな関心が寄せられている。本発明において使用される場合、「リポソーム」という用語は、球状二重層に配置された両親媒性脂質で構成される小胞を意味する。

40

【0503】

リポソームは、親油性物質で形成された膜および水性の内部を有する単層または多層小胞を含む。水性部分は、送達しようとする組成物（例えば、iRNA）を含有する。親油

50

性物質は水性の内部を水性の外部から隔離し、一般には iRNA 組成物を含まないが、一部の例では、iRNA 組成物を含む場合がある。カチオン性リポソームは、細胞壁と融合することができるという利点を有する。非カチオン性リポソームは、同じくらい効率的には細胞壁と融合することができないが、in vivo においてマクロファージによって取り込まれる。

【0504】

インタクトな哺乳動物の皮膚を横断するためには、脂質小胞が、それぞれ直径 50 nm 未満の一連の細孔を、適切な経皮勾配の影響の下で通過しなければならない。したがって、高度に変形可能であり、そのような細孔を通過することができるリポソームを使用することが望ましい。

10

【0505】

リポソームは、活性成分の作用部位への輸送および送達に有用である。リポソーム膜は生体膜と構造的に類似しているので、リポソームを組織に適用すると、リポソームは細胞膜と同化し始め、リポソームと細胞の同化が進行するにつれ、リポソームの内容物が細胞に流入し、そこで活性薬剤が作用し得る。

【0506】

リポソーム製剤は、多くの薬物の送達方式として広範囲にわたる調査の焦点になってきた。局所的投与に関して、リポソームにより他の製剤に対していくつかの利点が示されるというエビデンスが増えている。そのような利点としては、投与された薬物の全身吸収が高いことに関連する副作用の低減、投与された薬物の所望の標的への蓄積の増加、ならび

20

【0507】

いくつかの報告により、高分子量 DNA を含めた作用剤を皮膚に送達するリポソームの能力が詳述されている。鎮痛薬、抗体、ホルモンおよび高分子量 DNA を含めた化合物が皮膚に投与されている。大多数の適用の結果、表皮上層の標的化がもたらされた。

【0508】

iRNA 作用剤を含有するリポソームは、種々の方法によって調製することができる。一例では、リポソームの脂質成分を界面活性剤に溶解させ、その結果、脂質成分とのミセルを形成させる。例えば、脂質成分は、両親媒性カチオン性脂質または脂質コンジュゲートであってよい。界面活性剤は、高い臨界ミセル濃度を有してよく、非イオン性であってよい。例示的な界面活性剤としては、コール酸、CHAPS、オクチルグルコシド、デオキシコール酸、およびラウロイルサルコシンが挙げられる。次いで、iRNA 作用剤調製物を、脂質成分を含むミセルに添加する。脂質上のカチオン性基が iRNA 作用剤と相互作用し、iRNA 作用剤の周囲に凝縮してリポソームを形成する。凝縮後、界面活性剤を、例えば透析によって除去して、iRNA 作用剤のリポソーム調製物を得る。

30

【0509】

必要であれば、凝縮を補助する担体化合物を凝縮反応の間に、例えば、制御添加によって添加することができる。例えば、担体化合物は、核酸以外のポリマー（例えば、スペルミンまたはスペルミジン）であってよい。凝縮に有利になるように pH も調整することができる。

40

【0510】

ポリヌクレオチド／カチオン性脂質複合体を送達ビヒクルの構造的な構成要素として組み入れる、安定なポリヌクレオチド送達ビヒクルを作出するための方法は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる WO 96 / 37194 にさらに記載されている。リポソーム形成は、Felgner, P. L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 8: 7413-7417, 1987; 米国特許第 4, 897, 355 号; 米国特許第 5, 171, 678 号; Bangham, et al. M. Mol. Biol. 23: 238, 1965; Olson, et al. Biochim. Biophys. Acta 557: 9, 1979; Szoka, et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 75: 4194, 1978; Mayhew, et al. Biochim. Biophys. Acta 775: 169, 1984; Kim, et al. Biochim. Biophys. Acta 728: 339, 1983; および Fukunaga,

50

et al. *Endocrinol.* 115: 757, 1984に記載されている例示的な方法の1つまたは複数の態様も含み得る。送達ビヒクルとして使用するための妥当なサイズの脂質凝集体を調製するための一般に使用される技法としては、超音波処理、および凍結融解とそれに加えて押出しが挙げられる（例えば、Mayer, et al. *Biochim. Biophys. Acta* 858: 161, 1986を参照されたい）。一貫して小さく（50～200 nm）、比較的一様な凝集体が望ましい場合には、微量溶液操作を使用することができる（Mayhew, et al. *Biochim. Biophys. Acta* 775: 169, 1984）。これらの方法を、iRNA作用剤調製物をリポソーム中にパッケージングするために容易に適合させることができる。

【0511】

リポソームは、2つの広範なクラスに入る。カチオン性リポソームは、正に荷電したリポソームであり、負に荷電したDNA分子と相互作用して安定な複合体を形成する。正に荷電したDNA／リポソーム複合体は、負に荷電した細胞表面に結合し、エンドソームに内部移行する。エンドソーム内の酸性pHに起因して、リポソームが破裂し、それらの内容物が細胞質内に放出される（Wang et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985）。

【0512】

pH感受性であるまたは負に荷電したリポソームは、DNAと複合体を形成するのではなく、DNAを閉じ込める。DNAと脂質はどちらも同様に荷電しているので、複合体の形成ではなく反発が生じる。それにもかかわらず、あるDNAがこれらのリポソームの水性の内部に閉じ込められる。チミジンキナーゼ遺伝子をコードするDNAを培養下の細胞単層に送達するためにpH感受性リポソームが使用されている。標的細胞において外因性遺伝子の発現が検出された（Zhou et al., *Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274）。

【0513】

リポソーム組成物の1つの主要な型は、天然由来のホスファチジルコリン以外のリン脂質を含む。中性リポソーム組成物は、例えば、ジミリスチルホスファチジルコリン（DMPC）またはジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）から形成することができる。アニオン性リポソーム組成物は一般にジミリスチルホスファチジルグリセロールから形成され、一方、アニオン性融合性リポソームは主にジオレオイルホスファチジエタノールアミン（DOPE）から形成される。別の型のリポソーム組成物は、例えばダイズPCおよび卵PCなどのホスファチジルコリン（PC）から形成される。別の型は、リン脂質および／またはホスファチジルコリンおよび／またはコレステロールの混合物から形成される。

【0514】

*in vitro*および*in vivo*においてリポソームを細胞に導入するための他の方法の例としては、米国特許第5,283,185号および同第5,171,678号；WO94/00569；WO93/24640；WO91/16024；Felgner, J. *Biol. Chem.*269: 2550, 1994；Nabel, *Proc. Natl. Acad. Sci.*90: 11307, 1993；Nabel, *Human Gene Ther.* 3: 649, 1992；Gershon, *Biochem.*32: 7143, 1993；およびStrauss *EMBO J.*11: 417, 1992が挙げられる。

【0515】

非イオン性リポソーム系、特に非イオン界面活性物質およびコレステロールを含む系も、薬物の皮膚への送達におけるそれらの有用性を決定するために調査されている。シクロスポリン-Aをマウス皮膚の真皮に送達するためにNovasome（商標）I（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）およびNovasome（商標）II（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が使用された。結果から、そのような非イオン性リポソーム系が、シクロスポリン-Aの皮膚の異なる層への沈着を容易にすることに有効であることが示される（Hu et al. *S.T.P. Pharma. Sci.*, 1994, 4, 6, 466）。

【0516】

リポソームは、「立体的に安定化された」リポソームも含み、この用語は、本明細書で
使用される場合、リポソームに組み入れられると、そのような特殊化された脂質を欠くリ
ポソームと比べて循環寿命の増強をもたらす1つまたは複数の特殊化された脂質を含むリ
ポソームを指す。立体的に安定化されたリポソームの例は、リポソームの小胞を形成する
脂質部分の一部が、(A) モノシアロガングリオシド G_{M1} などの1つまたは複数の糖脂
質を含む、または(B) ポリエチレングリコール (PEG) 部分などの1つまたは複数の
親水性ポリマーで誘導体化されているリポソームである。いかなる特定の理論にも縛られ
ることを望むものではないが、当技術分野では、少なくとも、ガングリオシド、スフィン
ゴミエリン、またはPEG誘導体化脂質を含有する立体的に安定化されたリポソームに関
しては、これらの立体的に安定化されたリポソームの循環半減期の増強は、網内系 (RES)
の細胞への取り込みの減少に由来すると考えられている (Allen et al., FEBS Let
ters, 1987, 223, 42; Wu et al., Cancer Research, 1993, 53, 3765)。

10

【0517】

1つまたは複数の糖脂質を含む種々のリポソームが当技術分野で公知である。Papahadjopoulou et al. (Ann. N.Y. Acad. Sci., 1987, 507, 64) により、モノシアロ
ガングリオシド G_{M1} 、硫酸ガラクトセレブロシドおよびホスファチジルイノシトールの
リポソームの血中半減期を改善する能力が報告された。これらの所見は、Gabizon et al.
(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 1988, 85, 6949) によって詳しく説明された。
どちらもAllen et al.による米国特許第4, 837, 028号およびWO 88/049
24には、(1) スフィンゴミエリンおよび(2) ガングリオシド G_{M1} または硫酸ガラ
クトセレブロシドエステルを含むリポソームが開示されている。米国特許第5, 543,
152号 (Webb et al.) には、スフィンゴミエリンを含むリポソームが開示されてい
る。1, 2-sn-ジミリスチルホスファチジルコリンを含むリポソームがWO 97/
13499 (Lim et al) に開示されている。

20

【0518】

一部の実施形態では、カチオン性リポソームが使用される。カチオン性リポソームは、
細胞膜と融合することができるという利点を有する。非カチオン性リポソームは、原形質
膜と同じくらい効率的には融合することができないが、*in vivo*においてマクロファ
ージによって取り込まれ、*iRNA*作用剤をマクロファージに送達するために使用す
ることができる。

30

【0519】

リポソームの別の利点としては、天然のリン脂質から得られたリポソームは生体適合性
かつ生分解性であること；リポソームには広範囲の水および脂質可溶性薬物を組み入れる
ことができること；リポソームによりそれらの内部区画に封入された*iRNA*を代謝およ
び分解から保護することができることが挙げられる (Rosoff, in "Pharmaceutical D
osage Forms", Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p
.245)。リポソーム製剤の調製に関する重要な考察は、脂質表面電荷、小胞サイズ、およ
びリポソームの水性价積である。

【0520】

核酸と自然発生的に相互作用して、組織培養細胞の細胞膜の負に荷電した脂質と融合す
ることができ、その結果、*iRNA*作用剤の送達をもたらす脂質-核酸複合体を形成する
小さなリポソームを形成するために、正に荷電した合成カチオン性脂質、N-[1-(2,
3-ジオレイルロキシ)プロピル]-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド (
DOTMA)を使用することができる (例えば、DOTMAの説明およびそのDNAとの
使用に関してはFelgner, P. L. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA 8: 7413-
7417, 1987および米国特許第4, 897, 355号を参照されたい)。

40

【0521】

DOTMA類似体、1, 2-ビス (オレオイルオキシ) -3-(トリメチルアンモニア
)プロパン (DOTAP) をリン脂質と組み合わせて使用して、DNAと複合体を形成す

50

る小胞を形成することができる。Lipofectin (商標) (Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg, Md.) は、高度にアニオン性の核酸を、負に荷電したポリヌクレオチドと自然発生的に相互作用して複合体を形成する正に荷電したDOTMAリボソームを含む生組織培養細胞に送達するための有効な作用剤である。十分に正に荷電したリボソームを使用すると、得られる複合体の正味の電荷も正になる。このように自然発生的に調製される正に荷電した複合体は、負に荷電した細胞表面に付着し、原形質膜と融合し、機能的な核酸を、例えば組織培養細胞に効率的に送達する。別の市販のカチオン性脂質、1, 2-ビス(オレオイルオキシ)-3, 3-(トリメチルアンモニウム)プロパン(「DOTAP」)(Boehringer Mannheim, Indianapolis, Indiana)は、DOTMAとは、オレオイル部分がエーテル連結ではなくエステルによって連結しているという点で異なる。

10

【0522】

他の報告されたカチオン性脂質化合物は、例えば、2つの型の脂質のうちの1つとコンジュゲートしたカルボキシスベルミンを含めた、種々の部分とコンジュゲートしたものを含み、5-カルボキシスベルミルグリシンジオクタオレオイルアミド(「DOGS」)(Transfectam (商標)、Promega, Madison, Wisconsin) およびジバルミトイルホスファチジルエタノールアミン5-カルボキシスベルミルアミド(「DPPEs」)(例えば、米国特許第5, 171, 678号を参照されたい)などの化合物を含む。

【0523】

別のカチオン性脂質コンジュゲートは、DOPEと組み合わせてリボソーム中に製剤化されているコレステロールを用いた脂質の誘導体化(「DC-Chol」)を含む(Gao, X. and Huang, L., Biochim. Biophys. Res. Commun.179: 280, 1991を参照されたい)。ポリリシンとDOPEをコンジュゲートすることによって作製されるリポポリリシンは血清の存在下でのトランスフェクションにおいて有効であることが報告されている(Zhou, X. et al., Biochim. Biophys. Acta 1065: 8, 1991)。ある特定の細胞株に関しては、コンジュゲートしたカチオン性脂質を含有するこれらのリボソームは、DOTMAを含有する組成物よりも低い毒性を示し、より効率的なトランスフェクションをもたらすといえる。他の市販のカチオン性脂質製品としては、DMRIEおよびDMRIE-HP(Vical, La Jolla, California)ならびにLipofectamine(DOSPA)(Life Technology, Inc., Gaithersburg, Maryland)が挙げられる。オリゴヌクレオチドの送達に適した他のカチオン性脂質は、WO98/39359およびWO96/37194に記載されている。

20

30

【0524】

リボソーム製剤は、局所的投与に特に相応しく、リボソームは、他の製剤に対していくつかの利点を示す。そのような利点としては、投与された薬物の全身吸収が高いことに関連する副作用の低減、投与された薬物の所望の標的への蓄積の増加、およびiRNA作用剤を皮膚に投与できることが挙げられる。一部の実行では、リボソームは、iRNA作用剤を表皮細胞に送達するために使用され、iRNA作用剤の皮膚組織、例えば、皮膚への透過を増強するためにも使用される。例えば、リボソームを局所的に適用することができる。リボソームとして製剤化された薬物の皮膚への局所的送達は文書で証明されている(例えば、Weiner et al., Journal of Drug Targeting, 1992, vol.2, 405-410 およびdu Plessis et al., Antiviral Research, 18, 1992, 259-265; Mannino, R. J. and Fould-Fogerite, S., Biotechniques 6: 682-690, 1988; Itani, T. et al. Gene 56: 267-276. 1987; Nicolau, C. et al. Meth. Enz.149: 157-176, 1987; Straubinger, R. M. and Papahadjopoulos, D. Meth. Enz. 101: 512-527, 1983; Wang, C. Y. and Huang, L., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7851-7855, 1987を参照されたい)。

40

【0525】

50

非イオン性リポソーム系、特に、非イオン界面活性物質およびコレステロールを含む系も、薬物の皮膚への送達におけるそれらの有用性を決定するために調査されている。薬物をマウス皮膚の真皮に送達するために、Novasome（商標）I（ジラウリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）およびNovasome（商標）II（ジステアリン酸グリセリル／コレステロール／ポリオキシエチレン-10-ステアリルエーテル）を含む非イオン性リポソーム製剤が使用された。iRNA作用剤を用いたそのような製剤は、皮膚科学的障害を処置するために有用である。

【0526】

iRNAを含むリポソームは、高度に変形可能に作製することができる。そのような変形可能性により、リポソームが、リポソームの平均半径よりも小さなポアを通して透過することが可能になり得る。例えば、トランスファーソームは、変形可能なリポソームの一種である。トランスファーソームは、表面縁活性化因子、通常は界面活性物質を標準のリポソーム組成物に添加することによって作製することができる。iRNAを皮膚内のケラチノサイトに送達するために、iRNAを含むトランスファーソームを、例えば皮下に、感染によって送達することができる。インタクトな哺乳動物の皮膚を渡るために、脂質小胞は、それぞれが直径50nm未満の一連の細孔を適切な経皮勾配の影響の下で通過しなければならない。さらに、脂質の性質に起因して、これらのトランスファーソームは、自己最適化性であり得（例えば、皮膚における孔の形状に適応する）、自己修復性であり得、断片化することなくそれらの標的に頻繁に到達し得、また、多くの場合、自己負荷性である。

【0527】

本発明に適用できる他の製剤は、WO2008/042973に記載されている。

【0528】

トランスファーソームは、リポソームのさらに別の型であり、薬物送達ビヒクルの魅力的な候補である、高度に変形可能な脂質凝集体である。トランスファーソームは、非常に高度に変形可能であるため、脂肪滴よりも小さな孔を通して容易に透過することができる。トランスファーソームは、それらが使用される環境に適応できる、例えば、自己最適化性であり（皮膚における孔の形状に適応する）、自己修復性であり、断片化することなくそれらの標的に頻繁に到達し、また、多くの場合、自己負荷性である。トランスファーソームを作製するために、表面縁活性化因子、通常は界面活性物質を標準のリポソーム組成物に添加することが可能である。トランスファーソームは、血清アルブミンを皮膚に送達するために使用されている。血清アルブミンのトランスファーソーム媒介性送達は、血清アルブミンを含有する溶液の皮下注射と同じくらい有効であることが示されている。

【0529】

界面活性物質は、エマルション（マイクロエマルションを含む）およびリポソームなどの製剤に広く適用される。天然および合成の両方の多くの異なる型の界面活性物質の性質を分類および順位付ける最も一般的なやり方は、親水性／親油性バランス（HLB）を使用することによるものである。親水基（「頭部」としても公知）の性質により、製剤に使用される異なる界面活性物質をカテゴリー化するための最も有用な手段がもたらされる（Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285）。

【0530】

界面活性物質分子がイオン化されない場合、非イオン界面活性物質に分類される。非イオン界面活性物質は、医薬および化粧製品に広く適用され、広範囲のpH値にわたって使用可能である。一般に、それらのHLB値は、それらの構造に応じて2から約18までにわたる。非イオン界面活性物質としては、エチレングリコールエステル、プロピレングリコールエステル、グリセリルエステル、ポリグリセリルエステル、ソルビタンエステル、スクロースエステル、およびエトキシ化されたエステルなどの非イオン性エステルが挙げられる。脂肪アルコールエトキシレート、プロポキシ化アルコール、およびエトキシ化

された／プロポキシ化ブロックポリマーなどの非イオン性アルカノールアミドおよびエーテルもこのクラスに含まれる。ポリオキシエチレン界面活性物質は非イオン界面活性物質クラスの最も一般的なメンバーである。

【0531】

界面活性物質分子が、水中に溶解または分散した際に負電荷を有する場合、当該界面活性物質はアニオン性に分類される。アニオン界面活性物質としては、セッケンなどのカルボン酸塩、アシルラクチレート、アミノ酸のアシルアミド、アルキル硫酸およびエトキシ化アルキル硫酸などの硫酸のエステル、アルキルベンゼンスルホン酸塩などのスルホン酸塩、アシルイセチオン酸塩、アシルタウリン酸塩およびスルホコハク酸塩、ならびにリン酸塩が挙げられる。アニオン界面活性物質クラスの最も重要なメンバーは、アルキル硫酸およびセッケンである。

10

【0532】

界面活性物質分子が、水中に溶解または分散した際に正電荷を有する場合、当該界面活性物質はカチオン性に分類される。カチオン界面活性物質としては、第四級アンモニウム塩およびエトキシ化アミンが挙げられる。第四級アンモニウム塩がこのクラスで最も使用されているメンバーである。

【0533】

界面活性物質分子が正電荷または負電荷のいずれも有する能力を有する場合、当該界面活性物質は、両性に分類される。両性界面活性物質としては、アクリル酸誘導体、置換アルキルアミド、N-アルキルペタインおよびホスファチドが挙げられる。

20

【0534】

薬品、製剤およびエマルションにおける界面活性物質の使用は総説されている (Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285)。

【0535】

本発明の方法において使用するための iRNA は、ミセル製剤として提供することもできる。「ミセル」は、本明細書では、両親媒性分子が球状構造に配置され、したがって、分子の疎水性部分が全て内向きに方向付けられ、親水性部分が周囲水相と接触したままになる、特定の型の分子アセンブリと定義される。環境が疎水性である場合には逆の配置が存在する。

30

【0536】

経皮膜を通じた送達に適した混合ミセル製剤は、iRNA、アルカリ金属 C₈～C₂₂ アルキル硫酸塩、およびミセル形成化合物の水溶液を混合することによって調製することができる。例示的なミセル形成化合物としては、レシチン、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸の薬学的に許容される塩、グリコール酸、乳酸、カモミール抽出物、キュウリ抽出物、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、モノオレイン、モノオレイン酸、モノラウリン酸塩、ポリジ油、月見草油、メントール、トリヒドロキシオキソコラニルグリシンおよび薬学的に許容されるその塩、グリセリン、ポリグリセリン、リシン、ポリリシン、トリオレイン、ポリオキシエチレンエーテルおよびその類似体、ポリドカノールアルキルエーテルおよびその類似体、ケノデオキシコール酸塩、デオキシコール酸塩、ならびにそれらの混合物が挙げられる。ミセル形成化合物は、アルカリ金属アルキル硫酸塩の添加と同時にまたはその後に添加することができる。混合ミセルは、成分の実質的にあらゆる種類の混合で形成されるが、より小さなサイズ of ミセルをもたらすためには勢いのある混合で形成される。

40

【0537】

1つの方法では、RNA i および少なくともアルカリ金属アルキル硫酸塩を含有する第1のミセル組成物を調製する。次いで、第1のミセル組成物を少なくとも3つのミセル形成化合物と混合して、混合ミセル組成物を形成する。別の方法では、RNA i、アルカリ金属アルキル硫酸塩およびミセル形成化合物の少なくとも1つを混合し、その後、残りのミセル形成化合物を、勢いよく混合しながら添加することによってミセル組成物を調製する。

50

【0538】

フェノールまたはm-クレゾールを混合ミセル組成物に添加して、製剤を安定化し、細菌の成長から保護することができる。あるいは、フェノールまたはm-クレゾールをミセル形成成分とともに添加することができる。混合ミセル組成物の形成後にグリセリンなどの等張化剤を添加することもできる。

【0539】

ミセル製剤を噴霧剤として送達するために、製剤をエアロゾルディスペンサーに入れ、ディスペンサーに噴射剤を装填することができる。噴射剤は、ディスペンサー中では圧力の下で液体の形態である。水性相と噴射剤相が1つになる、すなわち、1つの相が存在するように成分の比を調整する。2つの相が存在する場合、内容物の一部を、例えば定量式弁を通じて分配する前にディスペンサーを振ることが必要である。分配用量の医薬作用剤が定量式弁から細かい噴霧として噴射される。

【0540】

噴射剤は、水素を含有するクロロフルオロカーボン、水素を含有するフルオロカーボン、ジメチルエーテルおよびジエチルエーテルを含み得る。ある特定の実施形態では、HFA 134a (1, 1, 1, 2テトラフルオロエタン)を使用することができる。

【0541】

必須成分の特定の濃度は、比較的簡単な実験によって決定することができる。口腔を通じた吸収に関しては、多くの場合、投与量を、例えば、注射によるまたは胃腸管を通じた投与の少なくとも2倍または3倍に増加させることが望ましい。

B. 脂質粒子

【0542】

本発明のiRNA、例えばdsRNA作用剤を脂質製剤、例えばLNP、または他の核酸-脂質粒子中に完全に封入することができる。

【0543】

本明細書で使用される場合、「LNP」という用語は、安定な核酸-脂質粒子を指す。LNPは、一般には、カチオン性脂質、非カチオン性脂質、および粒子（例えば、PEG-脂質コンジュゲート）の凝集を防止する脂質を含有する。LNPは、静脈内(i.v.)注射後の循環寿命の延長を示し、遠位部位（例えば、投与部位から物理的に離れた部位）に蓄積するので、全身適用に非常に有用である。本明細書で使用される場合、「SPLP」という用語は、プラスミドDNAが脂質小胞内に封入された核酸-脂質粒子を指す。LNPは、「pSPLP」を含み、これは、PCT公開第WO00/03683号に記載の封入された凝縮剤-核酸複合体を含む。本発明の粒子は、一般には、約50nm~約150nm、より一般には約60nm~約130nm、より一般には約70nm~約110nm、最も一般的には約70nm~約90nmの平均直径を有し、実質的に非毒性である。さらに、核酸は、本発明の核酸-脂質粒子として存在する場合、水溶液中でヌクレアーゼによる分解に対して抵抗性である。核酸-脂質粒子およびそれらの調製方法は、例えば、米国特許第5,976,567号；同第5,981,501号；同第6,534,484号；同第6,586,410号；同第6,815,432号；およびPCT公開第WO96/40964号に開示されている。

【0544】

ある特定の実施形態では、脂質と薬物の比（質量/質量比）（例えば、脂質とdsRNAの比）は、約1:1から約50:1まで、約1:1から約25:1まで、約3:1から約15:1まで、約4:1から約10:1まで、約5:1から約9:1まで、または約6:1から約9:1までの範囲内に入る。上記の範囲の間の範囲も本発明の一部であることが意図されている。

【0545】

カチオン性脂質は、例えば、N,N-ジオレイル-N,N-塩化ジメチルアンモニウム(DODAC)、N,N-ジステアシル-N,N-臭化ジメチルアンモニウム(DDAB)、N-(I-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルア

ンモニウムクロリド (DOTAP)、N-(1-(2,3-ジオレイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド (DOTMA)、N,N-ジメチル-2,3-ジオレイルオキシ)プロピルアミン (DODMA)、1,2-ジリノレイルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLinDMA)、1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLenDMA)、1,2-ジリノレイルカルバモイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン (DLin-C-DAP)、1,2-ジリノレイオキシ-3-(ジメチルアミノ)アセトキシプロパン (DLin-DAC)、1,2-ジリノレイオキシ-3-モルホリノプロパン (DLin-MA)、1,2-ジリノレオイル-3-ジメチルアミノプロパン (DLinDAP)、1,2-ジリノレイルチオ-3-ジメチルアミノプロパン (DLin-S-DMA)、1-リノレオイル-2-リノレイルオキシ-3-ジメチルアミノプロパン (DLin-2-DMAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-トリメチルアミノプロパン塩化物塩 (DLin-TMA.Cl)、1,2-ジリノレオイル-3-トリメチルアミノプロパン塩化物塩 (DLin-TAP.Cl)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(N-メチルピペラジノ)プロパン (DLin-MPZ)、または3-(N,N-ジリノレイルアミノ)-1,2-プロパンジオール (DLinAP)、3-(N,N-ジオレイルアミノ)-1,2-プロパンジオール (DOAP)、1,2-ジリノレイルオキシ-3-(2-N,N-ジメチルアミノ)エトキシプロパン (DLin-EG-DMA)、1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン (DLinDMA)、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1,3]-ジオキソラン (DLin-K-DMA) またはその類似体 (3aR, 5s, 6aS)-N,N-ジメチル-2,2-ジ((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ[d][1,3]ジオキソール-5-アミン (ALN100)、(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート (MC3)、1,1'-((2-(4-(2-(2-(2-(ビス(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)エチルアザネジール)ジドデカン-2-オール (Tech G1)、またはこれらの混合物であってよい。カチオン性脂質は、粒子中に存在する総脂質の約20mol%から約50mol%または約40mol%までを構成し得る。

【0546】

ある特定の実施形態では、化合物2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソランを使用して、脂質-siRNAナノ粒子を調製することができる。2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソランの合成は、参照により本明細書に組み込まれる2008年10月23日出願の米国仮特許出願第61/107,998号に記載されている。

【0547】

ある特定の実施形態では、脂質-siRNA粒子は、40%の2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン：10%のDSPC：40%のコレステロール：10%のPEG-C-DMG (モルパーセント)を含み、粒径は63.0±20nmであり、siRNA/脂質比は0.027である。

【0548】

非カチオン性脂質は、ジステアロイルホスファチジルコリン (DSPC)、ジオレオイルホスファチジルコリン (DOPC)、ジパルミトイルホスファチジルコリン (DPPC)、ジオレオイルホスファチジルグリセロール (DOPG)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (DPPG)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン (DOPE)、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン (POPC)、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン (POPE)、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン4-(N-マレイミドメチル)-シクロヘキサン-1-カルボキシレート (DOPE-mal)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE)、ジミリスチルホスホエタノールアミン (DMPE)、ジステアロイル-ホスファチジル

ーエタノールアミン (DSPE)、16-オモノメチルPE、16-オジメチルPE、18-1-トランスPE、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジエタノールアミン (SOPE)、コレステロール、またはこれらの混合物を含むがこれだけに限定されないアニオン性脂質または中性脂質であってよい。非カチオン性脂質は、コレステロールが含まれる場合、粒子中に存在する総脂質の約5mol%から約90mol%、約10mol%、または約58mol%までであってよい。

【0549】

粒子の凝集を阻害するコンジュゲートした脂質は、例えば、限定することなく、PEG-ジアシルグリセロール (DAG)、PEG-ジアルキルオキシプロピル (DAA)、PEG-リン脂質、PEG-セラミド (Cer) を含めたポリエチレングリコール (PEG) -脂質、またはこれらの混合物であってよい。PEG-DAAコンジュゲートは、例えば、PEG-ジラウリルオキシプロピル (Ci₂)、PEG-ジミリスチルオキシプロピル (Ci₄)、PEG-ジパルミチルオキシプロピル (Ci₆)、またはPEG-ジステアリルオキシプロピル (Ci₈) であってよい。粒子の凝集を防止するコンジュゲートした脂質は、粒子中に存在する総脂質の0mol%から約20mol%または約2mol%までであってよい。

【0550】

一部の実施形態では、核酸-脂質粒子は、コレステロールを、例えば、粒子中に存在する総脂質の約10mol%~約60mol%または約48mol%でさらに含む。

LNP01

【0551】

ある特定の実施形態では、脂質様 (lipidoid) ND98・4HCl (MW1487) (参照により本明細書に組み込まれる2008年3月26日出願の米国特許出願第12/056,230号を参照されたい)、コレステロール (Sigma-Aldrich)、およびPEG-セラミドC16 (Avanti Polar Lipids) を使用して、脂質-dsRNAナノ粒子 (例えば、LNP01粒子) を調製することができる。それぞれのエタノール中ストック溶液を以下の通り調製することができる: ND98、133mg/ml; コレステロール、25mg/ml、PEG-セラミドC16、100mg/ml。次いで、ND98、コレステロール、およびPEG-セラミドC16のストック溶液を、例えば、42:48:10モル比で合わせることができる。合わせた脂質溶液を水性dsRNA (例えば、酢酸ナトリウム、pH5中) と、最終的なエタノール濃度が約35~45%になり、最終的な酢酸ナトリウム濃度が約100~300mMになるように混合することができる。一般には、混合すると脂質-dsRNAナノ粒子が自然発生的に形成される。所望の粒径分布に応じて、得られたナノ粒子混合物を、例えば、Lipex Extruder (Northern Lipids, Inc) などのサーモバレル押出機 (thermobarrel extruder) を使用し、ポリカーボネート膜 (例えば、100nmカットオフ) を通して押出し成形することができる。一部の 경우에는、押出しステップを省略することができる。エタノール除去および同時の緩衝剤交換を、例えば透析または接線流濾過によって実現することができる。緩衝剤は、例えば、リン酸緩衝食塩水 (PBS)、約pH7、例えば、約pH6.9、約pH7.0、約pH7.1、約pH7.2、約pH7.3、または約pH7.4に交換することができる。

10

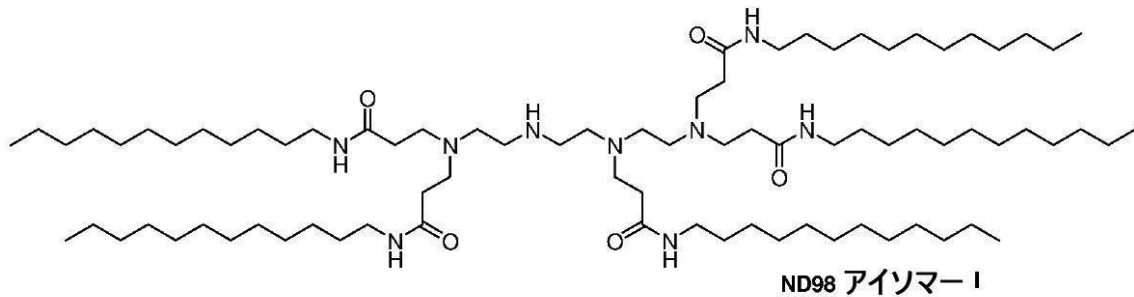
20

30

40

50

【化 28】



式 1

10

【0552】

LNP01 製剤は、例えば、これにより参照により本明細書に組み込まれる国際出願公開第WO2008／042973号に記載されている。

【0553】

追加的な例示的な脂質－dsRNA製剤を以下の表に提示する。

20

30

40

50

【表 A - 1】

表A:例示的な脂質製剤

	カチオン性脂質	カチオン性脂質/非カチオン性脂質/コレステロール/PEG-脂質コンジュゲート 脂質:siRNA 比
SNALP	1,2-ジリノレニルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂質:siRNA 約 7:1
S-XTC	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DPPC/コレステロール/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂質:siRNA 約 7:1
LNP05	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA 約 6:1
LNP06	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質:siRNA 約 11:1
LNP07	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂質:siRNA 約 6:1
LNP08	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 脂質:siRNA 約 11:1
LNP09	2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン(XTC)	XTC/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-ジメチル-2,2-ジ((9Z,12Z)-オクタデカ-9,12-ジエニル)テトラヒドロ-3aH-シクロペンタ[d][1,3]ジオキソール-5-アミン(ALN100)	ALN100/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP11	(6Z,9Z,28Z,31Z)-ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート(MC3)	MC-3/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(ビス(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)(2-ヒドロキシドデシル)アミノ)エチル)ピペラジン-1-イル)エチル)アザネジイル)ジドデカン-2-オール(C12-200)	C12-200/DSPC/コレステロール/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA 10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 脂質:siRNA: 11:1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂質:siRNA: 11:1

10

20

30

40

50

【表 A - 2】

LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 脂質:siRNA: 8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質:siRNA: 10:1

DSPC:ジステアロイルホスファチジルコリン

DPPC:ジパルミトイルホスファチジルコリン

PEG-DMG:PEG-ジジミリストイルグリセロール(C14-PEG、またはPEG-C14)(平均分子量2000のPEG)

PEG-DSG:PEG-ジステチルグリセロール(C18-PEG、またはPEG-C18)(平均分子量2000のPEG)

PEG-cDMA:PEG-カルバモイル-1,2-ジミリスチルオキシプロピルアミン(平均分子量2000のPEG)

【0554】

SNALP (1, 2-ジリノレニルオキシー N, N-ジメチルアミノプロパン (DLIN DMA)) を含む製剤は、これにより参照により本明細書に組み込まれる、2009年4月15日出願の国際公開第WO2009/127060号に記載されている。

【0555】

XTCを含む製剤は、例えば、これにより参照により本明細書に組み込まれる、2009年1月29日出願の米国特許仮出願第61/148,366号; 2009年3月2日出願の米国特許仮出願第61/156,851号; 2009年6月10日出願の米国特許仮出願第61/185,712号; 2009年7月24日出願の米国特許仮出願第61/228,373号; 2009年9月3日出願の米国特許仮出願第61/239,686号、および2010年1月29日出願の国際出願第PCT/US2010/022614号に記載されている。

【0556】

MC3を含む製剤は、例えば、これにより参照により本明細書に組み込まれる、2009年9月22日出願の米国特許仮出願第61/244,834号、2009年6月10日出願の米国特許仮出願第61/185,800号、および2010年6月10日出願の国際出願第PCT/US10/28224号に記載されている。

【0557】

ALNY-100を含む製剤は、例えば、これにより参照により本明細書に組み込まれる2009年11月10日出願の国際特許出願第PCT/US09/63933号に記載されている。

【0558】

C12-200を含む製剤は、これにより参照により本明細書に組み込まれる、200

9年5月5日出願の米国特許仮出願第61/175,770号および2010年5月5日出願の国際出願第PCT/US10/33777号に記載されている。

【0559】

経口投与用の組成物および製剤は、散剤もしくは顆粒剤、微粒子、ナノ粒子、水もしくは非水性媒体中の懸濁液もしくは溶液、カプセル剤、ゲルカプセル剤、サシェ剤、錠剤またはミニタブレットを含む。増粘剤、香味剤、希釈剤、乳化剤、分散助剤または結合剤が望ましい場合がある。一部の実施形態では、経口製剤は、本発明において特徴付けられるdsRNAが1つまたは複数の透過増強界面活性物質およびキレート剤と併せて投与されるものである。適切な界面活性物質としては、脂肪酸および／またはそのエステルもしくは塩、胆汁酸および／またはその塩が挙げられる。適切な胆汁酸／塩としては、ケノデオキシコール酸(CDCA)およびウルソデオキシケノデオキシコール酸(UDCA)、コール酸、デヒドロコール酸、デオキシコール酸、グルコール酸、グリコール酸、グリコデオキシコール酸、タウロコール酸、タウロデオキシコール酸、タウロ-24,25-ジヒドロ-7-シジン酸ナトリウムおよびグリコジヒドロ-7-シジン酸ナトリウムが挙げられる。適切な脂肪酸としては、アラキドン酸、ウンデカノイック酸、オレイン酸、ラウリン酸、カプリル酸、カプリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン、ジラウリン、グリセリル1-モノカプリン酸、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、アシルカルニチン、アシルコリン、またはモノグリセリド、ジグリセリドまたは薬学的に許容されるその塩(例えば、ナトリウム)が挙げられる。一部の実施形態では、透過増強剤の組合せ、例えば、脂肪酸／塩と胆汁酸／塩の組合せを使用する。1つの例示的な組合せは、ラウリン酸、カプリン酸およびUDCAのナトリウム塩である。別の透過増強剤としては、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル、ポリオキシエチレン-20-セチルエーテルが挙げられる。本発明において特徴付けられるdsRNAは、経口的に、噴霧される乾燥粒子を含めた顆粒形態で、またはマイクロ粒子もしくはナノ粒子が形成されるように錯化させて送達することができる。dsRNA錯化剤としては、ポリ-アミノ酸；ポリイミン；ポリアクリレート；ポリアルキルアクリレート、ポリオキシエタン、ポリアルキルシアノアクリレート；カチオン化ゼラチン、アルブミン、デンプン、アクリレート、ポリエチレングリコール(PEG)およびデンプン；ポリアルキルシアノアクリレート；DEAE誘導体化ポリイミン、プルラン(pullulan)、セルロースおよびデンプンが挙げられる。適切な錯化剤としては、キトサン、N-トリメチルキトサン、ポリ-L-リシン、ポリヒスチジン、ポリオルニチン、ポリスペルミン、プロタミン、ポリビニルピリジン、ポリチオジエチルアミノメチルエチレンP(TDAE)、ポリアミノスチレン(例えば、p-アミノ)、ポリ(メチルシアノアクリレート)、ポリ(エチルシアノアクリレート)、ポリ(ブチルシアノアクリレート)、ポリ(イソブチルシアノアクリレート)、ポリ(イソヘキシルシアノアクリレート)、DEAE-メタクリル酸、DEAE-ヘキシルアクリレート、DEAE-アクリルアミド、DEAE-アルブミンおよびDEAE-デキストラン、ポリメチルアクリレート、ポリヘキシルアクリレート、ポリ(D,L-乳酸)、ポリ(D,L-乳酸-co-グリコール酸(PLGA)、アルギネート、およびポリエチレングリコール(PEG)が挙げられる。dsRNAおよびそれらの調製物の経口製剤は、そのそれぞれが参照により本明細書に組み込まれる米国特許第6,887,906号、米国公開第20030027780号、および米国特許第6,747,014号に詳しく記載されている。

【0560】

非経口、実質内(脳内)、髄腔内、脳室内または肝内投与のための組成物および製剤は、緩衝剤、希釈剤、ならびに、これだけに限定されないが、透過増強剤、担体化合物および他の薬学的に許容される担体または賦形剤などの他の適切な添加剤も含有し得る滅菌水溶液を含み得る。

【0561】

本発明の医薬組成物としては、これだけに限定されないが、溶液、エマルジョン、およびリポソームを含有する製剤が挙げられる。これらの組成物は、予め形成された液体、自

10

20

30

40

50

己乳化型固体および自己乳化型半固体を含むがこれだけに限定されない種々の構成成分から生成することができる。肝癌などの肝障害を処置する場合には、肝臓を標的とする製剤が特に好ましい。

【0562】

単位剤形で都合よく提供することができる本発明の医薬製剤は、医薬品産業において周知の従来の技法に従って調製することができる。そのような技法は、活性成分を医薬担体または賦形剤と関連させるステップを含む。一般に、製剤は、活性成分を液体担体もしくは微細に分割された固体担体またはその両方と一様にかつ密接に関連させ、次いで、必要であれば、生成物を成形することによって調製される。

【0563】

本発明の組成物は、これだけに限定されないが、錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤、液体シロップ剤、ソフトゲル剤、坐剤、および浣腸などの多くの可能性のある剤形のいずれかに製剤化することができる。本発明の組成物はまた、水性、非水性または混合媒体中の懸濁剤として製剤化することもできる。水性懸濁剤は、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトールおよび／またはデキストランを含めた、懸濁剤の粘度を増大させる物質をさらに含有し得る。懸濁剤は、安定剤も含有し得る。

【0564】

1つまたは複数の親水性ポリマーで誘導体化された脂質を含む多くのリポソーム、およびその調製方法は当技術分野で公知である。Sunamoto et al. (Bull. Chem. Soc. Jpn., 1980, 53, 2778)は、PEG部分を含有する非イオン界面活性剤である $2C_{12}15G$ を含むリポソームを記載している。Illum et al. (FEBS Lett., 1984, 167, 79)は、ポリマーグリコールを用いたポリスチレン粒子の親水性コーティングにより、血中半減期が有意に増強されることに注目した。ポリアルキレングリコール（例えば、PEG）のカルボキシル基の付着によって修飾された合成リン脂質がSears（米国特許第4, 426, 330号および同第4, 534, 899号）によって記載されている。Klibanov et al. (FEBS Lett., 1990, 268, 235)は、PEGまたはPEGステアレートで誘導体化されたホスファチジルエタノールアミン（PE）を含むリポソームの血液循環半減期が有意に増大することを実証する実験を記載している。Blume et al. (Biochimica et Biophysica Acta, 1990, 1029, 91)は、そのような知見を、他のPEG-誘導体化リン脂質、例えば、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン（DSPE）とPEGの組合せから形成されるDSPE-PEGに拡張させた。外面にPEG部分が共有結合したリポソームがFisherに対する欧州特許第EP 0 445 131 B1号およびWO 90/04384に記載されている。1~20モルパーセントのPEG誘導体化PEを含有するリポソーム組成物、およびその使用方法がWoodle et al.（米国特許第5, 013, 556号および同第5, 356, 633号）ならびにMartin et al.（米国特許第5, 213, 804号および欧州特許第EP 0 496 813 B1号）により記載されている。いくつかの他の脂質-ポリマーコンジュゲートを含むリポソームがWO 91/05545および米国特許第5, 225, 212号（どちらもMartin et al.に対するもの）ならびにWO 94/20073 (Zalipsky et al.)に開示されている。PEGで修飾されたセラミド脂質を含むリポソームがWO 96/10391 (Choi et al.)に記載されている。米国特許第5, 540, 935号 (Miyazaki et al.) および米国特許第5, 556, 948号 (Tagawa et al.) には、表面において機能的部分でさらに誘導体化することができるPEGを含有するリポソームが記載されている。

【0565】

核酸を含むいくつかのリポソームは、当技術分野で公知である。Thierry et al.に対するWO 96/40062には、高分子量の核酸をリポソームに封入するための方法が開示されている。Tagawa et al.に対する米国特許第5, 264, 221号には、タンパク質が結合したリポソームが開示されており、そのようなリポソームの内容物にdsRNAを含めることができることが主張されている。Rahman et al.に対する米国特許第5, 665, 710号には、オリゴデオキシヌクレオチドをリポソームに封入するある特定

10

20

30

40

50

の方法が記載されている。Love et al.に対するWO 97/04787には、raf 遺伝子を標的とするdsRNAを含むリポソームが開示されている。

C. 追加的な製剤

i. エマルション

【0566】

本発明の組成物は、エマルションとして調製し製剤化することができる。エマルションは、一般には、1つの液体が別の液体中に通常は直径が $0.1\text{ }\mu\text{m}$ を超える液滴の形態で分散した不均一な系である（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi et al., in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301を参照されたい）。エマルションは、多くの場合、互いに密接に混合し分散した2つの不混和性液相で構成される二相系である。一般に、エマルションは、油中水（w/o）または水中油（o/w）種のいずれかであり得る。大量の油相中に水相が微細に分割され、微小な液滴として分散している場合、得られる組成物は油中水（w/o）エマルションと称される。あるいは、大量の水相中に油相が微細に分割され、微小な液滴として分散している場合、得られる組成物は水中油（o/w）エマルションと称される。エマルションは、分散相に加えて、追加的な構成成分、および、水相、油相中に溶液として、またはそれ自体が別の相として存在し得る活性な薬物を含有し得る。乳化剤、安定剤、色素、および抗酸化剤などの医薬賦形剤も必要に応じてエマルション中に存在してよい。医薬エマルションはまた、例えば、油中水中油型（o/w/o）および水中油中水型（w/o/w）エマルションの場合などの、2つよりも多くの相で構成される多層エマルションであってもよい。そのような複合製剤では、多くの場合、単純な二成分エマルションではもたらされないある特定の利点をもたらされる。o/wエマルションの個々の油滴に小さな水滴が封入されている多層エマルションは、w/o/wエマルションを構成する。同様に、油性連続相中の安定化された水の小球中に封入された油滴の系により、o/w/oエマルションがもたらされる。

【0567】

エマルションは、熱力学的安定性がほとんどまたは全くないことを特徴とする。多くの場合、エマルションの分散相または不連続相は、外相または連続相中に十分に分散され、乳化剤という手段または製剤の粘度によってこの形態で維持される。エマルションの相はいずれも、エマルション様式の軟膏基剤およびクリーム剤のように、半固体または固体であり得る。エマルションを安定化する他の手段では、エマルションのいずれの相にも組み入れることができる乳化剤の使用が必要である。乳化剤は、4つのカテゴリーに広範に分類することができる：合成界面活性物質、天然に存在する乳化剤、吸収基剤、および微細に分散した固体（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい）。

【0568】

表面活性剤としても公知である合成界面活性物質は、エマルションの製剤への広い適応性が見いだされており、文献において概説されている（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG.,

10

20

30

40

50

and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199を参照されたい)。界面活性物質は、一般には両親媒性であり、親水性部分と疎水性部分とを含む。界面活性物質の親水性と疎水性の比は、親水性／親油性バランス（HLB）と称されており、製剤の調製において界面活性物質をカテゴリー化し、選択することにおける有益なツールである。界面活性物質は、親水基の性質：非イオン性、アニオン性、カチオン性および両性に基づいて異なるクラスに分類することができる（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285を参照されたい）。

【0569】

エマルション製剤に使用される天然に存在する乳化剤としては、ラノリン、蜜ろう、ホスファチド、レシチンおよびアラビアゴムが挙げられる。吸収基剤は、例えば、無水ラノリンおよび親水性ワセリンなど、親水性を有し、したがって、水を吸い上げてw/oエマルションを形成することができるが、依然としてそれらの半固体コンシステンシーを保持する。微細に分割された固体も、特に界面活性物質と組み合わせて、粘性調製物において良好な乳化剤として使用されている。これらとしては、重金属水酸化物などの極性無機固体、ベントナイト、アタパルジャイト、ヘクトライト、カオリン、モンモリロナイト、コロイドケイ酸アルミニウムおよびコロイドケイ酸アルミニウムマグネシウムなどの非膨潤性粘土、色素および炭素またはグリセリルトリステアレートなどの非極性固体が挙げられる。

【0570】

多種多様な非乳化材料もエマルション製剤に含まれ、エマルションの性質に寄与する。これらとしては、脂肪、油、ワックス、脂肪酸、脂肪アルコール、脂肪性エステル、保湿剤、親水性コロイド、保存剤および抗酸化剤が挙げられる（Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199）。

【0571】

親水性コロイドまたはハイドロコロイドとしては、天然に存在するゴムおよび合成ポリマー、例えば、多糖（例えば、アラビアゴム、寒天、アルギン酸、カラギーナン、グアーガム、カラヤゴム、およびトラガント）、セルロース誘導体（例えば、カルボキシメチルセルロースおよびカルボキシプロピルセルロース）など、ならびに合成ポリマー（例えば、カルボマー、セルロースエーテル、およびカルボキシビニルポリマー）が挙げられる。これらは、水中で分散または膨潤して、分散相液滴の周囲に強力な界面フィルムを形成することによっておよび外相の粘度を増大させることによってエマルションを安定化するコロイド溶液を形成する。

【0572】

エマルションは、多くの場合、微生物の成長を容易に支持し得る炭水化物、タンパク質、ステロールおよびホスファチドなどのいくつかの成分を含有するので、これらの製剤には、多くの場合、保存剤が組み入れられる。エマルション製剤に含められる、一般に使用される保存剤としては、メチルパラベン、プロピルパラベン、第四級アンモニウム塩、塩化ベンザルコニウム、p-ヒドロキシ安息香酸のエステル、およびホウ酸のエステルが挙げられる。製剤の劣化を防止するために抗酸化剤も一般にエマルション製剤に添加される

。使用される抗酸化剤は、トコフェロール、アルキルガレート、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエンなどの遊離基スカベンジャー、またはアスコルビン酸およびメタ重亜硫酸ナトリウムなどの還元剤、ならびにクエン酸、酒石酸、およびレシチンなどの抗酸化剤の相乗剤であり得る。

【0573】

皮膚科学的、経口および非経口経路によるエマルジョン製剤の適用ならびにそれらの製造方法が文献において概説されている（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい）。経口送達用のエマルジョン製剤は、製剤化しやすさ、ならびに吸収および生物学的利用能の観点での有効性が理由で非常に広く使用されている（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199を参照されたい）。鉱油に基づく緩下剤、油溶性ビタミンおよび高脂肪栄養素調製物が一般にo/wエマルジョンとして経口投与されている材料に含まれる。

i i . マイクロエマルジョン

【0574】

本発明の一実施形態では、iRNAおよび核酸の組成物をマイクロエマルジョンとして製剤化する。マイクロエマルジョンは、単一の光学的に等方性かつ熱力学的に安定な液剤である、水、油および両親媒性物質の系と定義することができる（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245を参照されたい）。一般には、マイクロエマルジョンは、まず油を水性界面活性物質溶液中に分散させ、次いで、十分な量の第4の構成成分、一般に、中間鎖長のアルコールを添加して透明な系を形成させることによって調製される系である。したがって、マイクロエマルジョンは、表面活性分子の界面フィルムによって安定化される2つの不混和性液体の熱力学的に安定な、等方性に清澄な分散とも記載されている（Leung and Shah, in: Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215）。マイクロエマルジョンは、一般に、油、水、界面活性物質、補助界面活性物質および電解質を含む3～5種の構成成分の組合せによって調製される。マイクロエマルジョンが油中水(w/o)型であるか水中油(o/w)型であるかは、使用される油および界面活性物質の性質ならびに界面活性物質分子の極性頭部および炭化水素尾部の構造および幾何学的パッキングに依存する（Schott, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271）。

【0575】

状態図を利用する現象学的手法が広範囲にわたって研究されており、マイクロエマルジョンをどのように製剤化するかに関する包括的な知見が当業者にもたらされている（例えば、Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Form

s, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245; Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335を参照されたい)。従来のエマルジョンと比較して、マイクロエマルジョンにより、水不溶性薬物が自然発生的に形成される熱力学的に安定な液滴の製剤中に可溶化するという利点がもたらされる。

【0576】

マイクロエマルジョンの調製に使用される界面活性物質としては、これだけに限定されないが、単独でまたは補助界面活性物質と組み合わせた、イオン界面活性物質、非イオン界面活性物質、Br i j 96、ポリオキシエチレンオレイルエーテル、ポリグリセリン脂肪酸エステル、テトラグリセロールモノラウレート（ML310）、テトラグリセロールモノオレエート（MO310）、ヘキサグリセロールモノオレエート（PO310）、ヘキサグリセロールペンタオレエート（PO500）、デカグリセロールモノカプレート（MCA750）、デカグリセロールモノオレエート（MO750）、デカグリセロールセキオレエート（SO750）、デカグリセロールデカオレエート（DAO750）が挙げられる。補助界面活性物質は、通常、エタノール、1-プロパノール、および1-ブタノールなどの短鎖アルコールであり、界面活性物質フィルムを透過し、したがって、界面活性物質分子の間で生成される空隙に起因した不規則なフィルムを創出することによって界面流動性を増大させる働きをする。しかし、マイクロエマルジョンは、補助界面活性物質を使用せずに調製することができ、アルコールフリー自己乳化型マイクロエマルジョン系が当技術分野で公知である。水相は、これだけに限定されないが、一般には、水、薬物の水溶液、グリセロール、PEG300、PEG400、ポリグリセリン、プロピレングリコール、およびエチレングリコールの誘導体であってよい。油相としては、これだけに限定されないが、Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸エステル、中鎖（C8～C12）モノグリセリド、ジグリセリド、およびトリグリセリド、ポリオキシエチル化グリセリル脂肪酸エステル、脂肪アルコール、ポリグリコール化グリセリド、飽和型ポリグリコール化C8～C10グリセリド、植物油およびシリコン油などの材料を挙げることができる。

【0577】

マイクロエマルジョンは、薬物可溶化、および薬物吸収の増強の観点から特に興味深い。脂質に基づくマイクロエマルジョン（o/wおよびw/oの両方）により、ペプチドを含む薬物の経口生物学的利用能が増強されることが提唱されている（例えば、米国特許第6,191,105号；同第7,063,860号；同第7,070,802号；同第7,157,099号；Constantinides et al., Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385-1390；Ritschel, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205を参照されたい）。マイクロエマルジョンにより、薬物可溶化の改善、酵素による加水分解からの薬物の保護、膜流動性および透過性の界面活性物質に誘導される変更に起因する薬物吸収の増強の可能性、調製のしやすさ、固体剤形と比べた経口投与のしやすさ、臨床的効力の改善、ならびに毒性の低減という利点がもたらされる（例えば、米国特許第6,191,105号；同第7,063,860号；同第7,070,802号；同第7,157,099号；Constantinides et al., Pharmaceutical Research, 1994, 11, 1385；Ho et al., J. Pharm. Sci., 1996, 85, 138-143を参照されたい）。多くの場合、マイクロエマルジョンは、それらの構成成分が外界温度で一緒になると自然発生的に形成し得る。これは、熱不安定性の薬物、ペプチドまたはiRNAを製剤化する場合に特に有利であり得る。マイクロエマルジョンはまた、化粧品への適用および医薬適用のどちらにおいても活性構成成分の経皮送達に有効である。本発明のマイクロエマルジョン組成物および製剤により、iRNAおよび核酸の胃腸管からの全身吸収の増大が容易になり、ならびに、iRNAおよび核酸の局所的な細胞内取り込みが改善されることが予想される。

【0578】

本発明のマイクロエマルションは、製剤の性質を改善するため、ならびに本発明の iRNA および核酸の吸収を増強するために、ソルビタンモノステアレート (Grill 3)、Labrasol、および透過増強剤などの追加的な構成成分および添加剤も含有し得る。本発明のマイクロエマルションに使用される透過増強剤は、5つの広範なカテゴリー—界面活性物質、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート剤、および非キレート化非界面活性物質のうちの1つに属するものと分類することができる (Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92)。これらのクラスはそれぞれ上記されている。

iii. 微小粒子

【0579】

本発明のRNAi作用剤を、粒子、例えば、微小粒子に組み入れることができる。微小粒子は、噴霧乾燥によって作出することができるが、凍結乾燥、蒸発、流動層乾燥、真空乾燥、またはこれらの技法の組合せを含めた他の方法によって作出することもできる。

iv. 透過増強剤

【0580】

一実施形態では、本発明は、核酸、特にiRNAの動物の皮膚への効率的な送達をもたらすために種々の透過増強剤を使用する。大多数の薬物は溶液中にイオン化された形態とイオン化されていない形態の両方で存在する。しかし、通常、脂質可溶性または親油性薬物のみが容易に細胞膜を渡る。非親油性薬物は、細胞膜を、渡るべき膜を透過増強剤で処理すれば渡ることができることが発見されている。非親油性薬物の細胞膜を横切る拡散を補助することに加えて、透過増強剤はまた、親油性薬物の透過性も増強する。

【0581】

透過増強剤は、5つの広範なカテゴリー、すなわち、界面活性物質、脂肪酸、胆汁酸塩、キレート剤、および非キレート化非界面活性物質のうちの1つに属するものと分類することができる (例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92を参照されたい)。上述の透過増強剤のクラスのそれぞれを以下により詳細に記載する。

【0582】

界面活性物質 (または「表面活性剤」) は、水溶液中に溶解すると、溶液の表面張力または水溶液と別の液体の間の界面張力を低下させ、その結果、粘膜を通じたiRNAの吸収を増強させる化学的実体である。これらの透過増強剤としては、胆汁酸塩および脂肪酸に加えて、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテルおよびポリオキシエチレン-20-セチルエーテル (例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92を参照されたい) ; ならびにFC-43などのパーフルオロ化合物エマルション (Takahashi et al., J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252) が挙げられる。

【0583】

透過増強剤として作用する種々の脂肪酸およびそれらの誘導体としては、例えば、オレイン酸、ラウリン酸、カプリン酸 (n-デカン酸)、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リノール酸、リノレン酸、ジカプリン酸、トリカプリン酸、モノオレイン (1-モノオレオイル-rac-グリセロール)、ジラウリン、カプリル酸、アラキドン酸、グリセロール1-モノカプリン酸、1-ドデシルアザシクロヘプタン-2-オン、アシルカルニチン、アシルコリン、それらのC₁~20アルキルエステル (例えば、メチル、イソプロピルおよびn-ブチル)、ならびに、それらのモノグリセリドおよびジグリセリド (すなわち、オレイン酸エステル、ラウリン酸エステル、カプリン酸エステル、ミリスチン酸エステル、パルミチン酸エステル、ステアリン酸エステル、リノール酸エステルなど) が挙げられる (例えば、Touitou, E., et al. Enhancement in Drug Delivery, C

10

20

30

40

50

RC Press, Danvers, MA, 2006; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; El Hariri et al., J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654を参照されたい)。

【0584】

胆汁の生理的役割として、脂質および脂溶性ビタミンの分散および吸収の容易化が挙げられる(例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman et al. Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935を参照されたい)。種々の天然の胆汁酸塩、およびそれらの合成の誘導体が透過増強剤として作用する。したがって、「胆汁酸塩」という用語は、あらゆる天然に存在する胆汁の構成成分ならびにあらゆるそれらの合成の誘導体を含む。適切な胆汁酸塩としては、例えば、コール酸(またはその薬学的に許容されるナトリウム塩、コール酸ナトリウム)、デヒドロコール酸(デヒドロコール酸ナトリウム)、デオキシコール酸(デオキシコール酸ナトリウム)、グルコール酸(グルコール酸ナトリウム)、グリコール酸(グリココール酸ナトリウム)、グリコデオキシコール酸(グリコデオキシコール酸ナトリウム)、タウロコール酸(タウロコール酸ナトリウム)、タウロデオキシコール酸(タウロデオキシコール酸ナトリウム)、ケノデオキシコール酸(ケノデオキシコール酸ナトリウム)、ウルソデオキシコール酸(UDCA)、タウロー24, 25-ジヒドロフシジン酸ナトリウム(STDHF)、グリコジヒドロフシジン酸ナトリウムおよびポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル(POE)が挙げられる(例えば、Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Swinyard, Chapter 39 In: Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, pages 782-783; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Yamamoto et al., J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25; Yamashita et al., J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583を参照されたい)。

【0585】

キレート剤は、本発明に関連して使用される場合、金属イオンと複合体を形成することによって金属イオンを溶液から取り除き、その結果、粘膜を通じたiRNAの吸収を増強する化合物と定義することができる。最も特徴付けられているDNAヌクレアーゼは触媒作用のために二価金属イオンを必要とし、したがって、キレート剤によって阻害されるので、キレート剤は、本発明における透過増強剤としてのそれらの使用に関して、DNAase阻害剤としての機能も果たすというさらなる利点を有する(Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339)。適切なキレート剤としては、これだけに限定されないが、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)二ナトリウム、クエン酸、サリチル酸塩(例えば、サリチル酸ナトリウム、5-メトキシサリチル酸塩およびホモバニリン酸塩)、コラーゲンのN-アシル誘導体、ラウレス-9およびペーターゲットのN-アミノアシル誘導体(エナミン)が挙げられる(例えば、Katdare, A. et al., Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Buur et al., J. Control Rel., 1990, 14, 43-51を参照されたい)。

【0586】

本明細書で使用される場合、非キレート化非界面活性物質透過増強化合物は、キレート剤または界面活性物質としての活性をわずかに示すが、それにもかかわらず、消化粘膜を通じたiRNAの吸収を増強する化合物と定義することができる(例えば、Muranishi,

Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33を参照されたい)。このクラスの透過増強剤としては、例えば、不飽和型環式尿素、1-アルキル-および1-アルケニルアザシクロ-アルカノン誘導体 (Lee et al., Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92) ; ならびにジクロフェナクナトリウム、インドメタシンおよびフェニルブタゾンなどの非ステロイド性抗炎症剤 (Yamashita et al., J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626) が挙げられる。

【0587】

iRNAの取り込みを細胞レベルで増強する作用剤も本発明の医薬組成物および他の組成物に添加することができる。例えば、リポフェクチンなどのカチオン性脂質 (Junichi et al., 米国特許第5,705,188号)、カチオン性グリセロール誘導体、およびポリリシンなどのポリカチオン分子 (Lollo et al., PCT出願WO97/30731) も、dsRNAの細胞内取り込みを増強することが公知である。市販のトランスフェクション試薬の例としては、例えば、とりわけ、Lipofectamine (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Lipofectamine 2000 (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、293fectin (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Cellfectin (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、DMRIE-C (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、FreeStyle (商標) MAX (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Lipofectamine (商標) 2000 CD (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Lipofectamine (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、RNAiMAX (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Oligofectamine (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、Optifect (商標) (Invitrogen; Carlsbad, CA)、X-tremeGENE Q2 Transfection Reagent (Roche; Grenzachstrasse, Switzerland)、DOTAP Liposomal Transfection Reagent (Grenzacherstrasse, Switzerland)、DOSPER Liposomal Transfection Reagent (Grenzacherstrasse, Switzerland)、またはFugene (Grenzacherstrasse, Switzerland)、Transfectam (登録商標) Reagent (Promega; Madison, WI)、TransFast (商標) Transfection Reagent (Promega; Madison, WI)、Tfx (商標) -20 Reagent (Promega; Madison, WI)、Tfx (商標) -50 Reagent (Promega; Madison, WI)、DreamFect (商標) (OZ Biosciences; Marseille, France)、EcoTransfect (OZ Biosciences; Marseille, France)、TransPass^a D1 Transfection Reagent (New England Biolabs; Ipswich, MA, USA)、LyoVec (商標) / LipoGen (商標) (Invitrogen; San Diego, CA, USA)、PerFectin Transfection Reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、NeuroPORTER Transfection Reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、GenePORTER Transfection reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、GenePORTER 2 Transfection reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、Cytofectin Transfection Reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、BaculoPORTER Transfection Reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、TrojanPORTER (商標) trans

10

20

30

40

50

fection Reagent (Genlantis; San Diego, CA, USA)、RiboFect (Bioline; Taunton, MA, USA)、PlasFect (Bioline; Taunton, MA, USA)、UniFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, USA)、SureFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, USA)、またはHiFect (商標) (B-Bridge International, Mountain View, CA, USA) が挙げられる。

【0588】

エチレングリコールおよびプロピレングリコールなどのグリコール、2-ピロールなどのピロール、アゾン、ならびにリモネンおよびメントンなどのテルペンを含めた他の作用剤を、投与された核酸の透過を増強するために利用することができる。

v. 担体

【0589】

本発明のある特定の組成物では、担体化合物も製剤に組み入れられる。本明細書で使用される場合、「担体化合物」または「担体」は、不活性である（すなわち、それ自体は生物活性を有さない）が、生物活性を有する核酸の生物学的利用能を、例えば、生物活性のある核酸を分解することまたは循環からのその除去を促進することによって低下させる *in vivo* プロセスによって核酸として認識される核酸またはその類似体を指し得る。核酸と担体化合物を、一般には後者の物質を過剰に、同時投与することにより、肝臓、腎臓または他の循環外レザバーにおいて回収される核酸の量の実質的な減少がもたらされる可能性があり、これはおそらく、担体化合物と核酸の共通の受容体に対する競合に起因する。例えば、部分的ホスホロチオエート dsRNA をポリイノシン酸、デキストラン硫酸、ポリシチジン酸または 4-アセトアミド-4'-イソチオシアノースチルベン-2, 2'-ジスルホン酸と同時に投与した場合、肝臓組織における部分的ホスホロチオエート dsRNA の回収が減少し得る (Miyao et al., DsRNA Res. Dev., 1995, 5, 115-121; Takakura et al., DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183)。

vi. 賦形剤

【0590】

担体化合物とは対照的に、「医薬担体」または「賦形剤」は、1つまたは複数の核酸を動物に送達するための薬学的に許容される溶媒、懸濁化剤または任意の他の薬理学的に不活性なビヒクルである。賦形剤は液体の場合もあり固体の場合もあり、計画された投与の様式を考慮して、核酸および所与の医薬組成物の他の構成成分と組み合わせた場合に所望のかさ、一貫性などがもたらされるように選択される。典型的な医薬担体としては、これだけに限定されないが、結合剤（例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）；充填剤（例えば、ラクトースおよび他の糖、微結晶セルロース、ペクチン、ゼラチン、硫酸カルシウム、エチルセルロース、ポリアクリレートまたはリン酸水素カルシウムなど）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、シリカ、コロイド状二酸化ケイ素、ステアリン酸、ステアリン酸金属塩、硬化植物油、トウモロコシデンプン、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウムなど）；崩壊剤（例えば、デンプン、デンプングリコール酸ナトリウムなど）；ならびに湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウムなど）が挙げられる。

【0591】

核酸と有害には反応しない、非腸管外投与に適した薬学的に許容される有機または無機賦形剤も本発明の組成物を製剤化するために使用することができる。適切な薬学的に許容される担体としては、これだけに限定されないが、水、塩類溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

10

20

30

40

50

【0592】

核酸の局所的投与のための製剤としては、滅菌および非滅菌水溶液、アルコールなどの一般的な溶媒中の非水溶液、または液体もしくは固体の油基剤中の核酸の溶液を挙げることができる。溶液は、緩衝剤、希釈剤および他の適切な添加剤も含有し得る。核酸と有害には反応しない、非腸管外投与に適した薬学的に許容される有機または無機賦形剤を使用することができる。

【0593】

適切な薬学的に許容される賦形剤としては、これだけに限定されないが、水、塩類溶液、アルコール、ポリエチレングリコール、ゼラチン、ラクトース、アミロース、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

vii. 他の構成成分

【0594】

本発明の組成物は、医薬組成物中に慣習的に見いだされる他の補助構成成分をそれらの技術分野で確立された使用レベルでさらに含有し得る。したがって、例えば、組成物は、例えば、鎮痒薬、収斂薬、局所麻酔薬もしくは抗炎症剤などの、追加的な適合性の薬学的に活性な材料を含有し得る、または、本発明の組成物の種々の剤形を物理的に製剤化することにおいて有用な追加的な材料、例えば、色素、香味剤、保存剤、抗酸化剤、乳白剤、増粘剤および安定剤などを含有し得る。しかし、そのような材料を添加する場合、当該材料は、本発明の組成物の構成成分の生物活性に過度に干渉すべきでない。製剤は、滅菌し、所望であれば、製剤の核酸と有害に相互作用しない補助剤、例えば、滑沢剤、保存剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響を及ぼす塩、緩衝剤、着色剤、香味剤および／または芳香物質などと混合することができる。

【0595】

水性懸濁液は、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトールおよび／またはデキストランを含めた、懸濁剤の粘度を増大させる物質を含有し得る。懸濁剤は、安定剤も含有し得る。

【0596】

一部の実施形態では、本発明において特徴付けられる医薬組成物は、(a) 1つまたは複数のiRNA化合物および(b) 非RNAi機構によって機能し、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態の処置において有用である1つまたは複数の作用剤を含む。そのような作用剤の例としては、これだけに限定されないが、

【0597】

ピリドキシン、ACE阻害剤(アンジオテンシン変換酵素阻害剤)、例えば、ベナゼプリル(Lotensin); アンジオテンシンII受容体アンタゴニスト(ARB)(例えば、ロサルタンカリウム、例えば、Merck & Co. のCozaar(登録商標)など)、例えば、カンデサルタン(Atacand); HMG-CoA還元酵素阻害剤(例えば、スタチン); カルシウム結合物質、例えば、セルロースリン酸ナトリウム(Calcibind); 利尿薬、例えば、ヒドロクロチアジド(Microzide)などのチアジド系利尿薬; PPAR γ アゴニストピオグリタゾンなどのインスリン感作物質、リラグルタチドなどのglp-1rアゴニスト、ビタミンE、SGLT2阻害剤、DPP-IV阻害剤、および腎／肝移植; または前述のいずれかの組合せが挙げられる。

【0598】

そのような化合物の毒性および治療有効性は、例えば、LD₅₀(集団の50%に対して致死的な用量)およびED₅₀(集団の50%において治療的に有効な用量)を決定するための、細胞培養物または実験動物における標準の薬学的手順によって決定することができる。毒性の影響と治療効果との間の用量比は治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀比として表すことができる。高い治療指数を示す化合物が好ましい。

【0599】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得られたデータを、ヒトにおける使用のための投

10

20

30

40

50

与量の範囲の処方を使用することができる。本発明における本明細書で特徴付けられる組成物の投与量は、一般に、毒性をほとんどまたは全く伴わない、ED₅₀を含む循環濃度の範囲内に入る。投与量は、使用される剤形および利用される投与経路に応じてこの範囲内で変動し得る。本発明において特徴付けられる方法において使用されるあらゆる化合物に関して、細胞培養アッセイから治療有効用量を最初に推定することができる。細胞培養物において決定されたIC₅₀を含む（すなわち、症状の最大半量阻害が実現される試験化合物の濃度）、化合物または適切な場合には標的配列のポリペプチド産物の循環血漿中濃度範囲を実現する（例えば、ポリペプチドの濃度の低下を実現する）ために、動物モデルにおいて用量を処方することができる。そのような情報を使用して、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定することができる。血漿中レベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。

10

【0600】

上記の通り、本発明において特徴付けられるiRNAは、それらの投与に加えて、HSD17B13発現によって媒介される病理学的プロセスの処置において有効な他の公知の作用剤と組み合わせて投与することができる。いずれにしても、投与を行う医師が、当技術分野で公知であるまたは本明細書に記載されている有効性の標準尺度を使用して観察された結果に基づいてiRNA投与の量およびタイミングを調整することができる。

カチオン性脂質の合成：

【0601】

本発明において特徴付けられる核酸-脂質粒子に使用される化合物、例えば、カチオン性脂質などはいずれも、公知の有機合成技法によって調製することができる。置換基は全て、別段の指定のない限り下で定義される通りである。

20

【0602】

「アルキル」とは、1個から24個までの炭素原子を含有する直鎖または分枝、非環式または環式、飽和型の脂肪族炭化水素を意味する。代表的な飽和型直鎖アルキルとしては、メチル、エチル、n-プロピル、n-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシルなどが挙げられ、飽和型分枝アルキルとしては、イソプロピル、sec-ブチル、イソブチル、tert-ブチル、イソペンチルなどが挙げられる。代表的な飽和型環式アルキルとしては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルなどが挙げられ、不飽和型環式アルキルとしては、シクロペンテニルおよびシクロヘキセニルなどが挙げられる。

30

【0603】

「アルケニル」とは、隣り合う炭素原子の間の少なくとも1つの二重結合を含有する、上で定義したアルキルを意味する。アルケニルは、シスおよびトランス異性体のどちらも含む。代表的な直鎖および分枝アルケニルとしては、エチレニル、プロピレニル、1-ブテニル、2-ブテニル、イソブチレニル、1-ペンテニル、2-ペンテニル、3-メチル-1-ブテニル、2-メチル-2-ブテニル、2,3-ジメチル-2-ブテニルなどが挙げられる。

【0604】

「アルキニル」とは、隣り合う炭素の間の少なくとも1つの三重結合をさらに含有する上で定義した任意のアルキルまたはアルケニルを意味する。代表的な直鎖および分枝アルキニルとしては、アセチレニル、プロピニル、1-ブチニル、2-ブチニル、1-ペンチニル、2-ペンチニル、3-メチル-1-ブチニルなどが挙げられる。

40

【0605】

「アシル」とは、下で定義される通り、付着点の炭素がオキソ基で置換されている任意のアルキル、アルケニル、またはアルキニルを意味する。例えば、-C(=O)アルキル、-C(=O)アルケニル、および-C(=O)アルキニルがアシル基である。

【0606】

「複素環」とは、飽和型、不飽和型、または芳香族のいずれかであり、窒素、酸素および硫黄から独立に選択される1つまたは2つのヘテロ原子を含有し、窒素および硫黄ヘテロ原子が必要に応じて酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子が必要に応じて四級化され

50

ていてもよい、上記の複素環のいずれかがベンゼン環と融合した二環式環を含めた、5員～7員の単環式または7員～10員の二環式複素環式環を意味する。複素環は任意のヘテロ原子または炭素原子を介して付着していてもよい。複素環としては、下で定義されるヘテロアリアルが挙げられる。複素環としては、モルホリニル、ピロリジノニル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペリジニル、ヒダントイニル、バレロラクタミル、オキシラニル、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロピリジニル、テトラヒドロピリミジニル、テトラヒドロチオフエニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロピリミジニル、テトラヒドロチオフエニル、テトラヒドロチオピラニルなどが挙げられる。

【0607】

「必要に応じて置換されたアルキル」、「必要に応じて置換されたアルケニル」、「必要に応じて置換されたアルキニル」、「必要に応じて置換されたアシル」、および「必要に応じて置換された複素環」という用語は、置換されている場合、少なくとも1つの水素原子が置換基で置き換えられていることを意味する。オキソ置換基(=O)の場合では、2つの水素原子が置き換えられている。この点について、置換基としては、オキソ、ハロゲン、複素環、 $-CN$ 、 $-OR^x$ 、 $-NR^xR^y$ 、 $-NR^xC(=O)R^y$ 、 $-NR^xSO_2R^y$ 、 $-C(=O)R^x$ 、 $-C(=O)OR^x$ 、 $-C(=O)NR^xR^y$ 、 $-SO_nR^x$ および $-SO_nNR^xR^y$ が挙げられ、ここで、 n は0、1または2であり、 R^x および R^y は同じであるかまたは異なり、独立に、水素、アルキルまたは複素環であり、前記アルキルおよび複素環置換基のそれぞれが、オキソ、ハロゲン、 $-OH$ 、 $-CN$ 、アルキル、 $-OR^x$ 、複素環、 $-NR^xR^y$ 、 $-NR^xC(=O)R^y$ 、 $-NR^xSO_2R^y$ 、 $-C(=O)R^x$ 、 $-C(=O)OR^x$ 、 $-C(=O)NR^xR^y$ 、 $-SO_nR^x$ および $-SO_nNR^xR^y$ のうちの1つまたは複数でさらに置換されていてもよい。

【0608】

「ハロゲン」とは、フルオロ、クロロ、ブロモおよびヨードを意味する。

【0609】

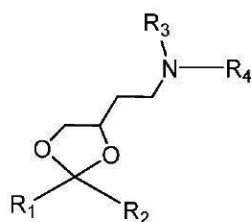
一部の実施形態では、本発明において特徴付けられる方法では、保護基の使用が必要な場合がある。保護基方法体系は当業者に周知である(例えば、PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, Green, T.W. et al., Wiley-Interscience, New York City, 1999を参照されたい)。簡単に述べると、保護基は、本発明に関しては、官能基の望ましくない反応性を低減または排除する任意の基である。保護基を官能基に付加して、ある特定の反応の間のその官能基の反応性を遮蔽し、次いで、保護基を除去して元の官能基を露出させることができる。一部の実施形態では、「アルコール保護基」を使用する。「アルコール保護基」は、アルコール官能基の望ましくない反応性を低減または排除する任意の基である。保護基は、当技術分野で周知の技法を使用して付加および除去することができる。

式Aの合成:

【0610】

ある特定の実施形態では、本発明において特徴付けられる核酸-脂質粒子を、式A:

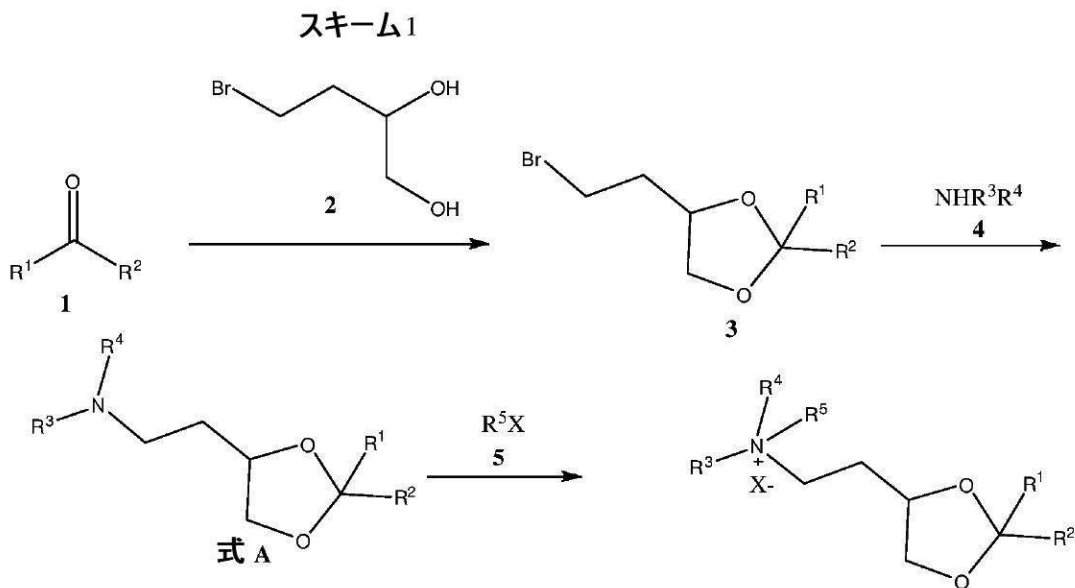
【化29】



(式中、 R_1 および R_2 は、独立に、アルキル、アルケニルまたはアルキニルであり、それぞれが必要に応じて置換されていてもよく、 R_3 および R_4 は、独立に、低級アルキルである、または R_3 および R_4 は、一緒になって必要に応じて置換された複素環式環を形

成していてもよい)のカチオン性脂質を使用して製剤化する。一部の実施形態では、カチオン性脂質は、XTC(2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノエチル-[1,3]-ジオキソラン)である。一般に、上記の式Aの脂質は、以下の反応スキーム1または2によって作製することができ、ここで、置換基は全て、別段の指定のない限り上で定義された通りである。

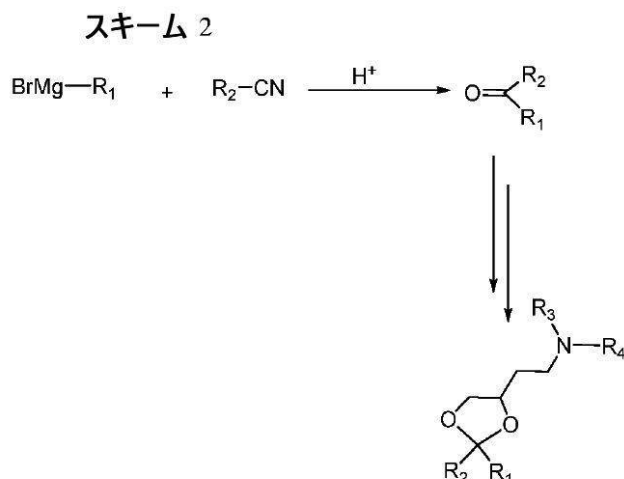
【化30】



【0611】

脂質A(式中、 R_1 および R_2 は、独立に、アルキル、アルケニルまたはアルキニルであり、それぞれが必要に応じて置換されていてもよく、 R_3 および R_4 は、独立に、低級アルキルである、または R_3 および R_4 は、一緒になって必要に応じて置換された複素環式環を形成していてもよい)はスキーム1に従って調製することができる。ケトン1および臭化物2は、購入することもでき、当業者に公知の方法に従って調製することもできる。1および2の反応により、ケタール3がもたらされる。ケタール3をアミン4で処理することにより、式Aの脂質がもたらされる。式Aの脂質は、式5の有機塩を用いて対応するアンモニウム塩に変換することができ、ここで、Xは、ハロゲン、水酸化物、リン酸、硫酸などから選択されるアニオン対イオンである。

【化31】



【0612】

あるいは、ケトン1出発材料をスキーム2に従って調製することができる。グリニャー

ル試薬6およびシアン化物7は、購入することもでき、当業者に公知の方法に従って調製することもできる。6および7の反応により、ケトン1がもたらされる。ケトン1から対応する式Aの脂質への変換は、スキーム1に記載されている通りである。

MC3の合成：

【0613】

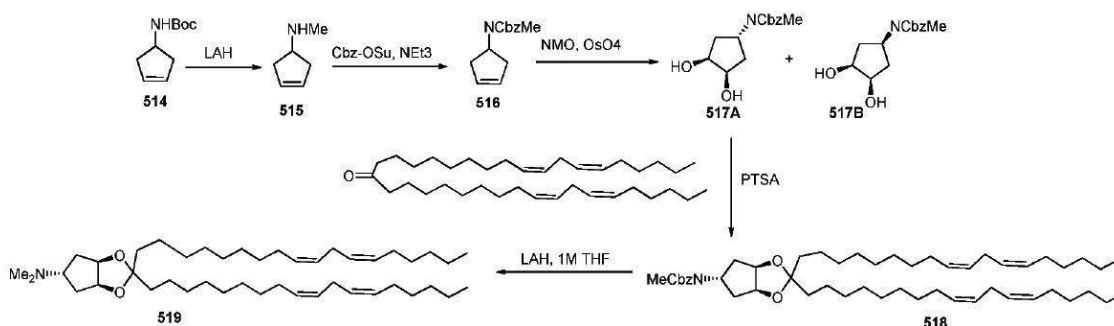
DLin-M-C3-DMA（すなわち、(6Z, 9Z, 28Z, 31Z)-ヘプタトリアコンター6, 9, 28, 31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート）の調製は以下の通りであった。ジクロロメタン(5mL)中、(6Z, 9Z, 28Z, 31Z)-ヘプタトリアコンター6, 9, 28, 31-テトラエン-19-オール(0.53g)、4-N,N-ジメチルアミノ酪酸塩酸塩(0.51g)、4-N,N-ジメチルアミノピリジン(0.61g)および1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(0.53g)の溶液を室温で終夜攪拌した。溶液を希塩酸で洗浄し、その後、水性炭酸水素ナトリウムで希釈した。有機画分を無水硫酸マグネシウムで脱水し、濾過し、溶媒をrotovapで除去した。残留物を、1~5%メタノール/ジクロロメタン溶出勾配を使用してシリカゲルカラム(20g)に通した。精製された産物を含む画分を混ぜ合わせ、溶媒を除去し、無色の油(0.54g)を得た。

【0614】

ALNY-100の合成：

ケタール519 [ALNY-100]の合成を、以下のスキーム3を使用して実施した：

【化32】



【0615】

515の合成：

二首RBF(1L)中、無水THF 200mL中LiAlH₄(3.74g、0.09852mol)の攪拌懸濁液に、THF 70mL中514(10g、0.04926mol)の溶液を0℃、窒素雰囲気下でゆっくりと添加した。完全に添加した後、反応混合物を室温まで温め、次いで、4時間にわたって加熱して還流させた。反応の進行をTLCによってモニタリングした。反応の完了後(TLCによる)、混合物を0℃まで冷却し、飽和型Na₂SO₄溶液を慎重に添加することでクエンチした。反応混合物を室温で4時間にわたって攪拌し、濾別した。残留物をTHFで十分に洗浄した。濾液と洗浄液を混合し、ジオキサン400mLおよび濃HCl 26mLで希釈し、室温で20分間攪拌した。真空下で揮発性を取り除いて、515の塩酸塩を白色固体としてもたらした。収量：7.12g 1H-NMR(DMSO, 400MHz): δ = 9.34(広幅, 2H), 5.68(s, 2H), 3.74(m, 1H), 2.66-2.60(m, 2H), 2.50-2.45(m, 5H)。

【0616】

516の合成：

250mLの二首RBF中、乾燥DCM 100mL中の化合物515の攪拌した溶液に、NEt₃(37.2mL、0.2669mol)を添加し、窒素雰囲気下で0℃まで冷却した。乾燥DCM 50mL中N-(ベンジルオキシカルボニルオキシ)-スクシンイミド(20g、0.08007mol)をゆっくりと添加した後、反応混合物を室温まで温めた。反応の完了後(TLCによって2~3時間)、混合物を1NのHCl溶液(

1×100 mL) および飽和型 NaHCO₃ 溶液 (1×50 mL) で連続的に洗浄した。次いで、有機層を無水 Na₂SO₄ で脱水し、溶媒を蒸発させて、粗製材料をもたらし、それをシリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製して 516 を粘着性の塊として得た。収量：11 g (89%)。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.36-7.27(m, 5H), 5.69 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.96 (br., 1H) 2.74 (s, 3H), 2.60(m, 2H), 2.30-2.25(m, 2H). LC-MS [M+H] - 232.3 (96.94%)。

【0617】

517A および 517B の合成：

シクロペンテン 516 (5 g、0.02164 mol) を、500 mL の一首 RBF 中、アセトンおよび水 (10:1) 220 mL の溶液中に溶解させ、それに、N-メチルモルホリン-N-オキシド (7.6 g、0.06492 mol)、次いで、tert-ブタノール中 OsO₄ (0.275 g、0.00108 mol) の 7.6% 溶液 4.2 mL を室温で添加した。反応の完了後 (約 3 時間)、固体 Na₂SO₃ を添加することで混合物をクエンチし、得られた混合物を室温で 1.5 時間攪拌した。反応混合物を DCM (300 mL) で希釈し、水 (2×100 mL)、その後、飽和型 NaHCO₃ (1×50 mL) 溶液、水 (1×30 mL)、および最終的に鹹水 (1×50 mL) で洗浄した。有機相を Na₂SO₄ で脱水し、溶媒を真空中で除去した。粗製材料のシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製によりジアステレオマーの混合物がもたらされ、それを、プレッ プ HPLC によって分離した。収量：-6 g 粗製 517A-ピーク-1 (白色固体)、5.13 g (96%)。¹H-NMR (DMSO, 400 MHz): δ = 7.39-7.31(m, 5H), 5.04 (s, 2H), 4.78-4.73 (m, 1H), 4.48-4.47(d, 2H), 3.94-3.93(m, 2H), 2.71(s, 3H), 1.72-1.67(m, 4H). LC-MS - [M+H] - 266.3、[M+NH₄+] - 283.5 の存在、HPLC-97.86%。立体化学は X 線によって確認された。

【0618】

518 の合成：

化合物 505 の合成に関して記載されているものと類似の手順を使用して、化合物 518 (1.2 g、41%) を無色の油として得た。¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ = 7.35-7.33(m, 4H), 7.30-7.27(m, 1H), 5.37-5.27(m, 8H), 5.12(s, 2H), 4.75 (m, 1H), 4.58-4.57(m, 2H), 2.78-2.74(m, 7H), 2.06-2.00(m, 8H), 1.96-1.91(m, 2H), 1.62(m, 4H), 1.48(m, 2H), 1.37-1.25(br m, 36H), 0.87(m, 6H). HP LC-98.65%。

化合物 519 の合成の一般的な手順：

【0619】

ヘキサン (15 mL) 中化合物 518 (1 eq) の溶液を、THF (1 M、2 eq) 中 LAH の氷冷溶液に滴下様式で添加した。完全に添加した後、混合物を 0.5 時間にわたって 40 °C で加熱し、次いで、氷浴で再度冷却した。混合物を、飽和型水性 Na₂SO₄ を用いて慎重に加水分解させ、次いで、Celite (登録商標) を通して濾過し、還元させて油にした。カラムクロマトグラフィーにより純粋な 519 (1.3 g、68%) がもたらされ、これは、無色の油として得られた。¹³C NMR = 130.2, 130.1 (x2), 127.9 (x3), 112.3, 79.3, 64.4, 44.7, 38.3, 35.4, 31.5, 29.9 (x2), 29.7, 29.6 (x2), 29.5 (x3), 29.3 (x2), 27.2 (x3), 25.6, 24.5, 23.3, 226, 14.1; エレクトロスプレー MS (+ve) : C₄₄H₈₀NO₂ の分子量 (M+H) + 計算値 654.6、実測値 654.6。

【0620】

標準の方法または押出しを用いない方法のいずれによって調製された製剤も同様の様式で特徴付けることができる。例えば、製剤は、一般には、目視検査によって特徴付けられる。製剤は、凝集体または沈降物を含まない白っぽい半透明の溶液であるべきである。脂質-ナノ粒子の粒径および粒径分布は、例えば Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern、USA) を使用して光散乱によって測定することができる。粒子のサイズは約 20 ~ 300 nm、例えば、40 ~ 100 nm であるべきである。粒

径分布は単峰形になるべきである。製剤中の総dsRNA濃度、ならびに閉じ込められた画分は色素排除アッセイを使用して推定される。製剤化dsRNAの試料を、Ribogreen（登録商標）（Molecular Probes）などのRNA結合性色素と一緒に、製剤を破壊する界面活性物質、例えば、0.5% Triton-X100の存在下または不在下でインキュベートすることができる。製剤中の総dsRNAは、標準曲線と比べた、界面活性物質を含有する試料からのシグナルによって決定することができる。閉じ込められた画分は、総dsRNA含有量から「遊離」dsRNA含有量（界面活性物質の不在下でのシグナルによって測定される）を引くことによって決定される。閉じ込められたdsRNAのパーセントは、一般には>85%である。SNALP製剤に関しては、粒径は、少なくとも30nm、少なくとも40nm、少なくとも50nm、少なくとも60nm、少なくとも70nm、少なくとも80nm、少なくとも90nm、少なくとも100nm、少なくとも110nm、および少なくとも120nmである。適切な範囲は、一般には、およそ少なくとも50nm～およそ少なくとも110nm、およそ少なくとも60nm～およそ少なくとも100nm、またはおよそ少なくとも80nm～およそ少なくとも90nmである。

10

VI. 本発明の方法

【0621】

本発明は、本発明のiRNAおよび／または本発明の組成物を使用して、対象内の細胞などの細胞、例えば肝細胞におけるHSD17B13発現を低減および／または阻害する方法も提供する。方法は、細胞を、本発明のRNAi作用剤またはiRNA作用剤を含む医薬組成物と接触させることを含む。一部の実施形態では、細胞を、HSD17B13遺伝子のmRNA転写物の分解を得るのに十分な時間にわたって維持する。

20

【0622】

本発明は、本発明のiRNAおよび／または本発明の組成物ならびにパタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3（PNPLA3）遺伝子を標的とするiRNA作用剤および／またはPNPLA3を標的とするiRNA作用剤を含む医薬組成物を使用して、対象内の細胞などの細胞、例えば肝細胞におけるHSD17B13発現を低減および／または阻害する方法も提供する。

【0623】

さらに、本発明は、対象内の細胞などの細胞、例えば肝細胞における脂肪滴の蓄積および／または増大を阻害する方法を提供する。方法は、細胞を、本発明のRNAi作用剤またはiRNA作用剤を含む医薬組成物ならびにPNPLA3遺伝子を標的とするiRNA作用剤および／またはPNPLA3を標的とするiRNA作用剤を含む医薬組成物と接触させることを含む。一部の実施形態では、細胞を、HSD17B13遺伝子およびPNPLA3遺伝子のmRNA転写物の分解を得るのに十分な時間にわたって維持する。

30

【0624】

遺伝子発現の低減は、当技術分野で公知の任意の方法によって評価することができる。例えば、HSD17B13の発現の低減は、当業者にとって常套的な方法、例えば、ノーザンブロット法、qRT-PCRを使用してHSD17B13のmRNA発現レベルを決定することによって；ウエスタンブロッティング、免疫学的技法などの当業者にとって常套的な方法を使用してHSD17B13のタンパク質レベルを決定することによって、決定することができる。HSD17B13の発現の低減は、HSD17B13の生物活性の低下、例えば、HSD17B13の酵素活性の低下および／または血漿もしくは組織試料中の脂質、トリグリセリド、コレステロール（LDL-C、HDL-C、VLDL-C、IDL-Cおよび総コレステロールを含む）、もしくは遊離の脂肪酸のうちの1つもしくは複数の減少、ならびに／または肝臓における脂肪の蓄積および／もしくは脂肪滴の増大の低減を測定することによって間接的に評価することもできる。

40

【0625】

PNPLA3遺伝子を標的とする適切な作用剤は、例えば、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許公開第：2017/0340661号に記載されている。

50

【0626】

本発明の方法では、細胞を *in vitro* または *in vivo* において接触させることができる、すなわち、細胞は対象内にあってよい。

【0627】

本発明の方法を使用した処置に適した細胞は、HSD17B13 遺伝子（および、一部の実施形態では PNPLA3 遺伝子）を発現するあらゆる細胞であり得る。本発明の方法における使用に適した細胞は、哺乳動物細胞、例えば、霊長類細胞（例えば、ヒト細胞または非ヒト霊長類細胞、例えば、サル細胞またはチンパンジー細胞など）、非霊長類細胞（例えば、ウシ細胞、ブタ細胞、ラクダ細胞、ラマ細胞、ウマ細胞、ヤギ細胞、ウサギ細胞、ヒツジ細胞、ハムスター、モルモット細胞、ネコ細胞、イヌ細胞、ラット細胞、マウス細胞、ライオン細胞、トラ細胞、クマ細胞、またはスイギュウ細胞など）、鳥類細胞（例えば、アヒル細胞またはガチョウ細胞）、またはクジラ細胞であり得る。一実施形態では、細胞は、ヒト細胞、例えば、ヒト肝細胞である。

10

【0628】

HSD17B13 発現は、細胞において、少なくとも約 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または約 100% 阻害される。好ましい実施形態では、HSD17B13 発現は少なくとも 20% 阻害される。

20

【0629】

一部の実施形態では、PNPLA3 発現も、細胞において、少なくとも約 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、または約 100% 阻害される。好ましい実施形態では、PNPLA3 発現は少なくとも 20% 阻害される。

30

【0630】

一実施形態では、本発明の *in vivo* 方法は、対象に、iRNA を含有する組成物であって、iRNA が、処置される哺乳動物の HSD17B13 遺伝子の RNA 転写物の少なくとも一部と相補的なヌクレオチド配列を含む、組成物を投与することを含み得る。

【0631】

別の実施形態では、本発明の *in vivo* 方法は、対象に、第 1 の iRNA 作用剤および第 2 の iRNA 作用剤を含有する組成物であって、第 1 の iRNA が、処置される哺乳動物の HSD17B13 遺伝子の RNA 転写物の少なくとも一部と相補的なヌクレオチド配列を含み、第 2 の iRNA が、処置される哺乳動物の PNPLA3 遺伝子の RNA 転写物の少なくとも一部と相補的なヌクレオチド配列を含む、組成物を投与することを含み得る。

40

【0632】

処置される生物体がヒトなどの哺乳動物である場合、組成物を、経口経路、腹腔内経路、または、頭蓋内（例えば、脳室内、実質内および髄腔内）、静脈内、筋肉内、皮下、経皮、気道（エアロゾル）、経鼻、直腸、および局部投与（頬側および舌下を含む）を含めた非経口経路を含むがこれだけに限定されない、当技術分野で公知の任意の手段によって投与することができる。ある特定の実施形態では、組成物を静脈内注入または注射によっ

50

て投与する。ある特定の実施形態では、組成物を皮下注射によって投与する。

【0633】

一部の実施形態では、投与は、デポ注射によるものである。デポ注射では、長期間にわたって iRNA を一貫して放出することができる。したがって、デポ注射により、所望の効果、例えば、HSD17B13 の所望の阻害、または治療もしくは予防効果を得るために必要な投薬頻度を減少させることができる。デポ注射では、より一貫した血清中濃度ももたらされ得る。デポ注射は、皮下注射または筋肉内注射を含み得る。好ましい実施形態では、デポ注射は、皮下注射である。

【0634】

一部の実施形態では、投与は、ポンプによるものである。ポンプは、外部ポンプであっても外科的に埋め込まれたポンプであってもよい。ある特定の実施形態では、ポンプは、皮下に埋め込まれた浸透圧ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、注入ポンプである。注入ポンプは、静脈内、皮下、動脈、または硬膜外注入のために使用することができる。好ましい実施形態では、注入ポンプは、皮下注入ポンプである。他の実施形態では、ポンプは、iRNA を肝臓に送達する外科的に埋め込まれたポンプである。

【0635】

本発明の iRNA は、例えば適切な緩衝溶液中など、医薬組成物中に存在し得る。緩衝溶液は、アセテート、シトレート、プロタミン、カーボネート、もしくはホスフェート、またはこれらの任意の組合せを含み得る。一実施形態では、緩衝溶液は、リン酸緩衝食塩水 (PBS) である。iRNA を含有する緩衝溶液の pH および容量オスモル濃度は、対象への投与に適するように調整することができる。

【0636】

あるいは、本発明の iRNA は、dsRNA リポソーム製剤などの医薬組成物として投与することができる。

【0637】

投与形式は、局所的処置が望ましいのか全身処置が望ましいのかに基づいて、および処置される領域に基づいて選択することができる。投与の経路および部位は、標的化が増強されるように選択することができる。

【0638】

一態様では、本発明は、哺乳動物における HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するための方法も提供する。方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞における HSD17B13 遺伝子を標的とする dsRNA を含む組成物を投与し、それにより、細胞における HSD17B13 遺伝子の発現を阻害することを含む。

【0639】

一部の実施形態では、方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞における HSD17B13 遺伝子を標的とする dsRNA を含む組成物を投与し、それにより、細胞における HSD17B13 遺伝子の発現を阻害することを含む。別の実施形態では、方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞における HSD17B13 遺伝子を標的とする dsRNA 作用剤を含む医薬組成物を投与することを含む。

【0640】

別の態様では、本発明は、哺乳動物における HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するための、本発明の iRNA 作用剤または医薬組成物の使用を提供する。

【0641】

さらに別の態様では、本発明は、哺乳動物における HSD17B13 遺伝子の発現を阻害するための医薬の製造における、HSD17B13 遺伝子を標的とする本発明の iRNA 作用剤またはそのような作用剤を含む医薬組成物の使用を提供する。

【0642】

別の態様では、本発明は、哺乳動物における HSD17B13 遺伝子および PNPLA3 遺伝子の発現を阻害するための方法も提供する。方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞における HSD17B13 遺伝子を標的とする dsRNA を含む組成物および哺乳動物の

10

20

30

40

50

細胞におけるPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNAを含む組成物を投与し、それにより、細胞におけるHSD17B13遺伝子およびPNPLA3遺伝子の発現を阻害することを含む。一実施形態では、方法は、哺乳動物に、哺乳動物の細胞におけるHSD17B13遺伝子およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNA作用剤を含む医薬組成物を投与することを含む。

【0643】

一態様では、本発明は、哺乳動物におけるHSD17B13遺伝子およびPNPLA3遺伝子の発現を阻害するための、本発明のiRNA作用剤または医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNAまたはそのような作用剤を含む医薬組成物の使用を提供する。

【0644】

さらに別の態様では、本発明は、哺乳動物におけるHSD17B13遺伝子およびPNPLA3遺伝子の発現を阻害するための医薬の製造における、HSD17B13遺伝子を標的とする本発明のiRNA作用剤またはそのような作用剤を含む医薬組成物、およびPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNAまたはそのような作用剤を含む医薬組成物の使用を提供する。

【0645】

遺伝子発現の低減は、当技術分野において公知の任意の方法によって、および本明細書に記載の方法、例えばqRT-PCRによって評価することができる。タンパク質産生の減少は、当技術分野において公知の任意の方法によって、および、本明細書に記載の方法、例えばELISA、酵素活性によって評価することができる。

【0646】

本発明は、脂肪肝に関連する疾患、障害、または状態を有するまたはそれが発症しやすい対象に、本発明のiRNA作用剤、iRNA作用剤を含む医薬組成物またはiRNAを含むベクターを投与することを含む治療および予防方法も提供する。

【0647】

一態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えばHSD17B13関連疾患を有する対象を処置する方法を提供する。

【0648】

本発明の処置方法（および使用）は、対象、例えばヒトに、治療有効量の、HSD17B13の発現を阻害するdsRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物を投与し、それにより、対象を処置することを含む。

【0649】

一態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば慢性線維炎症性疾患を有する対象における少なくとも1つの症状を防止する方法を提供する。方法は、対象に、予防有効量の、dsRNA作用剤またはdsRNAを含む医薬組成物を投与し、それにより、対象における少なくとも1つの症状を防止することを含む。

【0650】

一実施形態では、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態は、慢性線維炎症性肝疾患である。慢性線維炎症性肝疾患の非限定的な例としては、がん、例えば、がん、例えば、肝細胞癌、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変、肝臓の炎症、肝細胞壊死、肝線維症、および非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が挙げられる。

【0651】

本発明は、脂肪肝に関連する疾患、障害、または状態を有するまたはそれが発症しやすい対象に、本発明のiRNA作用剤、iRNA作用剤を含む医薬組成物またはiRNAを含むベクター、およびPNPLA3を標的とするiRNA作用剤、そのようなiRNA作用剤を含む医薬組成物またはそのようなiRNAを含むベクターを投与することを含む治療および予防方法も提供する。

【0652】

10

20

30

40

50

本発明は、対象、例えば、HSD17B13発現の低減および／または阻害が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13関連疾患、例えば、慢性線維炎症性疾患を処置するための、治療有効量の、本発明のiRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物の使用も提供する。

【0653】

別の態様では、本発明は、対象、例えば、HSD17B13を発現に関して低減および／または阻害することが有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13関連疾患を処置するための医薬の製造における、HSD17B13を遺伝子として標的とする本発明のiRNA作用剤、例えばdsRNAまたはHSD17B13を遺伝子として標的とするiRNA作用剤を含む医薬組成物の使用を提供する。

10

【0654】

本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば慢性線維炎症性疾患を有する対象における少なくとも1つの症状を防止するための、予防有効量の、本発明のiRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物の使用も提供する。

【0655】

別の態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば慢性線維炎症性疾患を有する対象における少なくとも1つの症状を防止するための医薬の製造における、HSD17B13遺伝子を標的とする本発明のiRNA作用剤、例えばdsRNAまたはHSD17B13遺伝子を標的とするiRNA作用剤を含む医薬組成物の使用を提供する。

20

【0656】

一態様では、本発明は、対象、例えば、HSD17B13発現の低減および／または阻害が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13関連疾患、例えば、慢性線維炎症性疾患を処置するための、治療有効量の、本発明のiRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物とPNPLA3遺伝子を標的とするdsRNAまたはそのような作用剤を含む医薬組成物との組合せの使用も提供する。

【0657】

一態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば慢性線維炎症性疾患を有する対象における少なくとも1つの症状を防止するための、HSD17B13遺伝子を標的とする本発明のiRNA作用剤、例えばdsRNA、またはHSD17B13遺伝子を標的とするiRNA作用剤を含む医薬組成物と、PNPLA3遺伝子を標的とするdsRNAまたはそのような作用剤を含む医薬組成物との組合せの使用も提供する。

30

【0658】

慢性線維炎症性肝疾患、例えばNASHなどのHSD17B13に関連する疾患、障害、または状態を有する対象、例えば、ヒト対象を処置するための本発明の組合せ方法は、PNPLA3のサイレンシングにより脂肪症（すなわち、肝臓脂肪）が低減すると同時に、HSD17B13のサイレンシングにより炎症および線維症が低減するような対象を処置するために有用である。例えば、ゲノムワイド関連研究により、PNPLA3のサイレンシングとHSD17B13のサイレンシングにはNASHの病状を低減する相加効果があることが実証された。実際に、保護的な機能喪失型HSD17B13対立遺伝子が、病原性PNPLA3対立遺伝子を有する対象におけるNASHの低有病率に関連することが見いだされた。NASHのリスクが低い、野生型PNPLA3対立遺伝子を有する対象では、機能喪失型HSD17B13対立遺伝子が付加的に存在することにより、はるかに大きな保護が付与された。

40

【0659】

したがって、一態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば、慢性線維炎症性肝疾患（例えば、がん、例えば、肝細胞癌、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変、肝臓の炎症、肝細胞壊死、肝線維症、および

50

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）などのHSD17B13関連疾患を有する対象を処置する方法を提供する。一実施形態では、慢性線維炎症性肝疾患は、NASHである。

【0660】

本発明の組合せ処置方法（および使用）は、対象、例えば、ヒト対象に、治療有効量の、HSD17B13の発現を阻害するdsRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物、および、PNPLA3の発現を阻害するdsRNA作用剤またはPNPLA3の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物を投与し、それにより、対象を処置することを含む。

【0661】

一態様では、本発明は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される障害、例えば慢性線維炎症性疾患、例えば、NASHを有する対象における少なくとも1つの症状を防止する方法を提供する。方法は、対象に、予防有効量の、dsRNA作用剤またはHSD17B13の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物、およびPNPLA3の発現を阻害するdsRNA作用剤またはPNPLA3の発現を阻害するdsRNAを含む医薬組成物を投与し、それにより、対象における少なくとも1つの症状を防止することを含む。

【0662】

一実施形態では、対象は、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3（PNPLA3）I148Mバリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、PNPLA3 I148Mバリエーションをコードする遺伝子に関してホモ接合性である。一実施形態では、対象は、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有3（PNPLA3）I144Mバリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、PNPLA3 I144Mバリエーションをコードする遺伝子に関してホモ接合性である。一実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子に関してホモ接合性である。別の実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。さらに別の実施形態では、対象は、機能的なHSD17B13タンパク質をコードする遺伝子およびHSD17B13の機能喪失型バリエーションをコードする遺伝子に関してヘテロ接合性である。別の実施形態では、対象は、HSD17B13 rs72613567バリエーションの保有者ではない。

【0663】

本発明のある特定の実施形態では、方法は、HSD17B13発現の低減が有益であると予想される対象を同定することを含み得る。方法は、一般に、対象由来の試料がPNPLA3 I148MetバリエーションまたはPNPLA3 I144Metバリエーションをコードする核酸を含むか否かを決定することを含む。方法は、対象由来の試料がI148Mバリエーションを含むPNPLA3タンパク質をコードする第1の核酸および機能的なHSD17B13タンパク質をコードする第2の核酸、ならびに／またはI148Mバリエーションを含むPNPLA3タンパク質および機能的なHSD17B13タンパク質を含むか否かを決定し、第1および第2の核酸の両方が検出された場合、ならびに／または両方のタンパク質が検出された場合に、対象を、HSD17B13を阻害することによって肝疾患を処置または阻害する候補に分類することにより、対象をaHSD17B13の発現を阻害することによって肝疾患を処置または阻害する候補に分類することも含み得る。

【0664】

バリエーションであるPNPLA3 I148MetバリエーションまたはPNPLA3 I144Metバリエーションは、本明細書に記載のPNPLA3 I148MetバリエーションおよびPNPLA3 I144Metバリエーションのいずれであってもよい。PNPLA3 I148MetバリエーションまたはPNPLA3 I144Metバリエーションは、ELISAアッセイ、RT-PCR、配列決定などの任意の適切な手段によ

10

20

30

40

50

って検出することができる。

【0665】

一部の実施形態では、方法は、対象が、PNPLA3 Ile148MetバリエーションまたはPNPLA3 Ile144Metバリエーションに関してホモ接合性であるかまたはヘテロ接合性であるかを決定することをさらに含む。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile148MetバリエーションまたはPNPLA3 Ile144Metバリエーションに関してホモ接合性である。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile148MetバリエーションまたはPNPLA3 Ile144Metバリエーションに関してヘテロ接合性である。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile148Metバリエーションに関してホモ接合性である。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile148Metバリエーションに関してヘテロ接合性である。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile144Metバリエーションに関してホモ接合性である。一部の実施形態では、対象は、PNPLA3 Ile144Metバリエーションに関してヘテロ接合性である。

10

【0666】

一部の実施形態では、対象は、HSD17B13タンパク質の機能喪失型バリエーションをコードするいかなる遺伝子も含まない。本明細書および2017年10月11日出願の米国仮出願第62/570,985号に記載されているものを含めたHSD17B13タンパク質の機能喪失型バリエーションにより肝疾患—保護効果が付与され则认为られ、さらに、この保護効果がバリエーションPNPLA3 Ile148Mバリエーションの存在下で増強され则认为られる。

20

【0667】

一部の実施形態では、方法は、対象が肥満であるかどうかを決定することをさらに含む。一部の実施形態では、対象は、肥満度指数(BMI)が 30 kg/m^2 を超える場合、肥満である。肥満症は、肝疾患を有するまたはそれが発症するリスクがある対象の特性であり得る。一部の実施形態では、方法は、対象が脂肪肝を有するかどうかを決定することをさらに含む。脂肪肝は、肝疾患を有するまたはそれが発症するリスクがある対象の特性であり得る。一部の実施形態では、方法は、対象が肥満であり、脂肪肝を有するかどうかを決定することをさらに含む。

【0668】

本明細書で使用される場合、「非アルコール性脂肪性肝疾患」は、「NAFLD」という用語と互換的に使用され、1日当たり20g未満のアルコール摂取の存在下で大血管脂肪症が存在することによって定義される疾患を指す。NAFLDは、米国における最も一般的な肝疾患であり、一般に、インスリン抵抗性/2型糖尿病および肥満症に関連する。NAFLDは、脂肪症、脂肪性肝炎、硬変症、および時には肝細胞癌によって顕在化する。NAFLDの概説については、その内容全体が参照により本明細書に組み込まれるTolman and Dalpiaz (2007) Ther. Clin. Risk. Manag., 3(6):1153-1163を参照されたい。

30

【0669】

本明細書で使用される場合、「脂肪症」、「肝脂肪症」、および「脂肪性肝疾患」という用語は、肝細胞内へのトリグリセリドおよび他の脂肪の蓄積を指す。

40

【0670】

本明細書で使用される場合、「非アルコール性脂肪性肝炎」または「NASH」という用語は、肝臓内の脂肪の蓄積によって引き起こされる肝臓の炎症および損傷を指す。NASHは、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)と称される状態の群の一部である。NASHは、アルコール性肝疾患と似ているが、アルコールをほとんどまたは全く飲まない人において生じる。NASHの主要な特徴は、炎症および損傷と一緒に、肝臓内の脂肪である。NASHを有する人の大多数が、体調がよく、肝臓の問題を有することに気づかない。それにもかかわらず、NASHは、重症の恐れがあり、肝臓が恒久的に損傷を受け、傷痕が残り、もはや適正に機能することができない硬変症に至る恐れがある。NASH

50

は、通常、まず、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）またはアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）などの、常套的な血液検査パネルに含まれる肝臓検査値に上昇を有することがわかる人において疑われる。さらなる評価により肝疾患の明らかな根拠（例えば、薬物適用、ウイルス性肝炎、またはアルコールの過剰な使用など）が示されない場合、および肝臓のx線または画像化試験により脂肪が示された場合には、NAASHが疑われる。NAASHの診断をもたらし、NAASHを単純な脂肪肝と分別するための唯一の手段は肝臓生検である。

【0671】

本明細書で使用される場合、「硬変症」という用語は、組織学的に定義され、線維症および正常な肝臓アーキテクチャから構造的に異常な小結節への変換を特徴とするびまん性肝臓プロセスである。

10

【0672】

本明細書で使用される場合、「血清脂質」という用語は、血液中に存在する任意の主要な脂質を指す。血清脂質は、血液中に、遊離形態で、またはタンパク質複合体、例えばリポタンパク質複合体の一部としてのいずれかで存在し得る。血清脂質の非限定的な例としては、トリグリセリド（TG）、コレステロール、例えば、総コレステロール（TC）、低密度リポタンパク質コレステロール（LDL-C）、高密度リポタンパク質コレステロール（HDL-C）、超低密度リポタンパク質コレステロール（VLDL-C）および中間密度リポタンパク質コレステロール（IDL-C）などを挙げることができる。

【0673】

一実施形態では、HSD17B13（および、一部の実施形態では、PNPLA3）の発現の低減が有益であると予想される対象は、例えば、2型糖尿病および糖尿病前症、または肥満症を有する対象；血液中にコレステロールなどの脂肪を高レベルで有する、または高血圧を有する対象；メタボリックシンドロームを含めたある特定の代謝障害を有する対象；急速な体重減少を有する対象；C型肝炎感染症などのある特定の感染症を有する対象、またはいくつかの毒素に曝露した対象である。一実施形態では、HSD17B13（および、一部の実施形態では、PNPLA3）の発現の低減が有益であると予想される対象は、例えば、中年またはそれよりも高齢の対象；ラテンアメリカ系、非ラテンアメリカ系白人、またはアフリカ系米国人である対象；コルチコステロイドおよび制がん薬などのある特定の薬物を服用している対象である。

20

【0674】

対象に、HSD17B13を標的とする第1のdsRNA作用剤およびPNPLA3を標的とする第2のdsRNA作用剤を投与することを含む本発明の方法（および使用）では、第1および第2のdsRNA作用剤は、同じ組成物に製剤化することも異なる組成物に製剤化することもでき、対象に、同じ組成物として投与することも別の組成物として投与することもできる。

30

【0675】

一実施形態では、本発明の方法において使用するための「iRNA」は、「二重標的化RNAi作用剤」である。「二重標的化RNAi作用剤」という用語は、第1の標的RNA、すなわちHSD17B13遺伝子に対して「センス」および「アンチセンス」方向を有すると称される2つの逆平行の実質的に相補的な核酸鎖で構成される二重鎖構造を有するリボ核酸分子の複合体を含む第1のdsRNA作用剤を含む分子と、第2の標的RNA、すなわち、PNPLA3遺伝子に対して「センス」および「アンチセンス」方向を有すると称される2つの逆平行の実質的に相補的な核酸鎖で構成される二重鎖構造を有するリボ核酸分子の複合体を含む第2のdsRNA作用剤を含む分子が共有結合により付着したものを指す。本発明の一部の実施形態では、二重標的化RNAi作用剤により、本明細書ではRNA干渉またはRNAiと称される転写後遺伝子サイレンシング機構を通じて、第1および第2の標的RNA、例えば、mRNAの分解が誘発される。

40

【0676】

dsRNA作用剤は、対象に約0.1mg/kg～約50mg/kgの用量で投与する

50

ことができる。一般には、適切な用量は、約 0.1 mg/kg ～ 約 5.0 mg/kg 、好ましくは約 0.3 mg/kg および約 3.0 mg/kg の範囲内に入る。

【0677】

iRNAは、ある期間にわたって、定期的に静脈内注入によって投与することができる。ある特定の実施形態では、最初の処置レジメン後に、処置をより低頻度で施行することができる。

【0678】

iRNAの投与により、例えば、患者の細胞、組織、血液、尿または他の区画におけるHSD17B13レベルを少なくとも約5%、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、39、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または少なくとも約99%またはそれよりも大きく低下させることができる。好ましい実施形態では、iRNAの投与により、例えば、患者の細胞、組織、血液、尿または他の区画におけるHSD17B13レベルを少なくとも20%低下させることができる。

【0679】

iRNAの投与により、例えば、患者の細胞、組織、血液、尿または他の区画におけるPNPLA3レベルを少なくとも約5%、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、39、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、または少なくとも約99%またはそれよりも大きく低下させることができる。好ましい実施形態では、iRNAの投与により、例えば、患者の細胞、組織、血液、尿または他の区画におけるPNPLA3レベルを少なくとも20%低下させることができる。

【0680】

iRNAの完全な用量を投与する前に、患者に、5%インフュージョンリアクションなどのより小さな用量を投与し、アレルギー反応などの有害作用についてモニタリングすることができる。別の例では、患者を、サイトカイン（例えば、TNF- α またはINF- α ）レベルの上昇などの望ましくない免疫賦活作用についてモニタリングすることができる。

【0681】

あるいは、iRNAを皮下に、すなわち、皮下注射によって投与することができる。所望の1日用量のiRNAを対象に送達するために1回または複数回の注射を使用することができる。注射をある期間にわたって繰り返すことができる。投与を定期的に繰り返すことができる。ある特定の実施形態では、最初の処置レジメン後に、処置をより低頻度で施行することができる。反復投薬レジメンは、治療量のiRNAを、例えば、2日に1回または1年に1回など、定期的に投与することを含み得る。ある特定の実施形態では、iRNAをおよそ1週間に1回、7～10日に1回、2週間に1回、3週間に1回、4週間に1回、5週間に1回、6週間に1回、7週間に1回、8週間に1回、9週間に1回、10週間に1回、11週間に1回、12週間に1回、1カ月に1回、2カ月に1回、3カ月に1回、四半期に1回、4カ月に1回、5カ月に1回、または6カ月に1回、投与する。

【0682】

一実施形態では、方法は、本明細書で特徴付けられる組成物を、標的HSD17B13遺伝子の発現が、例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24時間、28、32、または約36時間にわたって低減するように投与することを含む。一実施形態では、標的HSD17B13遺伝子の発現が、長期の持続時間、例えば、少なくとも約2、3、4日間またはそれよりも長く、例えば、約1週間、2週間、3週間、または4週間またはそれよりも長くにわたって低減する。

【0683】

別の実施形態では、方法は、本明細書で特徴付けられる組成物を、標的PNPLA3遺伝子の発現が、例えば、約1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24時間、28、32、または約36時間にわたって低減するように投与することを含む。一実施形態では、標的PNPLA3遺伝子の発現が、長期の持続時間、例えば、少なくとも約2、3、4日間またはそれよりも長く、例えば、約1週間、2週間、3週間、または4週間またはより長くにわたって低減する。

10

【0684】

本明細書で特徴付けられる方法および組成物に有用なiRNAは、標的HSD17B13遺伝子（および、一部の実施形態では、PNPLA3遺伝子）のRNA（一次またはプロセシングされたもの）を特異的に標的とすることが好ましい。iRNAを使用してこれらの遺伝子の発現を阻害するための組成物および方法を本明細書に記載の通り調製および実施することができる。

【0685】

本発明の方法に従ったdsRNAの投与により、脂質代謝の障害を有する患者における、そのような疾患または障害の重症度、徴候、症状、および／またはマーカーの低減をもたらすことができる。これに関して「低減」とは、そのようなレベルの統計的に有意な低下を意味する。低減は、例えば、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、または約100%であり得る。

20

【0686】

疾患の処置または防止の有効性は、例えば、疾患の増悪、疾患の寛解、症状の重症度、疼痛の軽減、生活の質、処置効果を持続させるために必要な薬物適用の用量、疾患マーカーまたは処置されるもしくは防止の標的とされる所与の疾患に妥当な任意の他の測定可能なパラメーターのレベルを測定することによって評価することができる。そのようなパラメーター、またはパラメーターの任意の組合せのいずれか1つを測定することによって処置または防止の有効性をモニタリングすることは、当業者の能力の範囲内に十分に入る。例えば、脂質代謝の障害の処置の有効性を、例えば、1つまたは複数の血清脂質レベル、例えば、トリグリセリドレベルの周期的なモニタリングによって評価することができる。後の読み取りと最初の読み取りを比較することにより、処置が有効であるかどうかの指標が医師にもたらされる。そのようなパラメーター、またはパラメーターの任意の組合せのいずれか1つを測定することによって処置または防止の有効性をモニタリングすることは、当業者の能力の範囲内に十分に入る。iRNAまたはその医薬組成物の投与に関連して、脂質代謝の障害「に対して有効」とは、臨床的に妥当な様式での投与の結果、少なくとも統計的に有意な割合の患者に、症状の改善、治癒、疾患の軽減、寿命の延長、生活の質の改善、または脂質代謝の障害の処置および関連する原因に詳しい医師によって効果的であると一般に認識される他の効果などの有益な効果がもたらされることを示す。

30

【0687】

処置または防止効果は、病状の1つまたは複数のパラメーターに統計的に有意な改善がある場合に、またはそうでなければ予測される症状の悪化または発症がないことによって明らかである。例として、疾患の測定可能なパラメーターの少なくとも10%の好都合な変化、および好ましくは少なくとも20%、30%、40%、50%またはそれよりも大きな好都合な変化により、有効な処置が示される。所与のiRNA薬物またはその薬物の製剤の有効性はまた、当技術分野で公知の通り、所与の疾患に関する実験動物モデルを使

40

50

用して判断することもできる。

【0688】

本発明は、例えば、HSD17B13発現またはHSD17B13の低減および／または阻害が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態を有する対象を処置するための本発明のiRNA作用剤または医薬組成物を、他の医薬品および／または他の治療方法と、例えば、例えばこれらの障害を処置するために現在使用されているものなどの、公知の医薬品および／または公知の治療方法と組み合わせて使用するための方法をさらに提供する。一部の実施形態では、本発明は、例えば、HSD17B13発現およびPNPLA3発現の低減および／または阻害が有益であると予想される対象、例えば、HSD17B13に関連する疾患、障害、または状態（例えば、NASH）を有する対象を処置するための本発明のiRNA作用剤または医薬組成物およびPNPLA3を標的とするiRNA作用剤を、他の医薬品および／または他の治療方法と、例えば、例えばこれらの障害を処置するために現在使用されているものなどの、公知の医薬品および／または公知の治療方法と組み合わせて使用するための方法を提供する。例えば、ある特定の実施形態では、本発明のiRNA作用剤または医薬組成物を、例えば、ピリドキシン、ACE阻害薬（アンジオテンシン変換酵素阻害剤）、例えば、血圧を低下させるためのベナゼプリル作用剤、例えば、利尿薬、ベータ遮断薬、ACE阻害剤、アンジオテンシンII受容体遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、アルファ遮断薬、アルファ-2受容体アンタゴニスト、混合アルファおよびベータ遮断薬、中枢アゴニスト、末梢性アドレナリン作用阻害剤、および血管拡張薬；またはコレステロールを低減するための作用剤、例えば、スタチン、選択的コレステロール吸収阻害剤、樹脂；脂質低下治療；インスリン感作物質、例えば、PPAR γ アゴニストピオグリタゾンなど；glp-1rアゴニスト、例えば、リラグルタチドなど；ビタミンE；SGLT2阻害剤；またはDPP-IV阻害剤；または前述のいずれかの組合せと組み合わせて投与する。一実施形態では、本発明のiRNA作用剤または医薬組成物を、膜貫通6スーパーファミリーメンバー2（TM6SF2）遺伝子の発現および／または活性を阻害する作用剤、例えば、TM6SF2遺伝子の発現を阻害するRNAi作用剤と組み合わせて投与する。

【0689】

iRNA作用剤と追加的な治療剤および／または処置は、同時におよび／または同じ組合せで、例えば、皮下に投与することもでき、追加的な治療剤を別の組成物の一部としてまたは別の時間に、および／または当技術分野で公知のもしくは本明細書に記載の別の方法によって投与することもできる。

VII. キット

【0690】

本発明は、本発明の方法のいずれかを実施するためのキットも提供する。そのようなキットは、1つまたは複数のRNAi作用剤および使用に関する指示、例えば、細胞を本発明のRNAi作用剤または医薬組成物とHSD17B13の発現を阻害するために有効な量で接触させることによって細胞におけるHSD17B13の発現を阻害することに関する指示を含む。キットは、必要に応じて、細胞をRNAi作用剤と接触させるための手段（例えば、注射デバイス）、またはHSD17B13の阻害を測定するための手段（例えば、HSD17B13 mRNAおよび／またはHSD17B13タンパク質の阻害を測定するための手段）をさらに含み得る。HSD17B13の阻害を測定するためのそのような手段は、対象由来の試料、例えば、血漿試料などを得るための手段を含み得る。本発明のキットは、必要に応じて、RNAi作用剤を対象に投与するための手段または治療有効量もしくは予防有効量を決定するための手段をさらに含み得る。

【0691】

特に定義されていなければ、本明細書において使用される全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解されているものと同じ意味を有する。本発明において特徴付けられるiRNAおよび方法の実施または試験において本明細書に記載のものと同様または同等である方法および材料を使用することができるが、適切な方法および

10

20

30

40

50

材料を以下に記載する。本明細書において言及されている全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。矛盾する場合は、定義を含めた本明細書が支配する。さらに、材料、方法および実施例は単に例示的なものであり、限定されるものではない。

【実施例】

【0692】

(実施例1)

iRNAの設計、合成、および選択

この実施例では、HSD17B13 iRNA作用剤を設計、合成、および選択するための方法を記載する。

試薬の供給源

【0693】

試薬の供給源が本明細書において具体的に示されていない場合、そのような試薬は、分子生物学用の試薬の任意の供給者から分子生物学に適用するための標準の品質／純度で入手することができる。

バイオインフォマティクス

【0694】

ヒト水酸化ステロイド17-β脱水素酵素13遺伝子(HSD17B13; ヒトNCBI refseq ID NM_178135.4; NCBI Gene ID: 345275)ならびにカニクイザル由来の毒性学種HSD17B13オルソログ: XM_005555367.2を標的とするsiRNAのセットを、カスタムのRおよびPythonスクリプトを使用して設計した。siRNA設計は全て、ヒトHSD17B13転写物に対する完全なマッチおよびカニクイザルオルソログと完全にまたはほぼ完全にマッチするサブセットを有する。ヒトNM_178135 REFSEQ mRNA、バージョン4は2397塩基の長さを有する。siRNA設計のセットのための理論的根拠および方法は以下の通りである: 10位から末端までのあらゆる潜在的な23merのsiRNAについての予測される有効性を、脊椎動物遺伝子の多様なセットを標的とする数千種の別個のsiRNA設計からのmRNAノックダウンの直接測定から導かれたランダムフォレストモデルを用いて決定した。siRNAの各鎖について、カスタムPythonスクリプトを総当たり検索に使用して、siRNAとヒトトランスクリプトーム内の全ての潜在的なアラインメントの間の mismatches の数および位置を測定した。本明細書ではアンチセンスオリゴヌクレオチドの2位~9位と定義されるシード領域内の mismatches、ならびに本明細書ではアンチセンスオリゴヌクレオチドの10位~11位と定義されるsiRNAの切断部位に追加の重み付けを行った。 mismatches の相対的な重みは、シード mismatches、切断部位、およびアンチセンス19位に至るまでの他の位置に対して、2.8、1.2、1であった。最初の位置の mismatches は無視した。各鎖について特異性スコアを、重み付けされた mismatches それぞれの値を合計することによって算出した。ヒトおよびカニクイザルにおけるアンチセンススコアが ≥ 2 であり、予測される有効性が $\geq 50\%$ ノックダウンであったsiRNAに優先性を与えた。

【0695】

センス鎖およびアンチセンス鎖配列の修飾されていないヌクレオチド配列の詳細な一覧を表2に示す。

【0696】

センス鎖およびアンチセンス鎖配列の修飾されたヌクレオチド配列の詳細な一覧を表3に示す。

in vitroにおけるCos-7 (Dual-Luciferase psiCHECK2ベクター)、初代ヒト肝細胞、および初代カニクイザル肝細胞のスクリーニング細胞培養物およびトランスフェクション:

【0697】

Cos-7 (ATCC) を、384ウェルプレート中、ウェル当たり5 μ lの、Opt

10

20

30

40

50

i-MEM中に希釈した $1\text{ ng}/\mu\text{ l}$ のHSD17B13 psiCHECK2ベクター (Blue Heron Biotechnology)、 $4.9\mu\text{ l}$ のOpti-MEM、プラス $0.1\mu\text{ l}$ のLipofectamine 2000 (Invitrogen、Carlsbad CA、cat#11668-019)を、ウェル当たり $5\mu\text{ l}$ のsiRNA二重鎖に、各siRNA二重鎖について4つの反復実験で添加することによってトランスフェクトし、室温で15分間インキュベートした。次いで、約 5×10^3 個の細胞を含有するダルベッコ改変イーグル培地 (ThermoFisher) $35\mu\text{ l}$ をsiRNA混合物に添加した。細胞を48時間インキュベートし、その後、ホタル (トランスフェクション対照) およびウミシイタケ (標的配列と融合したもの) ルシフェラーゼ測定を行った。単一用量実験を 50 nM で実施した。

10

【0698】

初代ヒト肝細胞 (BioIVT) を、384ウェルプレート中、ウェル当たり $4.9\mu\text{ l}$ のOpti-MEMプラス $0.1\mu\text{ l}$ のRNAiMAX (Invitrogen、Carlsbad CA、cat#13778-150)を、ウェル当たり $5\mu\text{ l}$ のsiRNA二重鎖に、各siRNA二重鎖について4つの反復実験で添加することによってトランスフェクトし、室温で15分間インキュベートした。次いで、約 15×10^3 個の細胞を含有するInvitroGRO CPプレATING培地 (BioIVT) $50\mu\text{ l}$ をsiRNA混合物に添加した。細胞を48時間インキュベートした後、RNA精製を行った。単一用量実験を 50 nM で実施した。

【0699】

20

初代カニクイザル肝細胞 (BioIVT) を、384ウェルプレート中、ウェル当たり $4.9\mu\text{ l}$ のOpti-MEMプラス $0.1\mu\text{ l}$ のRNAiMAX (Invitrogen、Carlsbad CA、cat#13778-150)を、ウェル当たり $5\mu\text{ l}$ のsiRNA二重鎖に、各siRNA二重鎖について4つの反復実験で添加することによってトランスフェクトし、室温で15分間インキュベートした。次いで、約 5×10^3 個の細胞を含有するInvitroGRO CPプレATING培地 (BioIVT) $50\mu\text{ l}$ をsiRNA混合物に添加した。細胞を48時間インキュベートした後、RNA精製を行った。単一用量実験を 50 nM で実施した。

DYNABEADS mRNA単離キットを使用した全RNA単離：

【0700】

30

RNAを、DYNABEAD (Invitrogen、cat#61012)を使用し、BioTek-EL406プラットフォームにおいて自動プロトコルを使用して単離した。簡単に述べると、溶解／結合緩衝剤 $70\mu\text{ l}$ および磁気ビーズ $3\mu\text{ l}$ を含有する溶解緩衝剤 $10\mu\text{ l}$ を、細胞と共にプレートに添加した。プレートを、電磁気振とう機において室温で10分間インキュベートし、次いで、磁気ビーズを捕捉し、上清を除去した。次いで、ビーズに結合したRNAを洗浄緩衝剤A $150\mu\text{ l}$ で2回洗浄し、洗浄緩衝剤Bで1回洗浄した。次いで、ビーズを溶出緩衝剤 $150\mu\text{ l}$ で洗浄し、再捕捉し、上清を除去した。

ABI High capacity cDNA逆転写キット (Applied Biosystems、Foster City、CA、Cat#4368813)を使用したcDNA合成：

40

【0701】

反応当たり $10\times$ 緩衝剤 $1\mu\text{ l}$ 、 $25\times$ dNTP $0.4\mu\text{ l}$ 、 $10\times$ ランダムプライマー $1\mu\text{ l}$ 、逆転写酵素 $0.5\mu\text{ l}$ 、RNase阻害剤 $0.5\mu\text{ l}$ および H_2O $6.6\mu\text{ l}$ を含有するマスターミックス $10\mu\text{ l}$ を上で単離したRNAに添加した。プレートを密閉し、混合し、電磁気振とう機において室温で10分間インキュベートし、その後、 37°C で2時間インキュベートした。

リアルタイムPCR：

【0702】

384ウェルプレート (Roche cat#04887301001) 中、ウェル当

50

たり2 μ lのcDNAおよび5 μ lのLightcycler 480プローブマスターミックス (Roche Cat#04887301001) を0.5 μ lのヒトGAPDH TaqMan Probe (4326317E) および0.5 μ lのHSD17B13ヒトプローブ (Hs01068199_m1、Thermo) または0.5 μ lのCyno GAPDH (カスタム) および0.5 μ lのHSD17B13 Cynoプローブ (Mf02888851_m1、Thermo) のいずれかに添加した。LightCycler 480 Real Time PCR system (Roche) においてリアルタイムPCRを行った。各二重鎖を少なくとも2回試験し、データを、非標的化対照siRNAでトランスフェクトした細胞に対して正規化した。相対的な倍率変化を算出するために、リアルタイムデータを、 $\Delta\Delta C_t$ 法を使用して解析し、非標的化対照siRNAでトランスフェクトした細胞を用いて実施したアッセイに対して正規化した。

10

【0703】

表4は、示されているiRNA作用剤を用いてトランスフェクトしたCos-7 (Dual-Luciferase psiCHECK2ベクター) 細胞における50 nM単一用量スクリーニングの結果を示す。データは、無処理の細胞と比べた残存メッセージのパーセントとして表されている。

【0704】

表5は、示されているiRNA作用剤を用いてトランスフェクトした初代ヒト肝細胞における50 nM単一用量スクリーニングの結果を示す。データは、無処理の細胞と比べた残存メッセージのパーセントとして表されている。

20

【0705】

表6は、示されているiRNA作用剤を用いてトランスフェクトした初代カニクイザル肝細胞における50 nM単一用量スクリーニングの結果を示す。データは、無処理の細胞と比べた残存メッセージのパーセントとして表されている。

【0706】

30

40

50

【表 1 - 1】

表1:核酸配列表示に使用されるヌクレオチド単量体の略語。

これらの単量体は、オリゴヌクレオチド内に存在する場合、5'-3'-リン酸ジエステル結合によって相互連結していることが理解されよう。

略語	ヌクレオチド
A	アデノシン-3'-リン酸
Ab	ベータ-L-アデノシン-3'-リン酸
Abs	ベータ-L-アデノシン-3'-ホスホロチオエート
Af	2'-フルオロアデノシン-3'-リン酸
Afs	2'-フルオロアデノシン-3'-ホスホロチオエート
As	アデノシン-3'-ホスホロチオエート
C	シチジン-3'-リン酸
Cb	ベータ-L-シチジン-3'-リン酸
Cbs	ベータ-L-シチジン-3'-ホスホロチオエート
Cf	2'-フルオロシチジン-3'-リン酸
Cfs	2'-フルオロシチジン-3'-ホスホロチオエート
Cs	シチジン-3'-ホスホロチオエート
G	グアノシン-3'-リン酸
Gb	ベータ-L-グアノシン-3'-リン酸
Gbs	ベータ-L-グアノシン-3'-ホスホロチオエート
Gf	2'-フルオログアノシン-3'-リン酸
Gfs	2'-フルオログアノシン-3'-ホスホロチオエート
Gs	グアノシン-3'-ホスホロチオエート
T	5'-メチルウリジン-3'-リン酸
Tf	2'-フルオロ-5'-メチルウリジン-3'-リン酸
Tfs	2'-フルオロ-5'-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
Ts	5'-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
U	ウリジン-3'-リン酸
Uf	2'-フルオロウリジン-3'-リン酸
Ufs	2'-フルオロウリジン-3'-ホスホロチオエート
Us	ウリジン-3'-ホスホロチオエート
N	任意のヌクレオチド(G、A、C、TまたはU)
a	2'-O-メチルアデノシン-3'-リン酸
as	2'-O-メチルアデノシン-3'-ホスホロチオエート
c	2'-O-メチルシチジン-3'-リン酸
cs	2'-O-メチルシチジン-3'-ホスホロチオエート
g	2'-O-メチलगアノシン-3'-リン酸
gs	2'-O-メチलगアノシン-3'-ホスホロチオエート
t	2'-O-メチル-5'-メチルウリジン-3'-リン酸

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

略語	ヌクレオチド
ts	2'-O-メチル-5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
u	2'-O-メチルウリジン-3'-リン酸
us	2'-O-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
s	ホスホロチオエート連結
L96	N-[トリス(GalNAc-アルキル)-アミドデカノイル]-4-ヒドロキシブポリノール
P	リン酸
VP	ビニル-リン酸
dA	2'-デオキシアデノシン-3'-リン酸
dAs	2'-デオキシアデノシン-3'-ホスホロチオエート
dC	2'-デオキシシチジン-3'-リン酸
dCs	2'-デオキシシチジン-3'-ホスホロチオエート
dG	2'-デオキシグアノシン-3'-リン酸
dGs	2'-デオキシグアノシン-3'-ホスホロチオエート
dT	2'-デオキシチミジン-3'-リン酸
dTs	2'-デオキシチミジン-3'-ホスホロチオエート
dU	2'-デオキシウリジン
dUs	2'-デオキシウリジン-3'-ホスホロチオエート
Y34	2-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-4-メトキシ-3-リン酸(脱塩基2'-OMe フラノース)
Y44	逆脱塩基DNA(2-ヒドロキシメチル-テトラヒドロフラン-5-リン酸)
(Agn)	アデノシン-グリコール核酸(GNA)
(Cgn)	シチジン-グリコール核酸(GNA)
(Ggn)	グアノシン-グリコール核酸(GNA)
(Tgn)	チミジン-グリコール核酸(GNA)S-異性体
(Aam)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)アデノシン-3'-リン酸
(Aams)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)アデノシン-3'-ホスホロチオエート
(Gam)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)グアノシン-3'-リン酸
(Gams)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)グアノシン-3'-ホスホロチオエート
(Tam)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)チミジン-3'-リン酸
(Tams)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)チミジン-3'-ホスホロチオエート
(Aeo)	2'-O-メトキシエチルアデノシン-3'-リン酸
(Aeos)	2'-O-メトキシエチルアデノシン-3'-ホスホロチオエート
(Geo)	2'-O-メトキシエチルグアノシン-3'-リン酸
(Geos)	2'-O-メトキシエチルグアノシン-3'-ホスホロチオエート
(Teo)	2'-O-メトキシエチル-5-メチルウリジン-3'-リン酸
(Teos)	2'-O-メトキシエチル-5-メチルウリジン-3'-ホスホロチオエート
(m5Geo)	2'-O-メトキシエチル-5-メチルシチジン-3'-リン酸

10

20

30

40

50

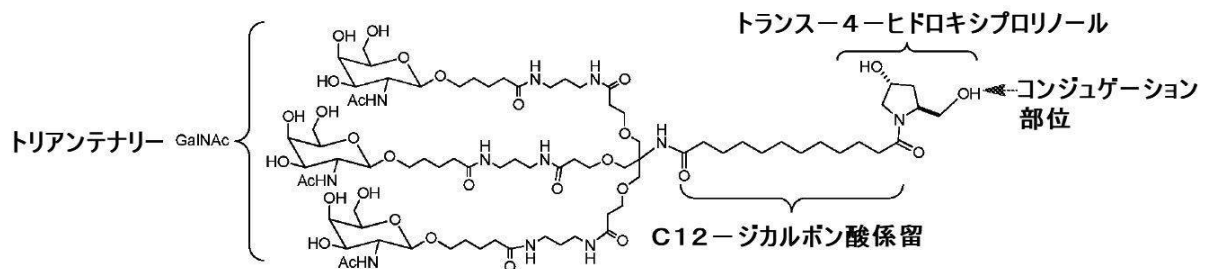
【表 1 - 3】

略語	ヌクレオチド
(m5Ceos)	2'-O-メトキシエチル-5-メチルシチジン-3'-ホスホロチオエート
(A3m)	3'-O-メチルアデノシン-2'-リン酸
(A3mx)	3'-O-メチル-キシロフラノシルアデノシン-2'-リン酸
(G3m)	3'-O-メチルグアノシン-2'-リン酸
(G3mx)	3'-O-メチル-キシロフラノシルグアノシン-2'-リン酸
(C3m)	3'-O-メチルシチジン-2'-リン酸
(C3mx)	3'-O-メチル-キシロフラノシルシチジン-2'-リン酸
(U3m)	3'-O-メチルウリジン-2'-リン酸
(U3mx)	3'-O-メチル-キシロフラノシルウリジン-2'-リン酸
(m5Cam)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)-5-メチルシチジン-3'-リン酸
(m5Cams)	2'-O-(N-メチルアセトアミド)-5-メチルシチジン-3'-ホスホロチオエート
(Chd)	2'-O-ヘキサデシル-シチジン-3'-リン酸
(Chds)	2'-O-ヘキサデシル-シチジン-3'-ホスホロチオエート
(Uhd)	2'-O-ヘキサデシル-ウリジン-3'-リン酸
(Uhds)	2'-O-ヘキサデシル-ウリジン-3'-ホスホロチオエート
(pshe)	ヒドロキシエチルホスホロチオエート

【 0 7 0 7 】

¹L96の化学構造は以下の通りである：

【化 3 3】



【 0 7 0 8 】

10

20

30

40

50

【表 2 - 1】

表2.HSD17B13の修飾されていない配列

二重鎖名	配列番号	センス鎖配列、5'から3'へ	NM_178135.4 における位置	配列番号	アンチセンス鎖配列、5'から3'へ	NM_178135.4 における範囲
AD-238911.1	3003	CAGUACCUCCUCCUAGGACU	4-24	3299	AGUCCUAGGGAGGAGGUACUGUC	2-24
AD-238912.1	3004	AGUACCUCCUCCUAGGACUA	5-25	3300	UAGUCCUAGGGAGGAGGUACUGU	3-25
AD-238913.1	3005	GUACCUCCUCCUAGGACUAA	6-26	3301	UUAGUCCUAGGGAGGAGGUACUG	4-26
AD-238929.1	3006	ACUACACAAGGACUGAACCAA	22-42	3302	UUGGUUCAGUCCUUGUUGUAGUCC	20-42
AD-238930.1	3007	CUACACAAGGACUGAACCCAGA	23-43	3303	UCUGGUUCAGUCCUUGUUGUAGUC	21-43
AD-238932.1	3008	ACACAAGGACUGAACCCAGAAA	25-45	3304	UUUCUGGUUCAGUCCUUGUUGUAG	23-45
AD-238960.1	3009	CAGAGCAAAAGCCAUGAACAUA	54-74	3305	UAUGUUCAUGGCUUUGCUCUGUC	52-74
AD-238979.1	3010	UCAUCCUAGAAAUCUUCUGA	73-93	3306	UCAGAAAGGAUUUCUAGGAUGAU	71-93
AD-238991.1	3011	UCCUUCUGCUUCUGAUCACCA	85-105	3307	UGGUCAUCAGAAAGCAGAAAGGAUU	83-105
AD-239009.1	3012	CCAUCUACUACUCCUACUUGA	103-123	3308	UCAAGUAGGAGUAGAUAGUAGGUG	101-123
AD-239015.1	3013	UCUACUCCUACUUGGAGUCGU	109-129	3309	ACGACUCCAAAGUAGGAGUAGAU	107-129
AD-239016.1	3014	CUACUCCUACUUGGAGUCGUU	110-130	3310	AACGACUCCAAAGUAGGAGUAGAU	108-130
AD-239017.1	3015	UACUCCUACUUGGAGUCGUUA	111-131	3311	UAACGACUCCAAAGUAGGAGUAGA	109-131
AD-239018.1	3016	ACUCCUACUUGGAGUCGUUGA	112-132	3312	UCAACGACUCCAAAGUAGGAGUAG	110-132
AD-239019.1	3017	CUCCUACUUGGAGUCGUUGGU	113-133	3313	ACCAACGACUCCAAAGUAGGAGUA	111-133
AD-239020.1	3018	UCCUACUUGGAGUCGUUGGUA	114-134	3314	UACCAACGACUCCAAAGUAGGAGU	112-134
AD-239031.1	3019	GUCGUUGGUGAAGUUUUUCAU	125-145	3315	AUGAAAAACUUCACCAAGGACUC	123-145
AD-239062.1	3020	GAGAUUGUUCUCAUUACUGGA	174-194	3316	UCCAGUAAUUGAGAAACAUCUCCC	172-194
AD-239066.1	3021	UUGUUCUCAUUACUGGAGCUA	178-198	3317	UAGCUCCAGUAAUUGAGAAACAUC	176-198
AD-239103.1	3022	GCAGACUACUUAUGAAUUUGA	215-235	3318	UCAAAUUCAUAAAGUAGUCCCU	213-235
AD-239110.1	3023	ACUU AUGAAUUUGCAAAACGA	222-242	3319	UCGUUUUGCAAAUUCAUAAAGUAG	220-242
AD-239118.1	3024	AUUUGCAAAACGACAGAGCAU	230-250	3320	AUGCUCUGUCGUUUUGCAAAUUC	228-250
AD-239119.1	3025	UUUGCAAAACGACAGAGCAUA	231-251	3321	UAUGCUCUGUCGUUUUGCAAAUUC	229-251
AD-239131.1	3026	CAGAGCAUAUUGGUUCUGUGA	243-263	3322	UCACAGAAACCAUAUAGCUCUGUC	241-263

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

AD-239132.1	3027	AGAGCAUAUUGGUUCUGUGGA	244-264	3323	UCCACAGAACAACAAUAGCUCUGU	242-264
AD-239133.1	3028	GAGCAUAUUGGUUCUGUGGA	245-265	3324	UCCACAGAACAACAAUAGCUCUG	243-265
AD-239146.1	3029	CUGUGGGAUAUUAUAAGCGA	258-278	3325	UCGCUUAUUAUAUCCACAGAA	256-278
AD-239155.1	3030	AUUAUAAGCGCGUGUGGAA	267-287	3326	UCCACACCGCGCUUAUUAUAU	265-287
AD-239156.1	3031	UUAUAAGCGCGUGUGGAGA	268-288	3327	UCUCCACACCGCGCUUAUUAUA	266-288
AD-239177.1	3032	AAACUAGCAGCUGAGUGCCGAA	289-309	3328	UUCGGCACUCAGCUGCAGUUUCC	287-309
AD-239178.1	3033	AACUGCAGCUGAGUGCCGAAA	290-310	3329	UUUCGGCACUCAGCUGCAGUUUC	288-310
AD-239179.1	3034	ACUGCAGCUGAGUGCCGAAA	291-311	3330	UUUCGGCACUCAGCUGCAGUUU	289-311
AD-239180.1	3035	CUGCAGCUGAGUGCCGAAAAC	292-312	3331	GUUUCCGGCACUCAGCUGCAGUU	290-312
AD-239181.1	3036	UGCAGCUGAGUGCCGAAAACU	293-313	3332	AGUUUCCGGCACUCAGCUGCAGU	291-313
AD-239182.1	3037	GCAGCUGAGUGCCGAAAACUA	294-314	3333	UAGUUUCCGGCACUCAGCUGCAG	292-314
AD-239183.1	3038	CAGCUGAGUGCCGAAAACUAA	295-315	3334	UUAGUUUCCGGCACUCAGCUGCA	293-315
AD-239185.1	3039	GCUGAGUGCCGAAAACUAGGA	297-317	3335	UCCUAGUUUCCGGCACUCAGCUG	295-317
AD-239186.1	3040	CUGAGUGCCGAAAACUAGGCA	298-318	3336	UGCUAGUUUCCGGCACUCAGCU	296-318
AD-239187.1	3041	UGAGUGCCGAAAACUAGGCGU	299-319	3337	ACGCCUAGUUUCCGGCACUCAGC	297-319
AD-239188.1	3042	GAGUGCCGAAAACUAGGCGUA	300-320	3338	UACGCCUAGUUUCCGGCACUCAG	298-320
AD-239189.1	3043	AGUGCCGAAAACUAGGCGUCA	301-321	3339	UGACGCCUAGUUUCCGGCACUCA	299-321
AD-239190.1	3044	GUGCCGAAAACUAGGCGUCA	302-322	3340	UUGACGCCUAGUUUCCGGCACUC	300-322
AD-239191.1	3045	UGCCGAAAACUAGGCGUCACU	303-323	3341	AGUGACGCCUAGUUUCCGGCACU	301-323
AD-239192.1	3046	GCCGAAAACUAGGCGUCACUA	304-324	3342	UAGUGACGCCUAGUUUCCGGCAC	302-324
AD-239193.1	3047	CCGAAAACUAGGCGUCACUGA	305-325	3343	UCAGUGACGCCUAGUUUCCGGCA	303-325
AD-239194.1	3048	CGAAAACUAGGCGUCACUGCA	306-326	3344	UGCAGUGACGCCUAGUUUCCGGC	304-326
AD-239196.1	3049	AAAACUAGGCGUCACUGCGCA	308-328	3345	UGCGCAGUGACGCCUAGUUUCCG	306-328
AD-239198.1	3050	AACUAGGCGUCACUGCGCAUA	310-330	3346	UAUGCGCAGUGACGCCUAGUUU	308-330
AD-239199.1	3051	ACUAGGCGUCACUGCGCAUGA	311-331	3347	UCAUGCGCAGUGACGCCUAGUUU	309-331
AD-239203.1	3052	GCGGUCACUGCGCAUGCGUAU	315-335	3348	AUACGCAUGCGCAGUGACGCCUA	313-335
AD-239214.1	3053	GCAUGCGUAUGUGGUAGACUA	326-346	3349	UAGUCUACCAUACGCAUGCGC	324-346
AD-239215.1	3054	CAUGCGUAUGUGGUAGACUGA	327-347	3350	UCAGUCUACCAUACGCAUGCG	325-347

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

AD-239239.1	3055	AACAGAGAAAGAGAUUAUCGA	351-371	3351	UCGAUAGAUUCUUCUCUUGUUC	349-371
AD-239240.1	3056	ACAGAGAAGAGAUUAUCGCU	352-372	3352	AGCGAUAGAUUCUUCUCUUGUUG	350-372
AD-239241.1	3057	CAGAGAAGAGAUUAUCGCUA	353-373	3353	UAGCGAUAGAUUCUUCUCUUGU	351-373
AD-239242.1	3058	AGAGAAGAGAUUAUCGCUUCU	354-374	3354	AGAGCGAUAGAUUCUUCUCUUGU	352-374
AD-239243.1	3059	GAGAAGAGAUUAUCGCUUA	355-375	3355	UAGAGCGAUAGAUUCUUCUCUG	353-375
AD-239245.1	3060	GAAGAGAUUAUCGCUUCUA	357-377	3356	UAGAGAGCGAUAGAUUCUUCUC	355-377
AD-239246.1	3061	AAGAGAUUAUCGCUUCUAA	358-378	3357	UUAGAGAGCGAUAGAUUCUUCU	356-378
AD-239247.1	3062	AGAGAUUAUCGCUUCUAAA	359-379	3358	UUUAGAGAGCGAUAGAUUCUUC	357-379
AD-239250.1	3063	GAUCUAUCGCUUCUAAAUA	362-382	3359	UGAUUUAGAGAGCGAUAGAUUC	360-382
AD-239251.1	3064	AUCUAUCGCUUCUAAAUA	363-383	3360	UUGAUUUAGAGAGCGAUAGAUUC	361-383
AD-239253.1	3065	CUAUCGCUUCUAAAUAUCAGGU	365-385	3361	ACCUGAUUUAGAGAGCGAUAGAU	363-385
AD-239254.1	3066	UAUCGCUUCUAAAUAUCAGGUA	366-386	3362	UACCUGAUUUAGAGAGCGAUAGA	364-386
AD-239255.1	3067	AUCGCUUCUAAAUAUCAGGUGA	367-387	3363	UCACCUGAUUUAGAGAGCGAUAG	365-387
AD-239290.1	3068	GAUGUAACAUAUCGUGGUGAAU	402-422	3364	AUUCACCGCAUUGUUACAUCAC	400-422
AD-239291.1	3069	AUGUAACAUAUCGUGGUGAAUA	403-423	3365	UAUUCACCGCAUUGUUACAUCA	401-423
AD-239292.1	3070	UGUAACAUAUCGUGGUGAAUA	404-424	3366	UUUAUUCACCGCAUUGUUACAUC	402-424
AD-239293.1	3071	GUAAACAUAUCGUGGUGAAUA	405-425	3367	AUUUAUUCACCGCAUUGUUACA	403-425
AD-239304.1	3072	GGUGAAUAUUCGUGGUGACAGU	416-436	3368	ACUGUCCCGCAUUAUUCACCCAC	414-436
AD-239312.1	3073	AUGCUGGACAGUAUAUCCAA	424-444	3369	UUGGAUAUAUCUGUCCCGCAUUA	422-444
AD-239313.1	3074	UGCUGGACAGUAUAUCCAGA	425-445	3370	UCUGGAUAUAUCUGUCCCGCAU	423-445
AD-239314.1	3075	GCUGGACAGUAUAUCCAGCA	426-446	3371	UGCUGGAUAUAUCUGUCCCGCAU	424-446
AD-239316.1	3076	UGGGACAGUAUAUCCAGCCGA	428-448	3372	UCGGCUGGAUAUAUCUGUCCCGC	426-448
AD-239317.1	3077	GGGACAGUAUAUCCAGCCGAU	429-449	3373	AUCGGCUGGAUAUAUCUGUCCCG	427-449
AD-239318.1	3078	GGACAGUAUAUCCAGCCGAUA	430-450	3374	UAUCGGCUGGAUAUAUCUGUCCCA	428-450
AD-239321.1	3079	CAGUAUAUCCAGCCGAUCUUA	433-453	3375	UAAGAUCGGCUGGAUAUAUCUGUC	431-453
AD-239332.1	3080	GCCGAUCUUCUCAGCACCAA	444-464	3376	UUUGGUGCUGAGAAAGAUCCGGCUG	442-464
AD-239337.1	3081	UCUUCUCAGCACCAAGGAUGA	449-469	3377	UCAUCCUUGGUGCUGAGAAAGAU	447-469
AD-239348.1	3082	CCAAGGAUGAAGAGAUUACCA	460-480	3378	UGGUAUUCUUCUUAUCCUUGGUG	458-480

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

AD-239362.1	3083	AUUACCAAGACAUUUGAGGUA	474-494	3379	UACCUAAAAUGUCUUGGUAUUCU	472-494
AD-239366.1	3084	CCAAGACAUUUGAGGUCAACA	478-498	3380	UGUUGACCUCAAAUGUCUUGGUA	476-498
AD-239368.1	3085	AAGACAUUUGAGGUCAACAUA	480-500	3381	UAUGUUGACCUCAAAUGUCUUGG	478-500
AD-239372.1	3086	CAUUUGAGGUCAACAUCUUA	484-504	3382	UUAGGAUUGUUGACCUCAAAUGUC	482-504
AD-239373.1	3087	AUUUGAGGUCAACAUCUUGA	485-505	3383	UCUAGGAUUGUUGACCUCAAAUGU	483-505
AD-239379.1	3088	GGUCAACAUCUAGGACAUUU	491-511	3384	AAAUGUCCUAGGAUUGUUGACCU	489-511
AD-239380.1	3089	GUCAACAUCUAGGACAUUUU	492-512	3385	AAAAUGUCCUAGGAUUGUUGACCU	490-512
AD-239387.1	3090	UCCUAGGACAUUUUUGGAUCA	499-519	3386	UGAUCCAAAAAUGUCCUAGGAUG	497-519
AD-239397.1	3091	UUUUUGGAUCACAAAAGCACU	509-529	3387	AGUGCUUUUUGUGAUCCAAAAAUG	507-529
AD-239411.1	3092	AAGCACUUUCUCCAUCCGAUGA	523-543	3388	UCAUGCAUGGAAGAAGUGCUUUU	521-543
AD-239412.1	3093	AGCACUUUCUCCAUCCGAUGAU	524-544	3389	AUCAUGCAUGGAAGAAGUGCUUU	522-544
AD-239431.1	3094	AUGGAGAGAAAAUCAUGGCCAA	543-563	3390	UUGGCCAUGAUUUCUCUCCAUCA	541-563
AD-239433.1	3095	GGAGAGAAAAUCAUGGCCACAU	545-565	3391	AUGUGGCCAUGAUUUCUCUCCAU	543-565
AD-239436.1	3096	GAGAAUCAUGGCCACAUUCGU	548-568	3392	ACGAUGGCCCAUGAUUUUCUCU	546-568
AD-239437.1	3097	AGAAAUCAUGGCCACAUUCGUA	549-569	3393	UACGAUGGCCCAUGAUUUUCUCU	547-569
AD-239438.1	3098	GAAAUCAUGGCCACAUUCGUCA	550-570	3394	UGACGAUGUGGCCCAUGAUUUUCU	548-570
AD-239439.1	3099	AAAUCAUGGCCACAUUCGUCAA	551-571	3395	UUGACGAUGUGGCCCAUGAUUUUCU	549-571
AD-239450.1	3100	ACAUCGUCACAGUGGCUUCAA	562-582	3396	UUGAAGCCACUGUGACGAUGUGG	560-582
AD-239451.1	3101	CAUCGUCACAGUGGCUUCAGU	563-583	3397	ACUGAAGCCACUGUGACGAUGUG	561-583
AD-239452.1	3102	AUCGUCACAGUGGCUUCAGUA	564-584	3398	UACUGAAGCCACUGUGACGAUGU	562-584
AD-239453.1	3103	UCGUCACAGUGGCUUCAGUGU	565-585	3399	ACACUGAAGCCACUGUGACGAUG	563-585
AD-239475.1	3104	CGGCCACGAAGGGAUUCCUUA	587-607	3400	UAAGGAAUCCCUUCUGUGGCCGCA	585-607
AD-239476.1	3105	GGCCACGAAGGGAUUCCUUA	588-608	3401	UUAAAGGAAUCCCUUCUGUGGCCG	586-608
AD-239478.1	3106	CCACGAAGGGAUUCCUUAACCU	590-610	3402	AGGUAAGGAAUCCCUUCUGUGGCC	588-610
AD-239479.1	3107	CACGAAGGGAUUCCUUAACCUA	591-611	3403	UAGGUAAGGAAUCCCUUCUGUGGC	589-611
AD-239480.1	3108	ACGAAGGGAUUCCUUAACCUCA	592-612	3404	UGAGGUAAGGAAUCCCUUCUGUGG	590-612
AD-239482.1	3109	GAAGGGAUUCCUUAACCUCAUA	594-614	3405	UAUGAGGUAAGGAAUCCCUUCUGU	592-614
AD-239483.1	3110	AAGGGAUUCCUUAACCUCAUCA	595-615	3406	UGAUGAGGUAAGGAAUCCCUUCUG	593-615

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

AD-239499.1	3111	CAUCCCAUAUUGUUCACGAA	611-631	3407	UUUGGGAACAAU AUGGAU GAG	609-631
AD-239510.1	3112	GUUCCAGCAAAUUGCCGUA	622-642	3408	UAGCGCAAAUUGCGGAACAA	620-642
AD-239520.1	3113	AUUUGCCGUGUUGGCUUUA	632-652	3409	UGAAAGCCAACAGCGCAAAUU	630-652
AD-239521.1	3114	UUUGCCGUGUUGGCUUUA	633-653	3410	UUGAAAGCCAACAGCGCAAAUU	631-653
AD-239522.1	3115	UUUGCCGUGUUGGCUUUA	634-654	3411	UGGAAAGCCAACAGCGCAAAU	632-654
AD-239534.1	3116	GUUUCACAGAGGUGUGACAU	646-666	3412	AUUCAGACCCUUGUGAAAGCCA	644-666
AD-239539.1	3117	CACAGAGGUGUGACAUAGAA	651-671	3413	UUCUGAUGUCAGACCCUUGUGAA	649-671
AD-239544.1	3118	AGGUCUGACAUACAGAAUUA	656-676	3414	UGAAGUUCUGAUGUCAGACCCU	654-676
AD-239566.1	3119	GCCUUGGGAACACUGGUAUA	678-698	3415	UAUACCAAGUUUUUCCCAAGGCCU	676-698
AD-239578.1	3120	ACUGGUAUCAAACCUCAUGU	690-710	3416	ACAUAGGUUUUUGAUACCAUUU	688-710
AD-239579.1	3121	CUGGUAUCAAACCUCAUGUA	691-711	3417	UACAUGAGGUUUUUGAUACCAUU	689-711
AD-239611.1	3122	UUUGUGAAUACUGGGUUCACA	723-743	3418	UGGAAACCCAGUAUUCACAAAAA	721-743
AD-239612.1	3123	UUUGUGAAUACUGGGUUCACCA	724-744	3419	UGGUGAACCCAGUAUUCACAAAAA	722-744
AD-239613.1	3124	UGUGAAUACUGGGUUCACCAA	725-745	3420	UUGGUGAACCCAGUAUUCACAAA	723-745
AD-239617.1	3125	AAUACUGGGUUCACCAAAAAU	729-749	3421	AUUUUUGGUGAACCCAGUAUUA	727-749
AD-239618.1	3126	AUACUGGGUUCACCAAAAAUA	730-750	3422	UAUUUUUGGUGAACCCAGUAUUC	728-750
AD-239637.1	3127	UCCAAAGCACAAGAUUAUGGCA	749-769	3423	UGGCAUAAUUCUUGGUGUUGGAUU	747-769
AD-239641.1	3128	AGCACAGAUUAUGGCCUGUA	753-773	3424	UACAGGCCAUAAUUCUUGGCUUG	751-773
AD-239642.1	3129	GCACAAGAUUAUGGCCUGUAU	754-774	3425	AUACAGGCCAUAAUUCUUGGCUU	752-774
AD-239643.1	3130	CACAAGAUUAUGGCCUGUAU	755-775	3426	AAUACAGGCCAUAAUUCUUGGCU	753-775
AD-239645.1	3131	CAAGAUUAUGGCCUGUAUUGA	757-777	3427	UCAAUACAGGCCAUAAUUCUUGUG	755-777
AD-239647.1	3132	AGAUUAUGGCCUGUAUUGGAA	759-779	3428	UUCCAAUACAGGCCAUAAUUCUUG	757-779
AD-239649.1	3133	AUUUGGCCUGUAUUGGAGAA	761-781	3429	UUUCUCAAUACAGGCCAUAAUUCU	759-781
AD-239650.1	3134	UUUGGCCUGUAUUGGAGACA	762-782	3430	UGUCUCCAAUACAGGCCAUAAUUC	760-782
AD-239653.1	3135	UGGCCUGUAUUGGAGACAGAU	765-785	3431	AUCUGUCUCCAAUACAGGCCAUUA	763-785
AD-239654.1	3136	GGCCUGUAUUGGAGACAGUA	766-786	3432	UAUCUGUCUCCAAUACAGGCCAU	764-786
AD-239662.1	3137	UUGGAGACAGUAAGUUCGUA	774-794	3433	UACGACUUAUCUGUCUCCAAUA	772-794
AD-239668.1	3138	ACAGUAGAAUGUCGUAAGAAGU	780-800	3434	ACUUCUUAACGACUUAUCUGUCU	778-800

10

20

30

40

50

【表 2 - 6】

AD-239669.1	3139	CAGAUGAAGUCGUAAGAAAGUA	781-801	3435	UACUUCUUACGACUUCUACUCUGUC	779-801
AD-239670.1	3140	AGAUGAAGUCGUAAGAAAGUCU	782-802	3436	AGACUUCUUACGACUUCUACUCUGU	780-802
AD-239671.1	3141	GAUGAAGUCGUAAGAAAGUCUA	783-803	3437	UAGACUUCUUACGACUUCUACUCUG	781-803
AD-239674.1	3142	GAAGUCGUAAGAAAGUCUGAUA	786-806	3438	UAUCAGACUUCUUACGACUUCAU	784-806
AD-239676.1	3143	AGUCGUAAGAAAGUCUGAUA	788-808	3439	UCUACAGACUUCUUACGACUUC	786-808
AD-239681.1	3144	UAAGAAGUCUGAUAAGAAUGGAA	793-813	3440	UUCCAUCUAUCAGACUUCUUAAG	791-813
AD-239682.1	3145	AAGAAGUCUGAUAAGAAUGGAAU	794-814	3441	AUUCACUUAUCAGACUUCUUAAC	792-814
AD-239684.1	3146	GAAGUCUGAUAAGAAUGGAAUAA	796-816	3442	UUUUCCAUCUAUCAGACUUCUUA	794-816
AD-239685.1	3147	AAGUCUGAUAAGAAUGGAAUACU	797-817	3443	AGUAUUCCAUCUAUCAGACUUCU	795-817
AD-239697.1	3148	UGGAAUACUUAACCAUAAGAA	809-829	3444	UUCUUAUUGGUAAGUAUUCUCAUC	807-829
AD-239713.1	3149	AAUGAUUUUUGUCCAUCGUA	830-850	3445	UACGAUGGAACAAAAUUAUUUU	828-850
AD-239714.1	3150	AUGAUUUUUGUCCAUCGUAU	831-851	3446	AUACGAUGGAACAAAAUUAUUUU	829-851
AD-239717.1	3151	AUUUUUGUCCAUCGUAUAUA	834-854	3447	UAUAUAGGAUGGAACAAAAUCA	832-854
AD-239721.1	3152	UUGUUCCAUCGUAUAUCAAUA	838-858	3448	UAUUGAUUAUCGAUGGAACAAAA	836-858
AD-239723.1	3153	GUUCCAUCGUAUAUCAAUAUA	840-860	3449	UAUAUUGAUUAUCGAUGGAACAA	838-860
AD-239724.1	3154	UUCCAUCGUAUAUCAAUAUCU	841-861	3450	AGAUAUUGAUUAUCGAUGGAACA	839-861
AD-239725.1	3155	UCCAUCGUAUAUCAAUAUCUU	842-862	3451	AAGAUAUUGAUUAUCGAUGGAAC	840-862
AD-239726.1	3156	CCAUCGUAUAUCAAUAUCUUU	843-863	3452	AAAGAUAUUGAUUAUCGAUGGAA	841-863
AD-239755.1	3157	ACAGAAGUUUUCUUCUGAACA	872-892	3453	UGUUCAGGAAGAAACUUCUUGUAG	870-892
AD-239757.1	3158	AGAAGUUUUCUUCUGAACGCA	874-894	3454	UGCUGUUCAGGAAGAAACUUCUGU	872-894
AD-239759.1	3159	AAGUUUUCUUCUGAACGCGCA	876-896	3455	UGCUGUUCAGGAAGAAACUUCU	874-896
AD-239761.1	3160	GUUUCUUCUGAACGCGCCUA	878-898	3456	UAGGCGGUUCAGGAAGAAACUU	876-898
AD-239764.1	3161	UCUUCUGAACGCGCCUCAGA	881-901	3457	UCUGAGCGCGUUCAGGAAGAAA	879-901
AD-239778.1	3162	CCUCAGCGAUUUUAAAUCGUA	895-915	3458	UACGAUUUAAAUCGUGAGGCG	893-915
AD-239779.1	3163	CUCAGCGAUUUUAAAUCGUUAU	896-916	3459	AUACGAUUUAAAUCGUGAGGC	894-916
AD-239780.1	3164	UCAGCGAUUUUAAAUCGUUAUA	897-917	3460	UAUACGAUUUAAAUCGUGAGG	895-917
AD-239781.1	3165	CAGCGAUUUUAAAUCGUUAUGA	898-918	3461	UCAUACGAUUUAAAUCGUGAG	896-918
AD-239782.1	3166	AGCGAUUUUAAAUCGUUAUGCA	899-919	3462	UGCAUACGAUUUAAAUCGUGA	897-919

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

AD-239783.1	3167	GCGAUUUUAAAUCGUAUGCAA	900-920	3463	UUGCAUACGAUUUAAAAUCGCUG	898-920
AD-239784.1	3168	CGAUUUUAAAUCGUAUGCAGA	901-921	3464	UCUGCAUACGAUUUAAAAUCGCU	899-921
AD-239785.1	3169	GAUUUUAAAUCGUAUGCAGAA	902-922	3465	UUCUGCAUACGAUUUAAAAUCGC	900-922
AD-239786.1	3170	AUUUUAAAUCGUAUGCAGAAU	903-923	3466	AUUCUGCAUACGAUUUAAAAUCG	901-923
AD-239787.1	3171	UUUUAAAUCGUAUGCAGAAUA	904-924	3467	UAUUCUGCAUACGAUUUAAAAUC	902-924
AD-239791.1	3172	AAUUCGUAUGCAGAAUAUUA	908-928	3468	UGAAUAUUCGUAUGCAGAAUUA	906-928
AD-239793.1	3173	AUCGUAUGCAGAAUAUUAU	910-930	3469	AUUGAAUAUUCGUAUGCAGAAU	908-930
AD-239806.1	3174	UAUUCAAUUUGAAGCAGUGGU	923-943	3470	ACCACUGCUUCAAUUUGAAUAU	921-943
AD-239839.1	3175	GAUUAUUUAAAGCUCAGCCAA	967-987	3471	UUGGCGGAGCUUAAUUUAUUAU	965-987
AD-239840.1	3176	AAUAAUAAAGCUCAGCCAGA	968-988	3472	UCUGGCGGAGCUUAAUUUAUUA	966-988
AD-239854.1	3177	AGCCAGAGUAUGCAUGAU	982-1002	3473	AUCAUGCAUACUCUGGCGUGG	980-1002
AD-239855.1	3178	GCCAGAGUAUGCAUGAUA	983-1003	3474	UAUCAUGCAUACUCUGGCGUG	981-1003
AD-239876.1	3179	AUAUGAAUAGUUUCGAAUCAA	1007-1027	3475	UUGAUUCGAAACUAUUAUUAU	1005-1027
AD-239877.1	3180	UAUGAAUAGUUUCGAAUCAAU	1008-1028	3476	AUUGAUUCGAAACUAUUAUUAU	1006-1028
AD-239881.1	3181	AAUAGUUUCGAAUCAAUUAU	1012-1032	3477	UAGCAUUGAUUUGAAACUAUUA	1010-1032
AD-239905.1	3182	UUCAGUCCUGAAUUAUUAU	1054-1074	3478	UUUAAUUAUUAUCAGGACUGAAA	1052-1074
AD-239914.1	3183	AAAACAUGGUUUGGCAUA	1072-1092	3479	UAGUGCCAAACCAUUGUUUUA	1070-1092
AD-239915.1	3184	AAAACAUGGUUUGGCAUAU	1073-1093	3480	UUAGUGCCAAACCAUUGUUUUA	1071-1093
AD-239941.1	3185	GUCAAACGAACAAGAUUAUU	1099-1119	3481	AAUUAUUCUUGUUCGUUUGACUG	1097-1119
AD-239944.1	3186	AAACGAACAAGAUUAUUUAU	1102-1122	3482	UGUAUUUAUUCUUGUUCGUUUGA	1100-1122
AD-239945.1	3187	AACGAACAAGAUUAUUUAU	1103-1123	3483	AGGUAUUUAUUCUUGUUCGUUUG	1101-1123
AD-239946.1	3188	ACGAACAAGAUUAUUUAU	1104-1124	3484	UAGGUAUUUAUUCUUGUUCGUU	1102-1124
AD-239947.1	3189	CGAACAAGAUUAUUUAU	1105-1125	3485	ACAGGUAUUUAUUCUUGUUCGUU	1103-1125
AD-239977.1	3190	UCUCAAGAAUUAUUUAU	1135-1155	3486	ACUACGUAUUUAUUCUUGAGAAA	1133-1155
AD-239979.1	3191	UCAAGAAUUAUUUAU	1137-1157	3487	AAACUACGUAUUUAUUCUUGAGA	1135-1157
AD-239980.1	3192	CAAGAAUUAUUUAU	1138-1158	3488	AAAACUACGUAUUUAUUCUUGAG	1136-1158
AD-239998.1	3193	UUUCAUAGGUCUGUUUUUCCU	1157-1177	3489	AGGAAAAACAGACCUAUGAAAA	1155-1177
AD-240019.1	3194	UUCAUGCCUCUUAAAAAU	1178-1198	3490	UAAGUUUUUAAGAGGCAUGAAAG	1176-1198

10

20

30

40

50

【表 2 - 8】

AD-240031.1	3195	AAAAACUUCUGUCUACAUA	1190-1210	3491	UAUGUAAAGCACAGAAUUUUUAA	1188-1210
AD-240032.1	3196	AAAACUUCUGUCUACAUA	1191-1211	3492	UUAUGUAAAGCACAGAAUUUUUAA	1189-1211
AD-240033.1	3197	AAACUUCUGUCUACAUA	1192-1212	3493	UUUUGUAAAGCACAGAAUUUUU	1190-1212
AD-240064.1	3198	UUUUUCCAUUUAAAAGGUGAA	1245-1265	3494	UUCACCCUUUAAAUGGAAAAUAA	1243-1265
AD-240090.1	3199	CUACCUCCUAAAAGUAAUA	1271-1291	3495	UAUUUACUUUUAGGGAGGUAGCU	1269-1291
AD-240091.1	3200	UACCUCCUAAAAGUAAUA	1272-1292	3496	UUUUUACUUUUAGGGAGGUAGC	1270-1292
AD-240108.1	3201	UACAAAGAGAAUUUAUACA	1290-1310	3497	UGUAAAUAAGUUCUUCUUUGUAUU	1288-1310
AD-240117.1	3202	AACUUUUUACACAGGGAAGA	1299-1319	3498	UCUCCCCUGUGUAAAUAAGUUCU	1297-1319
AD-240124.1	3203	UUACACAGGAAAGGUUAAGA	1306-1326	3499	UCUUAAACCCUCCUGUGUAAAU	1304-1326
AD-240125.1	3204	UACACAGGAAAGGUUAAGAA	1307-1327	3500	UUCUUAAACCUCCUGUGUAAA	1305-1327
AD-240126.1	3205	ACACAGGAAAGGUUAAGACU	1308-1328	3501	AGUCUUAAACCUCCUGUGUAA	1306-1328
AD-240135.1	3206	AGUUUUAGACUGUUAAGUA	1317-1337	3502	UACUUGAACAGUCUUAAACCUUC	1315-1337
AD-240138.1	3207	UUUAAAGACUGUUAAGUAGCA	1320-1340	3503	UGCUCUUGAACAGUCUUAAACC	1318-1340
AD-240140.1	3208	UAAGACUGUUAAGUAGCAUU	1322-1342	3504	AAUGCUACUUGAACAGUCUAAA	1320-1342
AD-240142.1	3209	AGACUGUUAAGUAGCAUUA	1324-1344	3505	UGAAUGCUACUUGAACAGUCUUA	1322-1344
AD-240145.1	3210	CUGUUCAAAGUAGCAUUCCAAU	1327-1347	3506	AUUGGAAUGCUACUUGAACAGUC	1325-1347
AD-240147.1	3211	GUUCAAGUAGCAUUCCAAUCU	1329-1349	3507	AGAUGGAAUGCUACUUGAACAG	1327-1349
AD-240148.1	3212	UUCAAAGUAGCAUUCCAAUCUA	1330-1350	3508	UAGAUGGAAUGCUACUUGAACAA	1328-1350
AD-240154.1	3213	UAGCAUUCCAAUCUGUAGCCA	1336-1356	3509	UGGCUACAGAUUGGAAUUGCUACU	1334-1356
AD-240155.1	3214	AGCAUUCCAAUCUGUAGCCAU	1337-1357	3510	AUGGCUACAGAUUGGAAUUGCUAC	1335-1357
AD-240156.1	3215	GCAUUCCAAUCUGUAGCCAU	1338-1358	3511	UAUGGCUACAGAUUGGAAUUGCUA	1336-1358
AD-240171.1	3216	GCCAUGCCACAGAAUAUCAAA	1353-1373	3512	UUUGAUAUUCUGUGGCAUGGCUA	1351-1373
AD-240172.1	3217	CCAUGCCACAGAAUAUCAACA	1354-1374	3513	UGUUGAUAUUCUGUGGCAUGGCU	1352-1374
AD-240192.1	3218	AAGAACACAGAAUGAGUGCAA	1374-1394	3514	UUGCACUCAUUCUGUGUUCUUGU	1372-1394
AD-240227.1	3219	GUUUCAGCAGGAGCUUUUAUA	1409-1429	3515	UAUAAAAGCUGCCUUGCUGAAAAUU	1407-1429
AD-240228.1	3220	UUUCAGCAGGAGCUUUUAUCU	1410-1430	3516	AGAUAAAAGCUGCCUUGCUGAAAAUU	1408-1430
AD-240237.1	3221	GCAGCUUUUAUCUCAACCUGGA	1419-1439	3517	UCCAGGUUGAGAUAAAAGCUGCCU	1417-1439
AD-240245.1	3222	AUCUCAACCUGGACAUUUUUU	1427-1447	3518	AAAAUUGUCCAGGUUGAGAUAA	1425-1447

10

20

30

40

50

【表 2 - 9】

AD-240276.1	3223	AUUUAGAGAUUUUCCCUAGCA	1458-1478	3519	UGUAGGGAAAAUCUUUCAAUUGC	1456-1478
AD-240278.1	3224	UUGAAAGAUUUCCCUAGCCUA	1460-1480	3520	UAGGCUAGGGAAAAUCUUUCAAU	1458-1480
AD-240279.1	3225	UGAAAGAUUUCCCUAGCCUCU	1461-1481	3521	AGAGGCUAGGGAAAAUCUUUCAA	1459-1481
AD-240280.1	3226	GAAAGAUUUCCCUAGCCUCU	1462-1482	3522	AAGAGGCUAGGGAAAAUCUUUCAA	1460-1482
AD-240308.1	3227	CAUUAGCCCAAAACGGUGCAA	1490-1510	3523	UUGCACCGUUUUGGGCUAAUGAA	1488-1510
AD-240309.1	3228	AUUAGCCCAAAACGGUGCAA	1491-1511	3524	UUUGCACCGUUUUGGGCUAAUGA	1489-1511
AD-240310.1	3229	UUAGCCCAAAACGGUGCAACU	1492-1512	3525	AGUUGCACCGUUUUGGGCUAAUG	1490-1512
AD-240311.1	3230	UAGCCCAAAACGGUGCAACUA	1493-1513	3526	UAGUUUGCACCGUUUUGGGCUAAU	1491-1513
AD-240312.1	3231	AGCCCAAAACGGUGCAACUCU	1494-1514	3527	AGAGUUUGCACCGUUUUGGGCUAA	1492-1514
AD-240313.1	3232	GCCCAAAACGGUGCAACUCUA	1495-1515	3528	UAGAGUUUGCACCGUUUUGGGCUA	1493-1515
AD-240315.1	3233	CCAAACGGUGCAACUCUAUU	1497-1517	3529	AAUAGAGUUUGCACCGUUUUGGGC	1495-1517
AD-240317.1	3234	AAAACGGUGCAACUCUAUUUU	1499-1519	3530	AGAAUAGAGUUUGCACCGUUUUGG	1497-1519
AD-240318.1	3235	AAACGGUGCAACUCUAUUUCUA	1500-1520	3531	UAGAAUAGAGUUUGCACCGUUUUG	1498-1520
AD-240319.1	3236	AACGGUGCAACUCUAUUCUGA	1501-1521	3532	UCAGAAUAGAGUUUGCACCGUUUU	1499-1521
AD-240322.1	3237	GGUGCAACUCUAUUCUGGACU	1504-1524	3533	AGUCCAGAAUAGAGUUUGCACCGU	1502-1524
AD-240324.1	3238	UGCAACUCUAUUCUGGACUUU	1506-1526	3534	AAAGUCCAGAAUAGAGUUUGCACC	1504-1526
AD-240326.1	3239	CAACUCUAUUCUGGACUUUAU	1508-1528	3535	AUAAAGUCCAGAAUAGAGUUUGCA	1506-1528
AD-240327.1	3240	AACUCUAUUCUGGACUUUAUU	1509-1529	3536	AAUAAAGUCCAGAAUAGAGUUUGC	1507-1529
AD-240333.1	3241	AUUCUGGACUUUAUUACUUGA	1515-1535	3537	UCAAGUAAUAAAGUCCAGAAUAG	1513-1535
AD-240364.1	3242	UGUUAUACUCUGAAGUCCACA	1546-1566	3538	UGUGGACUUCAGAGUUUAUACAGA	1544-1566
AD-240365.1	3243	GUUAUACUCUGAAGUCCACCA	1547-1567	3539	UGGUGGACUUCAGAGUUUAUACAG	1545-1567
AD-240375.1	3244	GAAGUCCACCAAAAGUGGACA	1557-1577	3540	UGUCCACUUUUGGUGGACUUCAG	1555-1577
AD-240378.1	3245	GUCCACCAAAAGUGGACCCUA	1560-1580	3541	UAGGGUCCACUUUUGGUGGACUU	1558-1580
AD-240381.1	3246	CACCAAAAGUGGACCCUCUAU	1563-1583	3542	AUAGAGGGUCCACUUUUGGUGGA	1561-1583
AD-240382.1	3247	ACCAAAAGUGGACCCUCUAUA	1564-1584	3543	UAUAGAGGGUCCACUUUUGGUGG	1562-1584
AD-240383.1	3248	CCAAAAGUGGACCCUCUAUAU	1565-1585	3544	AUAUAGAGGGUCCACUUUUGGUUG	1563-1585
AD-240385.1	3249	AAAAGUGGACCCUCUAUAUUU	1567-1587	3545	AAAUUAGAGGGUCCACUUUUGG	1565-1587
AD-240386.1	3250	AAAGUGGACCCUCUAUAUUUA	1568-1588	3546	UAAAUUAGAGGGUCCACUUUUG	1566-1588

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 0】

AD-240387.1	3251	AAGUGGACCUCUAUUAUUA	1569-1589	3547	UGAAAUUAGAGGGUCCAUUUU	1567-1589
AD-240419.1	3252	AUACAUUAUGAAAGGUGACCA	1612-1632	3548	UGGUCACCUUUCUAUUGUAUCU	1610-1632
AD-240420.1	3253	UACAUUAUGAAAGGUGACCGA	1613-1633	3549	UCGGUCACCUUUCUAUUGUAUC	1611-1633
AD-240421.1	3254	ACAUUAUGAAAGGUGACCGAA	1614-1634	3550	UUCGGUCACCUUUCUAUUGUAU	1612-1634
AD-240422.1	3255	CAUUAUGAAAGGUGACCGACU	1615-1635	3551	AGUCGUCACCUUUCUAUUGUA	1613-1635
AD-240423.1	3256	AUUAUGAAAGGUGACCGACUA	1616-1636	3552	UAGUCGGUCACCUUUCUAUUGU	1614-1636
AD-240431.1	3257	AGGUGACCGACUCUAUUUUA	1624-1644	3553	UUAAAAUAGAGUCGGUCACCUU	1622-1644
AD-240446.1	3258	AUCUCAGAAUUUUAAAGUUCUA	1645-1665	3554	UAGAAAUUUUUUUUUCUGAGAUU	1643-1665
AD-240474.1	3259	CUUUCAUUAUCCUUGGUCCA	1699-1719	3555	UGGACCAAGGAUUAUGAAAGCA	1697-1719
AD-240475.1	3260	UUUCAUAUAUCCUUGGUCCCA	1700-1720	3556	UGGGACCAAGGAUUAUGAAAGC	1698-1720
AD-240476.1	3261	UUCAUAUAUCCUUGGUCCCAA	1701-1721	3557	UUGGGACCAAGGAUUAUGAAAG	1699-1721
AD-240490.1	3262	GUCCAGAGAUGUUUAGACAA	1715-1735	3558	UUGUCUAAACAUCUCUGGGACCA	1713-1735
AD-240494.1	3263	CAGAGAUGUUUAGACAAUUUU	1719-1739	3559	AAAAUUGUCUAAACAUCUGGGG	1717-1739
AD-240495.1	3264	AGAGAUGUUUAGACAAUUUUA	1720-1740	3560	UAAAAUUGUCUAAACAUCUCUGG	1718-1740
AD-240501.1	3265	GUUUAGACAAUUUUAGGCUCA	1726-1746	3561	UGAGCCUAAAAUUGUCUAAACA	1724-1746
AD-240502.1	3266	UUUAGACAAUUUUAGGCUCAA	1727-1747	3562	UUGAGCCUAAAAUUGUCUAAACA	1725-1747
AD-240503.1	3267	UUAGACAAUUUUAGGCUCAAA	1728-1748	3563	UUUGAGCCUAAAAUUGUCUAAAC	1726-1748
AD-240504.1	3268	UAGACAAUUUUAGGCUCAAAA	1729-1749	3564	UUUUGAGCCUAAAAUUGUCUAAA	1727-1749
AD-240505.1	3269	AGACAAUUUUAGGCUCAAAAA	1730-1750	3565	UUUUUGAGCCUAAAAUUGUCUAA	1728-1750
AD-240507.1	3270	ACAAUUUUUAGGCUCAAAAAUU	1732-1752	3566	AAUUUUUGAGCCUAAAAUUGUCU	1730-1752
AD-240512.1	3271	UUUAGGCUCAAAAAUUAAAGA	1737-1757	3567	UCUUUAAUUUUUUGAGCCUAAAA	1735-1757
AD-240513.1	3272	UUAGGCUCAAAAAUUAAAGCU	1738-1758	3568	AGCUUAAUUUUUUGAGCCUAAAA	1736-1758
AD-240514.1	3273	UAGGCUCAAAAAUUAAAGCUA	1739-1759	3569	UAGCUUAAUUUUUUGAGCCUAAA	1737-1759
AD-240538.1	3274	CAGGAAAAGGAACUGUACUGA	1763-1783	3570	UCAGUACAGUUCUUUUUCCUGUG	1761-1783
AD-240540.1	3275	GGAAAAGGAACUGUACUGGCU	1765-1785	3571	AGCCAGUACAGUUCUUUUCCUG	1763-1785
AD-240542.1	3276	AAAAGGAACUGUACUGGCUAU	1767-1787	3572	AUAGCCAGUACAGUUCUUUUCC	1765-1787
AD-240545.1	3277	AGGAACUGUACUGGCUAUUAA	1770-1790	3573	UUAAUAGCCAGUACAGUUCUUU	1768-1790
AD-240546.1	3278	GGAACUGUACUGGCUAUUACA	1771-1791	3574	UGUAAUAGCCAGUACAGUUCUU	1769-1791

10

20

30

40

50

【表 2 - 1 1】

AD-240779.1	3279	UAAUCCGACUCCACUACAU	2181-2201	3575	UAUGUAGUGGGAGUCGGAUUAU	2179-2201
AD-240782.1	3280	UCCGACUCCACUACAUCAA	2184-2204	3576	UUUGAUGUAGUGGGAGUCGAUU	2182-2204
AD-240787.1	3281	CUCCACUACAUCAAGACUAA	2189-2209	3577	UUAGUCUUUGAUGUAGUGGGAGUC	2187-2209
AD-240788.1	3282	UCCCAUACAUCAAGACUAAU	2190-2210	3578	AUUAGUCUUUGAUGUAGUGGGAGU	2188-2210
AD-240789.1	3283	CCCACUACAUCAAGACUAAU	2191-2211	3579	UAUUAGUCUUUGAUGUAGUGGGAG	2189-2211
AD-240790.1	3284	CCACUACAUCAAGACUAAUCU	2192-2212	3580	AGAUUAGUCUUUGAUGUAGUGGGA	2190-2212 5
AD-240792.1	3285	ACUACAUCAAGACUAAUCUUA	2194-2214	3581	UAAGAUAUAGUCUUUGAUGUAGUGG	2192-2214
AD-240793.1	3286	CUACAUCAAGACUAAUCUUGU	2195-2215	3582	ACAAGAUUAGUCUUUGAUGUAGUG	2193-2215
AD-240794.1	3287	UACAUCAAGACUAAUCUUGUU	2196-2216	3583	AACAAGAUUAGUCUUUGAUGUAGU	2194-2216
AD-240795.1	3288	ACAUCAAGACUAAUCUUGUUU	2197-2217	3584	AAACAAGAUUAGUCUUUGAUGUAG	2195-2217
AD-240826.1	3289	GUATUUAUAGAAUGCUUUUGCA	2234-2254	3585	UGCAAAAGCAUUCUUAUAAUACAU	2232-2254
AD-240830.1	3290	UAUAGAAUGCUUUUGCAUGGA	2238-2258	3586	UCCAUGCAAAAGCAUUCUUAUAAU	2236-2258 10
AD-240833.1	3291	AGAAUGCUUUUGCAUGGACUA	2241-2261	3587	UAGUCCAUGCAAAAGCAUUCUUAU	2239-2261
AD-240834.1	3292	GAAUGCUUUUGCAUGGACUAU	2242-2262	3588	AUAGUCCAUGCAAAAGCAUUCUA	2240-2262
AD-240837.1	3293	UGCUUUUGCAUGGACUAUCCU	2245-2265	3589	AGGAUAGUCCAUGCAAAAGCAUU	2243-2265
AD-240839.1	3294	CUUUUGCAUGGACUAUCCUCU	2247-2267	3590	AGAGGAUAGUCCAUGCAAAAGCA	2245-2267
AD-240843.1	3295	UGCAUGGACUAUCCUCUUGUU	2251-2271	3591	AACAAGAGGAUAGUCCAUGCAAA	2249-2271
AD-240844.1	3296	GCAUGGACUAUCCUCUUGUUU	2252-2272	3592	AAACAAGAGGAUAGUCCAUGCAA	2250-2272 15
AD-240871.1	3297	AAAUAAUCCUCUUGUAGUUUAU	2349-2369	3593	UAUAACUAACAAGAGGUUAUUUUU	2347-2369
AD-240875.1	3298	AACCUCUUUGUAGUUUAUAAAAU	2353-2373	3594	AUUUUUAUAAUACAAGAGGUUAU	2351-2373

【 0 7 0 9 】

10

20

30

40

50

【表 3 - 1】

二重鎖名	配列番号	センス鎖配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス鎖配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標の配列
AD-23891.1.1	3595	csasgaacCfuCfUfUfccaugagacU.96	3891	asGfsuiceUfaGfGfGfGfGfGfAfgGfhuencusgsc	4187	GACAGUACCUCCUCCUAGGACU
AD-23891.2.1	3596	asgsuaceUfcCfUfCfcaugagacU.96	3892	usAfsuiceCfuAfGfGfGfGfGfGfAfgfhuencusgsu	4188	ACAGUACCUCCUCCUAGGACUA
AD-23891.3.1	3597	gsusacuccCfcUfCfCfcaugagacU.96	3893	usUfsuagCfcUfaUfGfGfGfGfGfAfgfhuencusg	4189	CAGUACCUCCUCCUAGGACUAC
AD-238929.1	3598	ascsuacaCfaAfGfGfGfcaacacU.96	3894	usUfsuagUfCfAfGfucuuUfGfUfguaguscsc	4190	GGACUACAAAGGACUGAACCCAG
AD-238930.1	3599	csusacacAfafGfGfAfGfcaacacgaU.96	3895	usCfsuagUfCfAfGfcauceUfuGfhuaguscsc	4191	GACUACAAAGGACUGAACCAAG
AD-238932.1	3600	csasgaacAfGfAfCfUfGfcaagaacU.96	3896	usUfsuagUfGfUfUfGfGfCfUfGfhuaguscsc	4192	GUACACAAAGGACUGAACCAAG
AD-238960.1	3601	csasgaacAfAfAfGfGfcaagaacacU.96	3897	usAfsuagUfCfAfUfGfGfUfGfhuencusgsc	4193	GACAGAGCAAAGCCAUAGAACAU
AD-238979.1	3602	uscsuaceUfaGfAfAfAfaucuuucU.96	3898	usCfsagaAfGfGfAfAfunneUfaGfGfhuaguscsg	4194	CAUCAUCCUAGAAAUCCUUCUG
AD-238991.1	3603	uscsuaceUfGfCfUfUfcaugacacU.96	3899	usGfsuagAfuCfAfGfGfGfGfGfAfgfhuaguscsg	4195	AAUCCUUCGUCCUAGGACUACCA
AD-239009.1	3604	csasaucaUfCfAfAfCfhuencuuU.96	3900	usCfsaagUfGfGfGfGfGfAfgfhuaguscsg	4196	CACCAUACUACUCCUAGGACUUG
AD-239015.1	3605	uscsuacUfCfAfAfCfhuagucagU.96	3901	asCfsuagUfCfAfGfGfGfGfGfAfgfhuaguscsg	4197	CAUCUACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239016.1	3606	csusacucCfuAfCfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3902	asAfscaCfuCfCfCfGfGfGfGfGfAfgfhuaguscsg	4198	AUCUACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239017.1	3607	usasacuccUfaCfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3903	usAfsacgAfCfUfCfcaagUfAfCfGfhuaguscsg	4199	UCUACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239018.1	3608	ascsuacUfCfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3904	usCfsaacGfAfCfUfcaagUfAfGfGfhuaguscsg	4200	UACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239019.1	3609	csusacucUfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3905	asCfsaacGfAfCfUfcaagUfAfGfhuaguscsg	4201	UACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239020.1	3610	uscsuacUfGfGfGfGfGfGfGfU.96	3906	usAfscaaAfCfGfAfuagUfAfGfhuaguscsg	4202	ACUCCUACUUGGAGUAGU
AD-239031.1	3611	gsuscuuGfGfUfGfAfGfGfGfGfGfU.96	3907	asUfsuagAfAfAfCfhucaCfAfcaaguscsc	4203	GAGUGUUGGUGAAGUUUUCAU
AD-239062.1	3612	gsasgaauGfuUfCfUfcauucucggaU.96	3908	usCfsagUfaAfUfGfGfGfAfAfcaaguscsc	4204	GGGAGUUGUUCUUAUCUGA
AD-239066.1	3613	uscsuacUfCfAfUfUfUfcaugucagU.96	3909	usAfsuagCfcAfGfuaagUfAfGfhuaguscsc	4205	GAUUGUCCUUAUACUGGAGU
AD-239103.1	3614	gsasagacUfaCfUfUfcaugucagU.96	3910	usCfsaaUfCfAfAfuagUfAfGfhuaguscsc	4206	AGGCAGACUACUUAUGAAUUGC
AD-239110.1	3615	ascsuagUfaAfAfCfGfcaagacU.96	3911	usCfsuagUfGfCfcaagUfAfAfuaguscsg	4207	CUACUUAUGAAUUUGCAAAACGA
AD-239118.1	3616	asusuncUfAfAfCfGfcaagacU.96	3912	asUfsuagCfuGfUfGfGfUfUfGfcauuscsc	4208	GAAUUUGCAAAACGACAGAGCAU
AD-239119.1	3617	uscsuagUfaAfAfCfGfcaagacU.96	3913	usAfsuagUfGfGfGfUfUfGfcauuscsc	4209	AAUUGCAAAACGACAGAGCAUA
AD-239131.1	3618	csasgaacAfAfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3914	usCfsaacGfAfAfCfcauUfAfGfhuaguscsc	4210	GACAGACUAUUGGUUCUGG
AD-239132.1	3619	asgsagacUfaUfUfGfGfGfGfGfU.96	3915	usCfsaacAfAfAfCfcauUfAfGfhuaguscsg	4211	ACAGAGCAUUAUGGUUCUGGG
AD-239133.1	3620	gsasgaacAfUfUfGfGfGfGfGfU.96	3916	usCfsaacGfAfGfAfcauUfAfGfhuaguscsg	4212	CAGAGCAUUAUGGUUCUGGGA
AD-239146.1	3621	csusungGfAfAfUfUfcauucagU.96	3917	usCfsuagUfUfUfcauUfAfcaaguscsg	4213	UUUUGGGGAUUAUAAUAGCGC
AD-239155.1	3622	asusauaAfAfGfGfGfGfGfGfU.96	3918	usUfscaCfAfCfUfcauUfAfcauucagU.96	4214	AUAUAUAAAGCGCGGUGGAG
AD-239156.1	3623	uscsuacUfAfCfGfGfGfGfGfU.96	3919	usCfsuacAfAfCfGfcauUfAfcauucagU.96	4215	UAUAUAUAAAGCGCGGUGGAGG

【表 3 - 2】

AD-239177.1	3624	asasacugCfaGfCfUfagucgcaalL96	3920	usUfscggCfaCfUfagucUfGfagumusc	4216	GGAAACUGCAGCUGAGUGCCGAA
AD-239178.1	3625	asasucugAfGcUfUfagucgcaalL96	3921	usUfscgGfCfAfCfucagCfuGfagumusc	4217	GAAACUGCAGCUGAGUGCCGAAA
AD-239179.1	3626	ascsugcGfCfUfGfAfagucgcaalL96	3922	usUfscugCfGfCfAfucagGfCfUfagumusu	4218	AAACUGCAGCUGAGUGCCGAAAA
AD-239180.1	3627	csusgacGcUfGfAfGfUfagucgcaalL96	3923	gsUfscuuCfGfGfCfagucAfGfCfagucgsu	4219	AACUGCAGCUGAGUGCCGAAAAC
AD-239181.1	3628	usgsacugUfGfAfGfUfagucgcaalL96	3924	asGfscuuUfGfGfCfagucAfGfCfagucgsu	4220	ACUGCAGCUGAGUGCCGAAAAACU
AD-239182.1	3629	gsasagucGfUfGfUfagucgcaalL96	3925	usAfscuuUfUfGfGfagucUfCfagucgsasg	4221	CUGCAGCUGAGUGCCGAAAAACUA
AD-239183.1	3630	csasugcAfGfUfGfCfagucgcaalL96	3926	usUfscuuUfUfUfGfGfagucCfuGfagucgsa	4222	UGCAGCUGAGUGCCGAAAAACUAG
AD-239185.1	3631	gsusgagUfGfCfGfAaactaggaalL96	3927	usCfscuaGfUfUfUfagucCfaCfagucgsug	4223	CAGCUGAGUGCCGAAAAACUAGGC
AD-239186.1	3632	csusgagUfGfCfGfAfaaactaggaalL96	3928	usGfscuuAfGfUfUfagucGfCfagucgsu	4224	AGCUGAGUGCCGAAAAACUAGGCC
AD-239187.1	3633	usgsagucGfGfAfAfaaactaggaalL96	3929	asGfscgCfUfGfUfagucGfCfagucgsu	4225	GCUGAGUGCCGAAAAACUAGGCCU
AD-239188.1	3634	gsasugcGfGfAfAfaaactaggaalL96	3930	usAfscgCfuAfGfUfagucCfGfagucgsasg	4226	CUGAGUGCCGAAAAACUAGGCCUC
AD-239189.1	3635	ascsugcCfAfAfAfAfaaactaggaalL96	3931	usGfscagCfUfAfAfaaactaggaalL96	4227	UGAGUGCCGAAAAACUAGGCCUCA
AD-239190.1	3636	gsusgacAfAfAfAfCfagucgcaalL96	3932	usUfscagCfCfUfUfagucCfuCfagucgsu	4228	GAGUGCCGAAAAACUAGGCCUCAC
AD-239191.1	3637	usgsacGfAfAfAfUfagucgcaalL96	3933	asGfscuagCfGfCfUfagucUfUfagucgsu	4229	AGUGCCGAAAAACUAGGCCUCACU
AD-239192.1	3638	gsesgacAfAfAfUfagucgcaalL96	3934	usAfscugAfGfGfCfUfagucUfUfagucgsu	4230	GUGCCGAAAAACUAGGCCUCACUG
AD-239193.1	3639	csesgaalAfUfAfAfGfagucgcaalL96	3935	usCfscuGfCfAfGfCfUfagucGfuUfagucgsa	4231	UGCCGAAAAACUAGGCCUCACUGC
AD-239194.1	3640	csesgaalCfuAfGfGfagucgcaalL96	3936	usGfscagUfGfAfCfUfagucAfGfUfagucgsu	4232	GCCGAAAAACUAGGCCUCACUGCG
AD-239196.1	3641	asasacuaUfGfGfGfagucgcaalL96	3937	usGfscgAfGfUfGfagucCfuAfagumuscg	4233	CGAAAAACUAGGCCUCACUGCGCA
AD-239198.1	3642	asasucugGfGfUfCfagucgcaalL96	3938	usAfscgCfGfAfGfUfagucGfCfagumusu	4234	AAAAACUAGGCCUCACUGCGCAUG
AD-239199.1	3643	gsesgacGfUfCfAfAfaaactaggaalL96	3939	usCfscuGfCfAfGfUfagucGfCfagumusu	4235	AAACUAGGCCUCACUGCGCGAU
AD-239203.1	3644	gsesgacAfUfCfAfGfagucgcaalL96	3940	asUfscgCfUfGfGfagucCfuUfagucgsu	4236	UAGGCCUCACUGCGCAUGCGUAU
AD-239214.1	3645	gsesgaugCfuAfUfGfUfagucgcaalL96	3941	usAfscugUfAfCfCfagucAfGfagucgsu	4237	GCGCUGCUAUGUGGUAGACUG
AD-239215.1	3646	csusgagUfUfUfUfUfagucgcaalL96	3942	usCfscuGfCfuAfCfCfagucUfCfagucgsu	4238	CGCUGCGUAUGUGGUAGACUGC
AD-239239.1	3647	asasacGfAfAfGfAfAfaaactaggaalL96	3943	usCfscuAfGfAfUfagucUfUfagumusc	4239	GCAACGAGAAGAGAUACUACGC
AD-239240.1	3648	ascsagGfAfAfGfAfAfaaactaggaalL96	3944	asGfscuAfGfAfUfagucUfUfagumusc	4240	CAACGAGAAGAGAUACUACUCU
AD-239241.1	3649	csasagGfAfAfGfAfAfaaactaggaalL96	3945	usAfscgAfUfAfGfagucCfuUfagumusu	4241	AACAGAGAAGAGAUACUACUCUC
AD-239242.1	3650	ascsagGfAfAfUfUfagucgcaalL96	3946	asGfscgGfUfAfAfaaactaggaalL96	4242	ACAGAGAAGAGAUACUACUCUCU
AD-239243.1	3651	gsasgaagAfAfUfCfUfagucgcaalL96	3947	usAfscgCfGfAfUfagucCfuUfagumusc	4243	CAGAGAAGAGAUACUACUCUCUC
AD-239245.1	3652	gsasgaGfAfUfUfUfUfagucgcaalL96	3948	usAfscgAfGfCfGfagucAfUfagumusc	4244	GAGAAGAGAUACUACUCUCUAA
AD-239246.1	3653	asasgaUfUfUfUfUfagucgcaalL96	3949	usUfscuAfGfAfGfagucAfUfagumusc	4245	AGAGAAGAUACUACUCUCUAA
AD-239247.1	3654	asgsagucCfuAfUfCfUfagucgcaalL96	3950	usUfscuAfGfAfGfagucAfUfagumusc	4246	GAAGAGAUACUACUCUCUAAA
AD-239250.1	3655	gsasucUfCfGfCfUfagucgcaalL96	3951	usGfscuuUfAfGfAfagucGfUfagumusc	4247	GAGAUACUCUCUCUCUAAUA
AD-239251.1	3656	asusucUfGfCfUfCfUfagucgcaalL96	3952	usUfscuUfAfGfAfagucCfGfUfagumusc	4248	AGAUACUCUCUCUCUAAUACAG
AD-239253.1	3657	csusacGfCfuUfCfUfagucgcaalL96	3953	asCfscuAfUfUfUfagucAfGfCfagumusc	4249	AUCUACUCUCUCUCUAAUACAGGU
AD-239254.1	3658	uscsucGfCfuUfCfUfagucgcaalL96	3954	asAfscuGfCfuUfUfagucAfGfCfagumusc	4250	UCUACUCUCUCUCUAAUACAGGU

【表 3-3】

AD-239255.1	3659	asusugcuCfuCtUfaaueaggugauL96	3955	usCfsaceUfgAfUfuuaagAfAgfageausaig	4251	CUAUCGCUUCUAAAUCAGGUGA
AD-239290.1	3660	gsasuguaAfcAfAfUfcugugugauL96	3956	asUfsucaCfcAfCfcauuGfuUfcaucuasce	4252	GUGAUGUAACAACUCUGUGUGAAU
AD-239291.1	3661	asusguuaCfaAfUfCfugugugauaL96	3957	usAfsuueAfcCfAfCfcauUfgUfcaucsa	4253	UGAUGUAACAACUCUGUGUGAAUA
AD-239292.1	3662	gsusuaaeAfuaUfCfGfuguguaauaL96	3958	usUfsauuCfaCfCfcaagUfgGfuucausue	4254	GAUGUAACAACUCUGUGUGAAUAA
AD-239293.1	3663	gsusaacAfuaCfGfuUfguguaauaL96	3959	asUfsauuUfCfAfCfcaagAfuUfmuacsa	4255	AUGUAACAACUCUGUGUGAAUAU
AD-239304.1	3664	gsusugaUfAfUfGfGfugugagauL96	3960	asCfsuauCfcCfAfCfcauUfUfmuacsa	4256	GUGUGAAUAAUGUGUGGACAGU
AD-239312.1	3665	asusugcuGfGfAfCfAfguaaucaal96	3961	usUfsgaUfAfUfAfAfuauCfcCfcausua	4257	UAAUGUGGGACAGUAUAUCCAG
AD-239313.1	3666	usgsucugCfAfCfAGfuaaucaal96	3962	usCfsugGfAfUfUfAfuagUfcCfcaucasu	4258	AAUGCUGGGACAGUAUAUCCAGC
AD-239314.1	3667	gsesugugAfAfAfUfuaueagcaal96	3963	usGfscugUfgAfUfAfuaiaGfuCfcaucasu	4259	AUGCUGGGACAGUAUAUCCAGCC
AD-239316.1	3668	gsesugaeAfGfAfUfaucaagcaal96	3964	usCfsagUfgGfAfAfuaiaGfuCfuuccasg	4260	GCUGGGACAGUAUAUCCAGCCGA
AD-239317.1	3669	gsesgacaGfuAfUfAfuaueagcaal96	3965	asUfscggCfuGfGfuaauAfcUfguuccasg	4261	CUGGGACAGUAUAUCCAGCCGAU
AD-239318.1	3670	gsasacagUfAfUfUfcaagcgaal96	3966	usAfscugGfUfGfGfuaUfAfCfhuuccsa	4262	UGGGACAGUAUAUCCAGCCGAUC
AD-239321.1	3671	csasugauAfuaCfAfCfcaagcauL96	3967	usAfsgaUfGfGfGfugGfAfAfhuuagusc	4263	GACAGUAUAUCCAGCCGCAUUC
AD-239332.1	3672	gsesugcuCfuUfCfUfcaagcaal96	3968	usUfscugUfgCfUfGfcaagUfgAfugcususc	4264	CAGCCGCUUCUCAGCAGCACAAG
AD-239337.1	3673	uscsuucCfaGfAfCfcaaggaal96	3969	usCfsaucUfuUfGfGfugAfAfagagusc	4265	GAUCUUCAGACACCAAGGAUGA
AD-239348.1	3674	csasaagAfuaGfAfAfagauucaal96	3970	usGfsguaAfuaCfUfmuuAfuaCfmuagusc	4266	CACCAAGGAUGAAGAGAUUAACA
AD-239362.1	3675	asusuaaeAfAfGfAfCfauuaggaal96	3971	usAfscucCfaAfAfugueUfuGfmuauusc	4267	AGAUUACCAAGACAUUUGAGGUC
AD-239366.1	3676	csasaagCfaUfUfUfGfaggaucal96	3972	usGfsuugAfCfUfCfcaaaUfgUfmuagusa	4268	UACCAAGACAUUUGAGGUGACAAC
AD-239368.1	3677	asasgacaUfuUfGfAfAfaggaucal96	3973	usAfsguUfAfCfCfcaaaAfAfugmuussg	4269	CCAAGACAUUUGAGGUGACAACUC
AD-239372.1	3678	csasuuugAfGfUfCfAcaauucaal96	3974	usUfsgagAfuaGfUfugacAfuaCfuaugusc	4270	GACAUUUGAGGUGACAACUCCUAG
AD-239373.1	3679	asusuuugGfGfUfCfAfcauuccaL96	3975	usCfsuagGfaUfGfGfugCfcUfcaaaugsu	4271	ACAUUUGAGGUGACAACUCCUAGG
AD-239379.1	3680	gsusucacAfuaUfCfCfGaggaucuuL96	3976	asAfsguUfCfCfUfaggaUfgUfugaccusc	4272	GAGGUGACAACUCCUAGGACAUAU
AD-239380.1	3681	gsusacacAfuaCfUfUfaggaucuuL96	3977	asAfsgauGfuCfCfGfugacscu	4273	AGGUGACAACUCCUAGGACAUAUU
AD-239387.1	3682	uscsuugGfAfCfAfUfmuuagcaL96	3978	usGfsaucCfaAfAfaggaUfcCfhuagacscu	4274	CAUCCUAGGACAUUUUUGGAUCA
AD-239397.1	3683	uscsuuugGfaUfUfCfcaaggaucal96	3979	asGfsugUfCfUfUfugafUfcCfcaaaugsc	4275	CAUUUUUGGAUCACAAAAGCACU
AD-239411.1	3684	asasgacAfuaCfUfUfUfcauugcaal96	3980	usCfsaucGfaUfGfGfagAfafGfugmuuscu	4276	AAAAGCACUUCUCCUAGGUGAUGA
AD-239412.1	3685	asgsacacUfCfUfUfCfcauggaal96	3981	asUfscuCfGfAfUfGfgaUfAfafugmuuscu	4277	AAAGCACUUCUCCUAGGUGAUGAU
AD-239433.1	3686	asusugagAfAfAfUfcauuggaal96	3982	usUfsgugCfcCfAfAfguuCfuCfhuuccsa	4278	UGAUGGAGAAUAUCAUGGCCAC
AD-239433.1	3687	gsesugagAfAfAfUfcauggaal96	3983	asUfsgugCfcCfAfAfguuCfuCfhuuccsa	4279	AUGGAGAGAAUAUCAUGGCCACU
AD-239436.1	3688	gsasgaaUfCfAfUfGfGfcaucal96	3984	asCfsuagGfuGfGfcauUfAfufuuccscu	4280	GAGAGAAUAUCAUGGCCACAUCGU
AD-239437.1	3689	asgsaaauCfaUfGfGfcaucagcaal96	3985	usAfscgaUfgUfGfGfcaUfgAfmuuucscu	4281	AGAGAAUAUCAUGGCCACAUCGUUC
AD-239438.1	3690	gsasuaacAfuaGfGfCfcaucagcaal96	3986	usGfsacGfAfuaGfUfGfGfcaUfgGmuuisc	4282	GAGAAUAUCAUGGCCACAUCGUCA
AD-239439.1	3691	asasacagUfGfGfCfcaucagcaal96	3987	usUfsgacGfaUfGfGfugCfAfufgaumuisc	4283	AGAAUAUCAUGGCCACAUCGUAC
AD-239450.1	3692	ascsuugAfAfCfAfAfugugcaal96	3988	usUfsgaGfCfAfAfguuGfAfufgaumuisc	4284	CCACAUCGACAGUGGCUUCAG
AD-239451.1	3693	csasuuugCfaCfAfGfugugcaal96	3989	asCfsuagAfCfCfcaugUfgAfageauusg	4285	CACAUCCCACAAGUGGCUUCAGU

【表 3 - 4】

AD-239452.1	3694	asusgucAfcAfGfUfGgucacagual.96	3990	usAfsucGfAfaGfCfcauGfuGfagcausgu	4286	ACUcGUcACAGUGGGCUUCAGUG
AD-239453.1	3695	uscsnuaCfaGfUfGfGucacagual.96	3991	asCfsacuGfAfaGfCfcauGfuGfagcausgu	4287	CAUCGUcACAGUGGGCUUCAGUG
AD-239475.1	3696	csGgccaCfGfAfaGfGgucacacual.96	3992	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4288	UGCGGCCACGAAGGGAUUCUUA
AD-239476.1	3697	gsgsccaCfAfaGfGfagucacacual.96	3993	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4289	GCGCCACGAAGGGAUUCUUA
AD-239478.1	3698	csGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	3994	asGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4290	GGCCACGAAGGGAUUCUUA
AD-239479.1	3699	csGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	3995	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4291	GCCACGAAGGGAUUCUUA
AD-239480.1	3700	ascsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	3996	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4292	CCACGAAGGGAUUCUUA
AD-239482.1	3701	gsasagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	3997	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4293	ACGAAGGGAUUCUUA
AD-239483.1	3702	asasagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	3998	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4294	CGAAGGGAUUCUUA
AD-239499.1	3703	csasagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	3999	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4295	CUCAUCCCAUUAUUGUCCAGCAA
AD-239510.1	3704	gsusagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4000	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4296	UUGUCCACGAUUAUUGUCCAGCAA
AD-239520.1	3705	asusagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4001	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4297	AAUUGCCGCUUUGGCUUUCAC
AD-239521.1	3706	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4002	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4298	AAUUGCCGCUUUGGCUUUCAC
AD-239522.1	3707	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4003	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4299	AUUGCCGCUUUGGCUUUCAC
AD-239534.1	3708	gsGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4004	asUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4300	UGGCUUUCACAGAGGUCUGACA
AD-239539.1	3709	csGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4005	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4301	UUCACAGAGGUCUGACAUAGAA
AD-239544.1	3710	asGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4006	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4302	AGAGGUCUGACAUAGAA
AD-239566.1	3711	gsGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4007	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4303	AGGCUUUGGGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239578.1	3712	ascsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4008	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4304	AAACUGGUAUCAAACCUCAUGU
AD-239579.1	3713	csusagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4009	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4305	AACUGGUAUCAAACCUCAUGU
AD-239611.1	3714	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4010	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4306	UUUUGGUAUCAAACCUCAUGU
AD-239612.1	3715	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4011	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4307	UUUUGGUAUCAAACCUCAUGU
AD-239613.1	3716	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4012	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4308	UUUUGGUAUCAAACCUCAUGU
AD-239617.1	3717	asGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4013	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4309	UGAAUACUGGCUUUCACCA
AD-239618.1	3718	asGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4014	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4310	GAUACUGGCUUUCACCA
AD-239637.1	3719	uscsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4015	usGfsguaAfgGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4311	AAUCAAAGCAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239641.1	3720	ascsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4016	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4312	CAAGCAAGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239642.1	3721	gsGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4017	asUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4313	AAGCAAGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239643.1	3722	csGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4018	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4314	AGCAAGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239645.1	3723	csGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4019	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4315	CACAAGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239647.1	3724	asGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4020	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4316	CAAGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239649.1	3725	asGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4021	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4317	AGAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239650.1	3726	usGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4022	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4318	GAUUAUUGGCUUUCAC
AD-239653.1	3727	usGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4023	usUfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4319	UAUUGGCUUUCAC
AD-239654.1	3728	gsGgccaCfAfaGfGfagucacacual.96	4024	usAfsagGfAfaUfCfCfcauGfuGfagccsca	4320	AUGGCUUUCAC

10

20

30

40

50

【表 3 - 5】

AD-239662.1	3729	usugagAfeAfGfAfuagucgualL96	4025	usAfsagCfuUfCfuauctGfuCfucaasusa	4321	UAUUGGAGACAGAUAGAAGUCGUA
AD-239668.1	3730	ascsagauGfaAfGfUfCfuagucgualL96	4026	asCfsuucUfuAfCfagauUfCfucugscsu	4322	AGACAGAUAGAAGUCGUAAGAAGU
AD-239669.1	3731	csasgaugAfaGfuUfCfuagucgualL96	4027	usAfsuucUfuAfCfagauUfCfucugscsu	4323	GACAGAUAGAAGUCGUAAGAAGUC
AD-239670.1	3732	asgsaagaAfgUfCfGfuagucgualL96	4028	asGfsacuUfeUfUfCfagCfuUfcaucugsu	4324	ACAGAUAGAAGUCGUAAGAAGUCU
AD-239671.1	3733	gsasugaaGfuCfGfUfCfuagucgualL96	4029	usAfsagCfuUfCfuauctGfuCfucaasusa	4325	CAGAUAGAAGUCGUAAGAAGUCUG
AD-239674.1	3734	gsasagucGfuAfAfGfagucgualL96	4030	usCfsuacCfaGfUfCfuacUfCfucugscsu	4326	AUGAAGUCGUAAGAAGUCGUAUA
AD-239676.1	3735	asgsucguAfaGfAfAfGfagucgualL96	4031	usCfsuacCfaGfUfCfuacUfCfucugscsu	4327	GAAGUCGUAAGAAGUCGUAUAUA
AD-239681.1	3736	usasagaaGfuCfUfCfuagucgualL96	4032	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4328	CGUAAGAAGUCGUAAGAAGUGAA
AD-239682.1	3737	asasagagUfCfUfCfuagucgualL96	4033	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4329	GUAAGAAGUCGUAAGAAGUGAAU
AD-239684.1	3738	gsasagucUfCfUfCfuagucgualL96	4034	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4330	AAGAAGUCGUAAGAAGUGAAUAC
AD-239685.1	3739	asasguacGfuAfAfGfagucgualL96	4035	asGfsuacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4331	AGAAGUCGUAAGAAGUGAAUACU
AD-239697.1	3740	usgsaauAfaUfCfUfCfuagucgualL96	4036	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4332	GAUGAAUACUUAACCAUAAGA
AD-23971.1	3741	asasgaugUfUfUfCfuagucgualL96	4037	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4333	AAAAGAUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239714.1	3742	asusgaugUfUfUfCfuagucgualL96	4038	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4334	AAAGAUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239717.1	3743	asusuuuGfuUfCfUfCfuagucgualL96	4039	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4335	UGAUUUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239721.1	3744	usugucCfaUfCfUfCfuagucgualL96	4040	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4336	UUUUGUCCAUUGUAUAUCAUA
AD-239723.1	3745	gsusuccaUfCfUfCfuagucgualL96	4041	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4337	UUUUGUCCAUUGUAUAUCAUA
AD-239724.1	3746	ususcacUfCfUfCfuagucgualL96	4042	asGfsuacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4338	UGUCCAUUGUAUAUCAUAUCU
AD-239725.1	3747	ususcacUfCfUfCfuagucgualL96	4043	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4339	GUUCCAUUGUAUAUCAUAUCU
AD-239726.1	3748	csasagUfCfUfCfuagucgualL96	4044	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4340	UCCAUUGUAUAUCAUAUCU
AD-239755.1	3749	ascsagaaGfuUfCfUfCfuagucgualL96	4045	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4341	CUACAGAUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239757.1	3750	asgsaagaUfCfUfCfuagucgualL96	4046	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4342	ACAGAGUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239759.1	3751	asasgaugUfCfUfCfuagucgualL96	4047	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4343	AGAAGUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239761.1	3752	gsusuuuUfCfUfCfuagucgualL96	4048	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4344	AAGUUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239764.1	3753	uscsuucUfCfUfCfuagucgualL96	4049	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4345	UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239778.1	3754	csusucagCfaUfUfCfuagucgualL96	4050	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4346	CGCUCAGCAUUUUUUUUUUUU
AD-239779.1	3755	csusucagCfaUfUfCfuagucgualL96	4051	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4347	GCCUCAGCAUUUUUUUUUUUU
AD-239780.1	3756	uscsagagAfuUfUfCfuagucgualL96	4052	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4348	CCUCAGCAUUUUUUUUUUUUUU
AD-239781.1	3757	csasagagUfUfUfCfuagucgualL96	4053	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4349	CUCAGCAUUUUUUUUUUUUUU
AD-239782.1	3758	asgsagauUfUfUfCfuagucgualL96	4054	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4350	UCAGCAUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239783.1	3759	gsasgaugUfUfUfCfuagucgualL96	4055	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4351	CAGCAUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239784.1	3760	csasgaugUfUfUfCfuagucgualL96	4056	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4352	AGCAUUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239785.1	3761	gsasuuuAfaUfUfCfuagucgualL96	4057	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4353	GCGAUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239786.1	3762	asusuuuAfaUfUfCfuagucgualL96	4058	asUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4354	CGAUUUUUUUUUUUUUUUUUUU
AD-239787.1	3763	usuuuuuAfaUfUfCfuagucgualL96	4059	usUfscacUfCfUfCfuagCfuUfcaucugsu	4355	GAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

AD-239791.1	3764	asasaucgUfaUfGfCfagaaunaalL96	4060	usGfsaaUfaUfCfagcaUfaCfagaausasa	4356	UUAAAUCGU AUGCAGAAUAUAUA
AD-239793.1	3765	asasegaaUfGfCfAfaaunaalL96	4061	asUfsugaAfuUfUfuegCfuUfuegaususu	4357	AAUUCGU AUGCAGAAUAUAUAUA
AD-239806.1	3766	usasuaaAfuUfUfGfagagaaunaalL96	4062	asCfsuecUfGfCfUfuaaAfuUfUfagaaususu	4358	AAUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239839.1	3767	gsasuaaaAfuUfAfaGfCfuecagcaalL96	4063	usUfsggcUfGfGfagcaAfuUfUfuaucsa	4359	AUGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239840.1	3768	asasaanaUfaAfaGfCfuecagcaalL96	4064	usCfsggcCfuGfGfagcaUfaUfUfuausasa	4360	UGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239854.1	3769	asasecagAfaUfGfUfuaagcaunaalL96	4065	asUfscagGfCfUfUfuaaAfuUfUfuegcausg	4361	CCAGCAGAGAGUUAUGCAUGAU
AD-239855.1	3770	gsescagaGfaUfGfUfuaagcaunaalL96	4066	usAfsuaaUfGfCfAfaaUfUfuegcausg	4362	CAGCAGAGAGUUAUGCAUGAU
AD-239876.1	3771	asusaagaAfuAfaGfUfuecagcaalL96	4067	usUfsgaaUfGfCfAfaaUfUfuecagcaalL96	4363	UGAUUGAAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239877.1	3772	usasugaaUfaGfUfuecagcaalL96	4068	asUfsgaaUfUfUfGfAfaaUfUfuecagcaalL96	4364	GAUUGAAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239881.1	3773	asasaagaaUfUfGfAfaaunaalL96	4069	usAfsuaaUfUfUfGfAfaaUfUfuecagcaalL96	4365	UGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239905.1	3774	ususcagaaUfUfGfAfaaunaalL96	4070	usUfsgaaUfUfUfGfAfaaUfUfuecagcaalL96	4366	UUUACAGUCCUGAAUAUAUAUAUA
AD-239914.1	3775	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4071	usAfsuaaUfUfUfGfAfaaUfUfuecagcaalL96	4367	UUAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239915.1	3776	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4072	usUfsgaaUfUfUfGfAfaaUfUfuecagcaalL96	4368	UAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239941.1	3777	gsusaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4073	asAfsuaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4369	CAGUAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239944.1	3778	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4074	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4370	UCAAACGAAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239945.1	3779	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4075	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4371	CAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239946.1	3780	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4076	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4372	AAACGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239947.1	3781	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4077	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4373	AACGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239977.1	3782	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4078	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4374	UUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239979.1	3783	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4079	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4375	UCUAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239980.1	3784	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4080	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4376	CUCAGAAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-239998.1	3785	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4081	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4377	UUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240019.1	3786	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4082	asUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4378	CUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240031.1	3787	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4083	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4379	UUAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240032.1	3788	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4084	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4380	UAAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240033.1	3789	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4085	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4381	AAAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240064.1	3790	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4086	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4382	UAUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240090.1	3791	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4087	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4383	AGCUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240091.1	3792	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4088	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4384	GCUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240108.1	3793	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4089	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4385	AAUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240117.1	3794	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4090	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4386	AGAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240124.1	3795	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4091	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4387	AUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240125.1	3796	usasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4092	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4388	UUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240126.1	3797	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4093	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4389	UUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA
AD-240135.1	3798	asasaacAfuUfGfGfuaagcaalL96	4094	usUfsgaaUfUfUfGfGfuaaUfUfuecagcaalL96	4390	GAAGUUUAUAUAUAUAUAUAUAUAUAUA

10

20

30

40

50

【表 3 - 7】

AD-240138.1	3799	ususuagAfeUfGfuFucaagugacalL96	4095	usGfsuacFfuUfGfaacGfuCfuaaascsc	4391	GGUUUAAGACUGUUAAGUAGCA
AD-240140.1	3800	usasagaeUfgUfUfCfuaagugaculL96	4096	asAfsugcUfaCfUfugaaCfaGfucuaasasa	4392	UUUAAGACUGUUAAGUAGCAUU
AD-240142.1	3801	asgsacugUfuCfAfaFuaagacaculL96	4097	usGfsaauGfcUfaCfuaagAfaCfagucuisasa	4393	UAAGACUGUUAAGUAGCAUUC
AD-240145.1	3802	asusguueAfaGfUfaFgaucacaculL96	4098	asUfsugGfAfaUfGfuaacUfuGfuaagusc	4394	GACUGUUAAGUAGCAUUCCAAU
AD-240147.1	3803	gsusuaaGfuAfgGfuaucacaculL96	4099	asGfsaauGfgAfaGfuaacUfuGfuaagusc	4395	CUGUUAAGUAGCAUUCCAAU
AD-240148.1	3804	ususaagUfaGfCfuaucacaculL96	4100	asAfsuauUfgAfaGfuaacUfuGfuaagusc	4396	UGUUAAGUAGCAUUCCAAU
AD-240154.1	3805	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4101	usGfsuacUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4397	AGUAGCAUUCCAAUUCGUAAGCA
AD-240155.1	3806	asgsaauCfcAfaUfuaagacaculL96	4102	asUfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4398	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240156.1	3807	gsesauueCfaAfuCfuaagacaculL96	4103	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4399	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240171.1	3808	gsesauueCfaAfuCfuaagacaculL96	4104	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4400	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240172.1	3809	gsesauueCfaAfuCfuaagacaculL96	4105	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4401	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240192.1	3810	asasgaacAfaCfAfaFuaagacaculL96	4106	usUfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4402	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240227.1	3811	gsusuaaGfuAfgGfuaucacaculL96	4107	usAfsuauUfgAfaGfuaacUfuGfuaagusc	4403	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240228.1	3812	ususaagUfaGfCfuaucacaculL96	4108	asGfsaauUfgAfaGfuaacUfuGfuaagusc	4404	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240237.1	3813	gsesauueCfaAfuCfuaagacaculL96	4109	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4405	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240245.1	3814	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4110	usGfsuacUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4406	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240276.1	3815	asusgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4111	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4407	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240278.1	3816	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4112	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4408	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240279.1	3817	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4113	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4409	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240280.1	3818	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4114	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4410	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240308.1	3819	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4115	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4411	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240309.1	3820	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4116	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4412	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240310.1	3821	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4117	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4413	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240311.1	3822	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4118	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4414	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240312.1	3823	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4119	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4415	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240313.1	3824	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4120	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4416	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240315.1	3825	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4121	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4417	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240317.1	3826	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4122	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4418	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240318.1	3827	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4123	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4419	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240319.1	3828	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4124	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4420	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240322.1	3829	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4125	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4421	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240324.1	3830	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4126	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4422	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240326.1	3831	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4127	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4423	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240327.1	3832	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4128	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4424	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU
AD-240333.1	3833	usasgaauUfeCfaAfaFuaagacaculL96	4129	usAfsugGfUfaCfUfuaagGfaAfaGfuaagusc	4425	UAGCAUUCCAAUUCGUAAGCAU

10

20

30

40

50

【表 3 - 8】

AD-240364.1	3834	usgsuuaaAfaCfuUfagaGfuUfaaasgsa	4130	usGfsuggAfcUfuUfagaGfuUfaaasgsa	4426	UCUGUAUAACUCUGAAGUCCACC
AD-240365.1	3835	gsusauuaCfuCfuUfGfaaguccaL96	4131	usGfsuggGfaCfuUfagAfcUfaaasgsa	4427	CUGUAUAACUCUGAAGUCCACC
AD-240375.1	3836	gsasagucCfaCfcAfaaagugacL96	4132	usGfsuccAfcUfuUfuggUfgGfaucussg	4428	CUGAAGUCCACCAAAAGUGGACC
AD-240378.1	3837	gsusuccacCfaAfaAfaagugaccuL96	4133	usAfsaggGfcCfaCfuUfGfuggaacsusu	4429	AAGUCCACCAAAAGUGGACCCUC
AD-240381.1	3838	csasccaaAfaGfuUfGfagccuauL96	4134	asUfsgaGfgGfuUfcaaeUfuUfuggagssg	4430	UCCACCAAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240382.1	3839	ascccaaaAfgUfGfGfaaccuuaL96	4135	usAfsungAfgGfgfuccaCfuUfuuggsg	4431	CCACCAAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240383.1	3840	csasaaaaGfuGfGfAfccuauauL96	4136	asUfsauaGfaGfgfuccAfcUfuuggsg	4432	CACCAAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240385.1	3841	asasaaguGfGfAfcfcuauauuL96	4137	asAfsauaUfaGfAfggGfcAfcuunsg	4433	CCAAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240386.1	3842	asasagugGfCfcCfcuauauuuL96	4138	usAfsauaUfaAfgfaggGfcCfaucunsg	4434	CAAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240387.1	3843	asasagucAfcCfuUfcauauuuL96	4139	usGfsaaaUfaUfAfgagGfuCfcaucunsg	4435	AAAAGUGGACCCUCUAU
AD-240419.1	3844	asusacauUfaUfGfAfaagugacL96	4140	usGfsugAfcCfuUfuccaUfaAfaaunsg	4436	AGAUCAUUAUGAAAAGUGGACCG
AD-240420.1	3845	usascanuAfuGfAfaagugacL96	4141	usCfsagGfCfaCfcfuueAfuAfaaunsg	4437	GUAUACAUUAUGAAAAGUGGACCG
AD-240421.1	3846	ascsauuaUfgAfaAfgugaccgaL96	4142	usUfscggUfcAfcfcuuaCfaUfaaunsg	4438	AUACAUUAUGAAAAGUGGACCG
AD-240422.1	3847	csasuuuGfaAfaGfgugaccgaL96	4143	asGfsugGfuCfaCfafcuUfcAfaaunsg	4439	UACAUUAUGAAAAGUGGACCG
AD-240423.1	3848	asusauugAfaAfgGfgugaccgaL96	4144	usAfsugGfgUfcfaccuUfuCfaaunsg	4440	ACAUUAUGAAAAGUGGACCG
AD-240431.1	3849	asgsugGfcGfAfcfcuauuuL96	4145	usUfsaaaUfuAfgfaggGfgUfcuunsg	4441	AAAGUGGACCGACUCUAU
AD-240446.1	3850	asuscucaGfaAfuUfuuaagucuaL96	4146	usAfsagaCfuUfaaauUfcUfgaunsg	4442	AAAUUCACAGAAUUAAGUUCUA
AD-240474.1	3851	csusuucaUfaUfAfcfcuuguccaL96	4147	usGfsagCfaAfgfagaUfaUfgaagsg	4443	UGCUUUCUAUAUCCUUGGUC
AD-240475.1	3852	ususcucaAfuAfcfcuuguccaL96	4148	usGfsagGfcAfaAfggaUfaUfgaagsg	4444	OCUUCUAUAUCCUUGGUC
AD-240476.1	3853	ususcuaUfaUfCfcuuguccaL96	4149	usUfsgggAfcCfaAfggaUfaUfgaagsg	4445	CUUUCUAUAUCCUUGGUC
AD-240490.1	3854	gsuscccaGfaGfaUfuguuagacL96	4150	usUfsgucUfaAfaAfaucUfcUfgagsg	4446	UGGUCCAGAGUUAUAGACAA
AD-240494.1	3855	csasgagaUfgUfuUfagacauuuL96	4151	asAfsauUfgUfcfuuaaCfaUfcuugsg	4447	CCAGAGAGUUAUAGACAAU
AD-240495.1	3856	asgsagauGfuUfAfgacauuuL96	4152	usAfsaaaUfuGfuUfcuaaAfcAfcuugsg	4448	CCAGAGAGUUAUAGACAAU
AD-240501.1	3857	gsusuuagAfcAfuUfuuaagucuaL96	4153	usGfsagCfuAfaaauGfuCfuuaasasu	4449	AGUUUAGACAAUUAUAGGCUA
AD-240502.1	3858	ususuagCfaAfuUfuuaagucuaL96	4154	usUfsgagCfcUfaaauUfgUfcuaasasa	4450	UUUAGACAAUUAUAGGCUA
AD-240503.1	3859	ususuagAfaUfuUfuuaagucuaL96	4155	usUfsgagGfcUfaaauUfuGfuuaasase	4451	GUUAGACAAUUAUAGGCUA
AD-240504.1	3860	usasuagAfuUfuUfagcuaaaL96	4156	usUfsuugAfgCfcfuuaaAfuUfgucuaasa	4452	UUUAGACAAUUAUAGGCUA
AD-240505.1	3861	asgsacaaUfuUfAfggcuaaaL96	4157	usUfsuuUfgGfCfuuaaAfuUfgucuaasa	4453	UUAGACAAUUAUAGGCUA
AD-240507.1	3862	ascsauuUfuAfgGfcuaaaauL96	4158	asAfsuuUfuGfAfgccUfaAfaaunsg	4454	AGACAAUUAUAGGCUA
AD-240512.1	3863	ususuagGfuCfaAfaaauuaagL96	4159	usCfsuuAfaUfuUfuugAfgCfuuaasasu	4455	AUUUAGGCUA
AD-240513.1	3864	ususuagGfCfaAfaaauuaagL96	4160	asGfsuuUfaUfuUfuuaGfCfuuaasasu	4456	UUUAGGCUA
AD-240514.1	3865	usasuagCfaAfaaauuaagL96	4161	usAfsuuUfuAfaaauUfgAfgcuaasa	4457	UUUAGGCUA
AD-240538.1	3866	csasggaAfaGfAfaaauuaagL96	4162	usCfsuuAfaAfgfuccUfuUfuucunsg	4458	CACAGGAAAGGAAACUGUACUGG
AD-240540.1	3867	gsasaaaGfgAfaaauuaagL96	4163	asGfsuuGfuAfcfaguCfuUfuucunsg	4459	CAGGAAAGGAAACUGUACUGG
AD-240542.1	3868	asasaaggAfaCfuUfgfuaagucuaL96	4164	asUfsagCfaCfuUfagGfuCfuunsg	4460	GGAAAGGAAACUGUACUGGCUA

10

20

30

40

【表 3 - 9】

AD-240545.1	3869	asgsaaceUfgUfAfCfUfgucuaualL96	4165	usUfsaauAfgCfCfaguaCfaGfucucuasuu	4461	AAAGGAACUGUACUGGCUAUUAC
AD-240546.1	3870	gsaauCfUfAfCfUfgucuaualL96	4166	usCfsuaaUfagGfCfagUfAfCfucucuasuu	4462	AAGGAACUGUACUGGCUAUUACA
AD-240779.1	3871	usasauceCfaCfUfCfcauacuaalL96	4167	usAfsuguAfgUfGfagagUfCfGfauuasuu	4463	AAUAUCCGACUCUCCACUACAUC
AD-240782.1	3872	uscsaaceUfCfCfAfCfcauacuaalL96	4168	usUfsugaUfgUfAfGfuggGfAfGfucggausuu	4464	AAUCCGACUCCACUACAUAAG
AD-240787.1	3873	csusaccaCfuAfCfAfucagacuaalL96	4169	usUfsaguCfuUfGfaguuUfAfGfugggaguu	4465	GACUCCACUACAUAACAAGACUAA
AD-240788.1	3874	uscsaaceUfAfCfAfUfcaagacuaalL96	4170	asUfsuugUfCfUfUfGfagUfAfGfugggaguu	4466	ACUCCACUACAUAACAAGACUAAU
AD-240789.1	3875	csescauAfCfUfCfAfagacuaalL96	4171	usAfsuaaGfuCfUfUfGfagUfAfGfugggaguu	4467	CUCCACUACAUAACAAGACUAAUC
AD-240790.1	3876	csescauAfCfUfCfAfagacuaalL96	4172	asGfsaauAfgUfCfUfGfagUfAfGfugggaguu	4468	UCCACUACAUAACAAGACUAAUCU
AD-240792.1	3877	ascsuacaUfCfAfGfAfcauacuaalL96	4173	usAfsaguUfuAfGfucuuGfAfUfGfaguu	4469	CCACUACAUAACAAGACUAAUCUUG
AD-240793.1	3878	usasauCfaAfGfAfcauacuaalL96	4174	asCfsaagAfuUfAfGfucUfAfUfGfaguu	4470	CACUACAUAACAAGACUAAUCUUGU
AD-240794.1	3879	usasauCfaAfGfAfcauacuaalL96	4175	asAfscaaGfaUfUfGfagUfAfUfGfaguu	4471	ACUACAUAACAAGACUAAUCUUGUU
AD-240795.1	3880	ascsaauCfaAfGfAfcauacuaalL96	4176	asAfscaaGfaUfUfGfagUfAfUfGfaguu	4472	CUACAUAACAAGACUAAUCUUGUU
AD-240826.1	3881	gsusauaUfAfGfAfcauacuaalL96	4177	usGfscaaAfaGfCfauucUfAfUfcauacuaal	4473	AUGUAUUAUAGAUAUGCUUUUGCA
AD-240830.1	3882	usasauaAfGfCfUfUfGfagacuaalL96	4178	usCfscauGfCfAfAfagUfAfUfcauacuaal	4474	AUUAUAGAUAUGCUUUUGCAUGGA
AD-240833.1	3883	asgsaauCfuUfUfUfGfagacuaalL96	4179	usAfsagUfCfAfUfGfcaaaAfgCfauucuaal	4475	AUAGAUAUGCUUUUGCAUGGACUA
AD-240834.1	3884	gsasaugUfUfUfUfGfagacuaalL96	4180	asUfsagUfCfAfUfGfcaaaAfgCfauucuaal	4476	UAGAUAUGCUUUUGCAUGGACUAU
AD-240837.1	3885	usgsauuUfgCfAfUfGfagacuaalL96	4181	asCfsagUfCfAfUfGfcaaaAfgCfauucuaal	4477	AUAGCUUUUGCAUGGACUAUCCU
AD-240839.1	3886	csusauuUfgCfAfUfGfagacuaalL96	4182	asCfsagUfCfAfUfGfcaaaAfgCfauucuaal	4478	UGCUUUUGCAUGGACUAUCCU
AD-240843.1	3887	usgsaauCfaCfUfAfGfagacuaalL96	4183	asAfscaaGfaGfCfagUfAfCfagacuaal	4479	UUUGCAUGGACUAUCCUUGUUU
AD-240844.1	3888	gsasaugAfcUfAfUfGfagacuaalL96	4184	asAfscaaGfaGfCfagUfAfCfagacuaal	4480	UUUGCAUGGACUAUCCUUGUUU
AD-240871.1	3889	asasaauCfUfCfUfUfGfagacuaalL96	4185	usAfsuaaCfuAfCfAfagUfAfUfcauacuaal	4481	AAAAUAACCUUUGUAGUUAUA
AD-240875.1	3890	asascuUfUfUfUfUfGfagacuaalL96	4186	asUfsuuaAfuAfAfcauAfaGfagacuaal	4482	AUAACCUUUGUAGUUAUAAAAU

【 0 7 1 0 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表4.Cos-7(Dual-Luciferase psiCHECK2ベクター)における
HSD17B13 in vitro 50nMスクリーニング

二重鎖名	残存ヒトメッセージ の%、 50nM	STDEV 50nM
AD-238911.1	56.0	9.0
AD-238912.1	103.7	14.5
AD-238913.1	51.6	9.4
AD-238929.1	51.8	10.1
AD-238930.1	63.6	6.7
AD-238932.1	53.7	10.3
AD-238960.1	35.1	3.6
AD-238979.1	25.6	4.7
AD-238991.1	31.8	2.0
AD-239009.1	81.1	15.9
AD-239015.1	94.7	11.3
AD-239016.1	63.8	4.5
AD-239017.1	45.4	9.9
AD-239018.1	68.7	10.7
AD-239019.1	36.9	7.4
AD-239020.1	52.7	5.1
AD-239031.1	19.4	2.5
AD-239062.1	33.5	6.4
AD-239066.1	45.5	3.8
AD-239103.1	12.8	1.3
AD-239110.1	14.0	2.1
AD-239118.1	57.0	8.6
AD-239119.1	38.6	1.6
AD-239131.1	65.9	9.1
AD-239132.1	39.4	13.4
AD-239133.1	31.7	3.2
AD-239146.1	13.5	1.6
AD-239155.1	27.5	1.9
AD-239156.1	81.1	12.5
AD-239177.1	27.7	5.2
AD-239178.1	60.6	7.0
AD-239179.1	42.9	8.4
AD-239180.1	83.8	16.0
AD-239181.1	43.2	8.0
AD-239182.1	34.0	5.5
AD-239183.1	24.3	3.1
AD-239185.1	82.9	12.6
AD-239186.1	89.0	9.8
AD-239187.1	85.1	18.1
AD-239188.1	64.5	3.0
AD-239189.1	70.7	8.9
AD-239190.1	91.9	7.9

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

AD-239191.1	58.9	10.3
AD-239192.1	60.7	17.3
AD-239193.1	61.9	8.1
AD-239194.1	74.4	6.2
AD-239196.1	94.7	17.1
AD-239198.1	100.9	22.5
AD-239199.1	47.3	12.8
AD-239203.1	40.4	2.3
AD-239214.1	33.3	6.2
AD-239215.1	38.9	8.4
AD-239239.1	53.4	7.2
AD-239240.1	27.8	1.8
AD-239241.1	51.4	11.1
AD-239242.1	17.8	2.1
AD-239243.1	54.1	12.2
AD-239245.1	51.6	9.6
AD-239246.1	21.8	4.1
AD-239247.1	30.9	5.0
AD-239250.1	54.2	8.4
AD-239251.1	15.9	6.0
AD-239253.1	22.4	5.0
AD-239254.1	47.2	15.2
AD-239255.1	49.1	5.7
AD-239290.1	31.4	8.3
AD-239291.1	27.9	8.6
AD-239292.1	30.2	4.2
AD-239293.1	51.8	16.1
AD-239304.1	61.4	11.8
AD-239312.1	99.1	12.9
AD-239313.1	95.8	5.0
AD-239314.1	84.2	4.7
AD-239316.1	52.2	2.2
AD-239317.1	27.7	4.6
AD-239318.1	33.6	8.4
AD-239321.1	37.5	3.1
AD-239332.1	28.5	5.9
AD-239337.1	52.0	17.0
AD-239348.1	26.0	4.3
AD-239362.1	49.7	7.9
AD-239366.1	68.4	10.0
AD-239368.1	26.9	3.5
AD-239372.1	48.0	6.3
AD-239373.1	50.8	12.0
AD-239379.1	21.5	6.9
AD-239380.1	18.1	3.2
AD-239387.1	16.6	1.6
AD-239397.1	15.3	2.3
AD-239411.1	46.6	12.2

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

AD-239412.1	76.0	19.4
AD-239431.1	60.2	8.3
AD-239433.1	58.5	11.7
AD-239436.1	77.6	5.7
AD-239437.1	46.9	6.2
AD-239438.1	89.3	27.8
AD-239439.1	61.7	13.6
AD-239450.1	67.4	4.5
AD-239451.1	38.9	7.3
AD-239452.1	84.0	17.0
AD-239453.1	69.1	4.1
AD-239475.1	77.3	13.1
AD-239476.1	67.4	15.1
AD-239478.1	79.3	6.2
AD-239479.1	58.0	4.6
AD-239480.1	26.6	2.8
AD-239482.1	24.3	5.8
AD-239483.1	39.7	8.7
AD-239499.1	53.4	11.4
AD-239510.1	64.1	7.5
AD-239520.1	21.1	3.2
AD-239521.1	26.4	7.7
AD-239522.1	34.2	4.4
AD-239534.1	64.5	14.1
AD-239539.1	68.8	10.5
AD-239544.1	48.5	10.2
AD-239566.1	43.3	5.3
AD-239578.1	19.3	1.8
AD-239579.1	67.0	7.5
AD-239611.1	43.1	10.0
AD-239612.1	54.7	2.8
AD-239613.1	69.7	12.4
AD-239617.1	108.1	8.3
AD-239618.1	32.5	8.9
AD-239637.1	29.8	7.2
AD-239641.1	52.6	8.7
AD-239642.1	11.4	2.0
AD-239643.1	17.2	5.2
AD-239645.1	30.5	8.5
AD-239647.1	33.6	4.5
AD-239649.1	38.4	2.2
AD-239650.1	79.5	16.5
AD-239653.1	42.8	7.3
AD-239654.1	74.4	7.0
AD-239662.1	26.8	7.9
AD-239668.1	27.3	3.8
AD-239669.1	27.7	6.0
AD-239670.1	23.1	3.0

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

AD-239671.1	21.1	7.9
AD-239674.1	16.4	4.9
AD-239676.1	31.3	6.6
AD-239681.1	19.4	5.5
AD-239682.1	39.9	2.9
AD-239684.1	56.3	9.9
AD-239685.1	29.4	6.0
AD-239697.1	26.9	2.2
AD-239713.1	28.4	4.6
AD-239714.1	10.4	1.1
AD-239717.1	18.3	1.5
AD-239721.1	14.4	3.7
AD-239723.1	54.7	4.1
AD-239724.1	18.5	4.7
AD-239725.1	27.2	7.2
AD-239726.1	29.8	4.7
AD-239755.1	14.3	11.2
AD-239757.1	36.0	4.1
AD-239759.1	23.8	5.5
AD-239761.1	73.7	8.8
AD-239764.1	91.7	7.8
AD-239778.1	25.3	8.7
AD-239779.1	20.0	4.1
AD-239780.1	28.9	7.3
AD-239781.1	14.1	3.5
AD-239782.1	22.3	3.8
AD-239783.1	10.1	1.7
AD-239784.1	16.6	5.5
AD-239785.1	15.0	3.4
AD-239786.1	11.9	0.8
AD-239787.1	8.6	2.1
AD-239791.1	15.8	2.3
AD-239793.1	9.9	0.5
AD-239806.1	33.1	11.4
AD-239839.1	40.2	8.9
AD-239840.1	47.9	5.6
AD-239854.1	27.8	9.0
AD-239855.1	16.6	1.4
AD-239876.1	25.6	10.2
AD-239877.1	8.9	0.9
AD-239881.1	11.1	2.7
AD-239905.1	18.2	1.8
AD-239914.1	28.2	4.6
AD-239915.1	37.4	8.6
AD-239941.1	18.0	6.7
AD-239944.1	35.4	5.9
AD-239945.1	18.5	2.6
AD-239946.1	19.5	6.6

10

20

30

40

50

【表 4 - 5】

AD-239947.1	17.5	4.3
AD-239977.1	13.7	2.7
AD-239979.1	12.5	3.8
AD-239980.1	12.9	2.6
AD-239998.1	32.1	2.1
AD-240019.1	25.1	3.2
AD-240031.1	12.4	2.4
AD-240032.1	30.6	3.2
AD-240033.1	30.8	1.5
AD-240064.1	19.6	4.1
AD-240090.1	96.3	8.5
AD-240091.1	53.6	4.7
AD-240108.1	29.4	1.9
AD-240117.1	85.3	10.6
AD-240124.1	78.2	7.7
AD-240125.1	82.3	17.8
AD-240126.1	56.2	2.0
AD-240135.1	33.4	13.3
AD-240138.1	35.3	4.7
AD-240140.1	12.7	3.5
AD-240142.1	15.9	3.9
AD-240145.1	15.1	1.1
AD-240147.1	24.6	3.7
AD-240148.1	18.9	4.5
AD-240154.1	62.0	4.5
AD-240155.1	24.9	5.6
AD-240156.1	22.8	5.7
AD-240171.1	28.6	5.1
AD-240172.1	36.6	5.3
AD-240192.1	32.6	3.8
AD-240227.1	54.8	10.6
AD-240228.1	51.8	10.9
AD-240237.1	44.2	10.9
AD-240245.1	85.3	14.5
AD-240276.1	27.6	5.2
AD-240278.1	16.7	2.8
AD-240279.1	16.6	7.6
AD-240280.1	13.2	3.3
AD-240308.1	40.6	5.6
AD-240309.1	59.7	8.3
AD-240310.1	43.0	15.0
AD-240311.1	85.9	12.1
AD-240312.1	58.6	8.7
AD-240313.1	32.1	2.0
AD-240315.1	36.0	6.5
AD-240317.1	28.0	1.8
AD-240318.1	18.9	2.2
AD-240319.1	49.2	4.4

10

20

30

40

50

【表 4 - 6】

AD-240322.1	47.2	7.2
AD-240324.1	31.4	1.6
AD-240326.1	21.3	3.6
AD-240327.1	24.9	5.4
AD-240333.1	12.0	2.4
AD-240364.1	57.4	7.4
AD-240365.1	92.1	2.3
AD-240375.1	97.7	21.7
AD-240378.1	41.5	5.6
AD-240381.1	22.4	7.1
AD-240382.1	22.5	5.9
AD-240383.1	27.0	3.2
AD-240385.1	23.2	4.1
AD-240386.1	29.9	3.4
AD-240387.1	45.7	5.2
AD-240419.1	76.4	17.2
AD-240420.1	50.1	8.4
AD-240421.1	40.9	6.3
AD-240422.1	44.9	11.0
AD-240423.1	30.4	6.5
AD-240431.1	28.7	3.5
AD-240446.1	13.9	1.7
AD-240474.1	41.8	5.0
AD-240475.1	70.9	15.3
AD-240476.1	15.7	3.4
AD-240490.1	27.9	6.3
AD-240494.1	13.8	4.5
AD-240495.1	19.6	0.9
AD-240501.1	47.6	5.9
AD-240502.1	18.7	3.8
AD-240503.1	19.6	7.0
AD-240504.1	17.2	2.6
AD-240505.1	18.3	3.4
AD-240507.1	23.8	3.3
AD-240512.1	24.6	2.4
AD-240513.1	70.6	9.0
AD-240514.1	22.4	3.1
AD-240538.1	40.7	4.2
AD-240540.1	46.7	8.3
AD-240542.1	21.1	4.0
AD-240545.1	26.7	4.4
AD-240546.1	35.2	3.1
AD-240779.1	31.2	4.4
AD-240782.1	27.9	2.8
AD-240787.1	27.4	4.6
AD-240788.1	16.9	3.9
AD-240789.1	32.5	2.9
AD-240790.1	18.9	5.1

10

20

30

40

50

【表 4－7】

AD-240792.1	28.4	9.9
AD-240793.1	22.4	1.9
AD-240794.1	13.9	1.1
AD-240795.1	25.9	5.2
AD-240826.1	15.2	1.9
AD-240830.1	32.1	7.2
AD-240833.1	25.1	5.0
AD-240834.1	15.3	3.1
AD-240837.1	29.2	5.8
AD-240839.1	14.3	2.6
AD-240843.1	8.4	1.7
AD-240844.1	33.8	8.1
AD-240871.1	18.9	3.2
AD-240875.1	18.0	1.6

10

【 0 7 1 1 】

【表 5－1】

表5.初代ヒト肝細胞におけるHSD17B13 in vitro 50nMスクリーニング

二重鎖名	残存ヒトメッセージ の%、 50nM	STDEV 50nM
AD-238911.1	116.8	40.6
AD-238912.1	83.9	15.4
AD-238913.1	96.3	14.1
AD-238929.1	82.9	14.7
AD-238930.1	86.4	6.6
AD-238932.1	72.4	23.3
AD-238960.1	64.8	28.2
AD-238979.1	48.1	25.1
AD-238991.1	31.3	7.3
AD-239009.1	34.1	9.3
AD-239015.1	90.4	15.8
AD-239016.1	51.7	13.0
AD-239017.1	31.8	10.1
AD-239018.1	75.5	16.0
AD-239019.1	56.0	22.6
AD-239020.1	59.9	19.3
AD-239031.1	46.6	17.3
AD-239062.1	61.9	21.9
AD-239066.1	61.1	17.3
AD-239103.1	41.0	21.7
AD-239110.1	31.8	7.7
AD-239118.1	48.3	3.7
AD-239119.1	56.2	12.7
AD-239131.1	75.2	18.1
AD-239132.1	90.1	34.9
AD-239133.1	52.0	10.7

20

30

40

50

【表 5 - 2】

AD-239146.1	72.1	35.4
AD-239155.1	39.1	9.8
AD-239156.1	79.3	24.4
AD-239177.1	55.1	15.6
AD-239178.1	72.0	21.4
AD-239179.1	57.8	10.5
AD-239180.1	36.3	8.4
AD-239181.1	60.6	19.7
AD-239182.1	42.4	6.4
AD-239183.1	29.3	13.1
AD-239185.1	68.4	21.1
AD-239186.1	87.7	23.4
AD-239187.1	83.2	14.4
AD-239188.1	54.2	13.2
AD-239189.1	74.5	31.3
AD-239190.1	57.4	3.5
AD-239191.1	49.8	21.9
AD-239192.1	33.9	13.5
AD-239193.1	96.3	36.6
AD-239194.1	63.1	18.3
AD-239196.1	43.5	11.6
AD-239198.1	93.8	8.0
AD-239199.1	44.2	21.5
AD-239203.1	68.2	19.0
AD-239214.1	40.3	8.3
AD-239215.1	71.6	25.3
AD-239239.1	53.9	32.4
AD-239240.1	23.8	6.5
AD-239241.1	56.2	10.0
AD-239242.1	46.0	15.0
AD-239243.1	97.6	73.4
AD-239245.1	84.7	9.2
AD-239246.1	37.6	11.2
AD-239247.1	36.5	15.9
AD-239250.1	34.1	6.8
AD-239251.1	19.3	3.7
AD-239253.1	26.3	6.9
AD-239254.1	52.5	13.7
AD-239255.1	52.8	18.1
AD-239290.1	46.3	30.0
AD-239291.1	53.1	25.1
AD-239292.1	49.8	18.6
AD-239293.1	49.5	15.6
AD-239304.1	32.9	10.3
AD-239312.1	83.1	13.5
AD-239313.1	57.4	16.5
AD-239314.1	85.7	13.7
AD-239316.1	50.9	32.4

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

AD-239317.1	28.0	3.5
AD-239318.1	64.4	26.9
AD-239321.1	34.8	6.9
AD-239332.1	42.0	13.9
AD-239337.1	29.1	11.0
AD-239348.1	22.5	10.5
AD-239362.1	67.8	29.4
AD-239366.1	67.1	26.2
AD-239368.1	41.2	17.8
AD-239372.1	46.4	6.0
AD-239373.1	27.8	4.1
AD-239379.1	19.4	5.7
AD-239380.1	26.5	9.0
AD-239387.1	30.5	14.6
AD-239397.1	18.9	5.4
AD-239411.1	41.8	17.0
AD-239412.1	79.2	22.8
AD-239431.1	39.5	15.3
AD-239433.1	36.9	12.1
AD-239436.1	101.1	17.3
AD-239437.1	37.6	20.8
AD-239438.1	54.0	9.7
AD-239439.1	31.8	6.5
AD-239450.1	67.0	22.6
AD-239451.1	42.4	15.3
AD-239452.1	57.4	3.0
AD-239453.1	45.9	5.9
AD-239475.1	27.2	5.0
AD-239476.1	41.4	16.7
AD-239478.1	38.7	5.7
AD-239479.1	44.0	19.6
AD-239480.1	49.2	10.7
AD-239482.1	31.6	9.4
AD-239483.1	37.5	8.3
AD-239499.1	56.0	12.2
AD-239510.1	51.1	20.1
AD-239520.1	26.5	15.5
AD-239521.1	33.4	19.0
AD-239522.1	36.2	18.2
AD-239534.1	30.7	17.4
AD-239539.1	76.9	31.7
AD-239544.1	21.3	10.9
AD-239566.1	39.1	8.1
AD-239578.1	19.9	12.4
AD-239579.1	24.7	6.7
AD-239611.1	38.8	34.7
AD-239612.1	60.9	15.4
AD-239613.1	76.4	15.6

10

20

30

40

50

【表 5 - 4】

AD-239617.1	186.1	52.1
AD-239618.1	32.0	5.2
AD-239637.1	22.8	2.8
AD-239641.1	35.9	14.0
AD-239642.1	31.5	28.5
AD-239643.1	12.0	1.7
AD-239645.1	29.6	11.6
AD-239647.1	24.9	7.3
AD-239649.1	35.0	4.2
AD-239650.1	51.2	3.7
AD-239653.1	48.8	26.5
AD-239654.1	105.2	35.2
AD-239662.1	27.5	12.0
AD-239668.1	31.5	9.1
AD-239669.1	42.4	24.3
AD-239670.1	53.3	17.1
AD-239671.1	26.2	11.1
AD-239674.1	17.3	9.5
AD-239676.1	42.1	13.1
AD-239681.1	24.9	11.4
AD-239682.1	12.7	4.5
AD-239684.1	15.2	1.4
AD-239685.1	24.9	6.1
AD-239697.1	15.1	6.2
AD-239713.1	24.6	7.4
AD-239714.1	23.6	18.1
AD-239717.1	36.6	33.7
AD-239721.1	7.3	3.4
AD-239723.1	47.2	12.1
AD-239724.1	29.1	7.8
AD-239725.1	17.7	15.4
AD-239726.1	45.9	13.2
AD-239755.1	19.0	4.6
AD-239757.1	28.6	3.2
AD-239759.1	10.7	3.3
AD-239761.1	60.2	11.2
AD-239764.1	56.4	15.6
AD-239778.1	45.9	32.9
AD-239779.1	18.2	12.0
AD-239780.1	34.5	22.1
AD-239781.1	30.1	16.8
AD-239782.1	37.3	12.4
AD-239783.1	13.0	6.8
AD-239784.1	43.1	14.0
AD-239785.1	9.9	8.9
AD-239786.1	16.9	10.0
AD-239787.1	15.9	9.3
AD-239791.1	11.7	5.4

10

20

30

40

50

【表 5 - 5】

AD-239793.1	11.1	3.2
AD-239806.1	29.4	13.5
AD-239839.1	60.6	13.8
AD-239840.1	36.7	23.2
AD-239854.1	39.0	20.3
AD-239855.1	31.6	5.2
AD-239876.1	34.6	10.8
AD-239877.1	35.8	21.8
AD-239881.1	47.0	11.9
AD-239905.1	36.6	8.2
AD-239914.1	30.4	13.9
AD-239915.1	51.3	25.7
AD-239941.1	111.8	60.8
AD-239944.1	63.6	23.9
AD-239945.1	58.6	23.0
AD-239946.1	65.3	28.6
AD-239947.1	77.7	16.6
AD-239977.1	54.5	16.5
AD-239979.1	61.4	14.4
AD-239980.1	87.8	41.2
AD-239998.1	54.8	14.7
AD-240019.1	76.7	23.6
AD-240031.1	63.1	18.5
AD-240032.1	51.6	13.5
AD-240033.1	69.7	41.4
AD-240064.1	81.0	32.4
AD-240090.1	145.8	80.6
AD-240091.1	75.2	17.1
AD-240108.1	62.2	18.9
AD-240117.1	54.4	2.3
AD-240124.1	63.3	25.7
AD-240125.1	68.6	18.1
AD-240126.1	77.4	10.9
AD-240135.1	64.9	33.1
AD-240138.1	59.3	17.7
AD-240140.1	65.2	21.2
AD-240142.1	42.9	6.6
AD-240145.1	58.2	10.2
AD-240147.1	56.7	14.3
AD-240148.1	35.0	12.2
AD-240154.1	39.2	19.5
AD-240155.1	57.2	22.1
AD-240156.1	71.9	28.3
AD-240171.1	66.4	22.8
AD-240172.1	50.4	12.9
AD-240192.1	43.5	3.8
AD-240227.1	62.1	19.7
AD-240228.1	50.6	12.7

10

20

30

40

50

【表 5 - 6】

AD-240237.1	67.2	9.5
AD-240245.1	99.3	21.4
AD-240276.1	49.9	16.6
AD-240278.1	31.8	6.1
AD-240279.1	46.2	2.4
AD-240280.1	68.4	16.4
AD-240308.1	72.7	15.4
AD-240309.1	85.8	2.0
AD-240310.1	58.9	16.1
AD-240311.1	74.2	21.0
AD-240312.1	83.3	7.3
AD-240313.1	70.4	15.1
AD-240315.1	66.1	7.6
AD-240317.1	52.0	11.1
AD-240318.1	65.1	24.1
AD-240319.1	38.8	7.7
AD-240322.1	69.9	10.1
AD-240324.1	79.6	37.5
AD-240326.1	29.8	3.0
AD-240327.1	62.6	11.3
AD-240333.1	60.3	31.5
AD-240364.1	81.0	16.8
AD-240365.1	104.1	31.5
AD-240375.1	111.2	18.0
AD-240378.1	85.1	33.8
AD-240381.1	87.8	18.3
AD-240382.1	51.9	9.5
AD-240383.1	45.6	13.2
AD-240385.1	53.5	6.6
AD-240386.1	63.3	6.8
AD-240387.1	75.8	26.0
AD-240419.1	81.2	11.1
AD-240420.1	69.3	32.6
AD-240421.1	93.8	17.0
AD-240422.1	75.6	38.5
AD-240423.1	75.7	14.1
AD-240431.1	53.2	2.4
AD-240446.1	93.2	30.6
AD-240474.1	74.7	22.8
AD-240475.1	74.4	29.5
AD-240476.1	37.2	2.4
AD-240490.1	82.0	34.8
AD-240494.1	62.3	14.1
AD-240495.1	102.5	39.4
AD-240501.1	33.9	4.9
AD-240502.1	40.6	5.7
AD-240503.1	63.4	31.4
AD-240504.1	55.0	7.7

10

20

30

40

50

【表 5 - 7】

AD-240505.1	73.0	22.1
AD-240507.1	68.3	23.1
AD-240512.1	55.0	19.6
AD-240513.1	54.9	14.8
AD-240514.1	33.8	16.7
AD-240538.1	51.3	13.3
AD-240540.1	72.1	11.2
AD-240542.1	60.0	9.0
AD-240545.1	45.9	23.8
AD-240546.1	46.2	18.4
AD-240779.1	64.8	22.4
AD-240782.1	77.7	20.3
AD-240787.1	59.6	16.9
AD-240788.1	54.2	12.0
AD-240789.1	58.9	24.6
AD-240790.1	54.0	14.7
AD-240792.1	67.2	9.2
AD-240793.1	54.9	14.6
AD-240794.1	69.3	18.8
AD-240795.1	34.5	7.2
AD-240826.1	56.5	16.8
AD-240830.1	63.7	14.4
AD-240833.1	84.9	28.4
AD-240834.1	50.2	15.1
AD-240837.1	46.3	16.3
AD-240839.1	54.9	18.4
AD-240843.1	46.4	13.9
AD-240844.1	38.2	10.3
AD-240871.1	92.8	35.8
AD-240875.1	72.0	13.2

【 0 7 1 2】

【表 6 - 1】

表6. 初代カニクイザル肝細胞におけるHSD17B13 in vitro 50nMスクリーニング

二重鎖名	残存Cynoメッセージ の%、 50nM	STDEV 50nM
AD-238911.1	81.2	8.9
AD-238912.1	87.5	6.8
AD-238913.1	62.3	4.1
AD-238929.1	67.1	22.3
AD-238930.1	42.1	4.0
AD-238932.1	54.8	12.2
AD-238960.1	24.6	5.2
AD-238979.1	11.1	7.5
AD-238991.1	30.8	6.2
AD-239009.1	11.4	1.1
AD-239015.1	21.2	3.0

【表 6 - 2】

AD-239016.1	7.2	1.4
AD-239017.1	8.9	1.8
AD-239018.1	39.2	4.6
AD-239019.1	22.0	5.5
AD-239020.1	8.8	2.8
AD-239031.1	19.5	7.5
AD-239062.1	20.6	5.6
AD-239066.1	75.5	16.3
AD-239103.1	88.4	33.4
AD-239110.1	11.2	3.0
AD-239118.1	23.1	6.3
AD-239119.1	23.4	4.2
AD-239131.1	98.9	9.0
AD-239132.1	86.0	18.5
AD-239133.1	24.3	8.7
AD-239146.1	11.4	2.8
AD-239155.1	39.4	21.3
AD-239156.1	52.8	11.0
AD-239177.1	23.1	6.7
AD-239178.1	46.3	4.6
AD-239179.1	40.3	8.7
AD-239180.1	21.8	6.2
AD-239181.1	45.5	5.9
AD-239182.1	17.7	3.8
AD-239183.1	10.6	1.5
AD-239185.1	55.9	7.2
AD-239186.1	77.7	13.0
AD-239187.1	61.1	6.8
AD-239188.1	41.0	1.5
AD-239189.1	11.6	2.1
AD-239190.1	48.8	7.9
AD-239191.1	9.0	4.1
AD-239192.1	35.0	12.1
AD-239193.1	68.1	4.9
AD-239194.1	26.7	1.7
AD-239196.1	56.6	10.2
AD-239198.1	80.5	11.0
AD-239199.1	32.8	4.6
AD-239203.1	36.9	6.3
AD-239214.1	15.3	2.7
AD-239215.1	28.9	6.5
AD-239239.1	17.0	2.8
AD-239240.1	15.6	4.4
AD-239241.1	16.8	9.9
AD-239242.1	16.5	5.9
AD-239243.1	13.3	4.2
AD-239245.1	13.7	2.9
AD-239246.1	12.9	8.2

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

AD-239247.1	18.0	6.5
AD-239250.1	49.8	6.5
AD-239251.1	6.8	0.5
AD-239253.1	11.5	3.8
AD-239254.1	47.4	4.6
AD-239255.1	16.4	7.2
AD-239290.1	75.5	25.9
AD-239291.1	92.3	27.1
AD-239292.1	9.8	2.7
AD-239293.1	46.8	6.3
AD-239304.1	30.7	8.9
AD-239312.1	15.0	3.2
AD-239313.1	8.7	2.4
AD-239314.1	100.1	18.8
AD-239316.1	40.0	9.5
AD-239317.1	12.3	2.0
AD-239318.1	9.3	1.8
AD-239321.1	9.2	2.4
AD-239332.1	48.0	12.4
AD-239337.1	15.4	7.5
AD-239348.1	21.1	6.0
AD-239362.1	75.3	6.7
AD-239366.1	30.7	11.1
AD-239368.1	24.6	6.2
AD-239372.1	45.5	2.7
AD-239373.1	33.3	7.5
AD-239379.1	8.1	2.6
AD-239380.1	7.2	1.1
AD-239387.1	36.2	5.3
AD-239397.1	12.3	3.4
AD-239411.1	31.6	10.7
AD-239412.1	59.5	7.0
AD-239431.1	13.2	7.9
AD-239433.1	33.0	10.1
AD-239436.1	71.5	14.7
AD-239437.1	10.4	2.6
AD-239438.1	12.3	2.7
AD-239439.1	79.2	11.8
AD-239450.1	61.3	2.2
AD-239451.1	29.7	8.7
AD-239452.1	78.7	17.3
AD-239453.1	38.5	10.6
AD-239475.1	11.4	2.2
AD-239476.1	39.5	6.9
AD-239478.1	59.3	9.4
AD-239479.1	14.7	3.6
AD-239480.1	31.6	6.6
AD-239482.1	13.7	3.3

10

20

30

40

50

【表 6 - 4】

AD-239483.1	14.1	3.8
AD-239499.1	111.5	13.7
AD-239510.1	16.0	4.0
AD-239520.1	11.3	5.2
AD-239521.1	19.8	3.7
AD-239522.1	12.5	3.8
AD-239534.1	31.1	8.4
AD-239539.1	9.3	3.5
AD-239544.1	24.0	3.2
AD-239566.1	11.9	7.0
AD-239578.1	25.7	5.5
AD-239579.1	28.1	5.9
AD-239611.1	37.4	7.8
AD-239612.1	36.2	8.4
AD-239613.1	13.5	3.3
AD-239617.1	46.2	9.3
AD-239618.1	15.9	1.2
AD-239637.1	33.6	13.4
AD-239641.1	42.3	7.4
AD-239642.1	34.4	5.7
AD-239643.1	9.7	2.0
AD-239645.1	16.1	3.4
AD-239647.1	19.0	4.0
AD-239649.1	70.4	6.0
AD-239650.1	65.8	12.5
AD-239653.1	16.4	3.6
AD-239654.1	18.3	6.5
AD-239662.1	8.4	4.1
AD-239668.1	13.2	4.2
AD-239669.1	53.6	14.0
AD-239670.1	14.4	3.6
AD-239671.1	12.1	2.9
AD-239674.1	14.8	4.0
AD-239676.1	20.9	4.8
AD-239681.1	9.4	0.6
AD-239682.1	8.9	1.3
AD-239684.1	12.0	2.9
AD-239685.1	10.8	3.7
AD-239697.1	11.8	3.3
AD-239713.1	11.4	1.8
AD-239714.1	7.8	2.8
AD-239717.1	10.4	1.5
AD-239721.1	27.2	6.4
AD-239723.1	81.2	14.9
AD-239724.1	11.0	3.7
AD-239725.1	24.1	3.0
AD-239726.1	27.3	7.7
AD-239755.1	7.8	3.3

10

20

30

40

50

【表 6 - 5】

AD-239757.1	30.3	3.4
AD-239759.1	6.7	1.7
AD-239761.1	49.7	11.8
AD-239764.1	53.5	11.4
AD-239778.1	26.8	7.8
AD-239779.1	63.3	20.5
AD-239780.1	85.5	17.8
AD-239781.1	26.4	6.0
AD-239782.1	22.6	6.7
AD-239783.1	9.7	1.9
AD-239784.1	20.2	3.8
AD-239785.1	23.6	6.7
AD-239786.1	38.3	6.1
AD-239787.1	27.6	2.5
AD-239791.1	17.8	2.1
AD-239793.1	6.8	1.2
AD-239806.1	27.8	2.9
AD-239839.1	11.9	5.6
AD-239840.1	10.3	1.8
AD-239854.1	58.6	8.9
AD-239855.1	23.3	9.3
AD-239876.1	42.8	20.3
AD-239877.1	30.6	10.4
AD-239881.1	53.4	5.5
AD-239905.1	50.1	17.6
AD-239914.1	37.3	5.2
AD-239915.1	34.8	5.7
AD-239941.1	66.8	14.1
AD-239944.1	117.7	12.5
AD-239945.1	23.2	2.7
AD-239946.1	14.0	5.9
AD-239947.1	25.8	1.6
AD-239977.1	27.3	4.4
AD-239979.1	25.5	4.8
AD-239980.1	35.5	6.4
AD-239998.1	32.7	4.0
AD-240019.1	17.9	2.6
AD-240031.1	15.3	1.9
AD-240032.1	23.4	2.4
AD-240033.1	22.2	3.7
AD-240064.1	47.1	5.2
AD-240090.1	25.7	5.9
AD-240091.1	31.4	8.2
AD-240108.1	118.3	27.0
AD-240117.1	56.6	5.6
AD-240124.1	43.5	8.1
AD-240125.1	54.0	6.8
AD-240126.1	30.7	7.0

10

20

30

40

50

【表 6 - 6】

AD-240135.1	14.7	0.8
AD-240138.1	36.6	13.8
AD-240140.1	33.6	10.9
AD-240142.1	19.4	4.7
AD-240145.1	27.6	9.1
AD-240147.1	18.1	3.4
AD-240148.1	9.0	1.7
AD-240154.1	23.0	1.0
AD-240155.1	18.2	1.7
AD-240156.1	15.1	2.2
AD-240171.1	29.9	6.9
AD-240172.1	31.9	8.0
AD-240192.1	39.7	5.7
AD-240227.1	71.4	15.6
AD-240228.1	35.8	22.3
AD-240237.1	43.3	17.3
AD-240245.1	41.5	5.1
AD-240276.1	20.6	4.4
AD-240278.1	11.6	1.8
AD-240279.1	20.1	0.5
AD-240280.1	51.0	9.5
AD-240308.1	80.5	19.3
AD-240309.1	63.5	10.3
AD-240310.1	45.2	10.3
AD-240311.1	42.6	14.8
AD-240312.1	22.3	1.3
AD-240313.1	21.6	4.5
AD-240315.1	26.4	8.2
AD-240317.1	17.8	3.6
AD-240318.1	20.5	2.5
AD-240319.1	23.5	6.5
AD-240322.1	37.5	2.7
AD-240324.1	37.1	13.9
AD-240326.1	11.2	3.4
AD-240327.1	28.7	4.0
AD-240333.1	32.0	5.8
AD-240364.1	34.1	13.5
AD-240365.1	58.8	18.7
AD-240375.1	86.7	17.8
AD-240378.1	49.8	14.8
AD-240381.1	56.0	12.0
AD-240382.1	35.7	7.9
AD-240383.1	27.5	5.5
AD-240385.1	15.8	2.0
AD-240386.1	18.7	2.0
AD-240387.1	33.3	13.0
AD-240419.1	32.8	4.2
AD-240420.1	31.5	4.5

10

20

30

40

50

【表 6 - 7】

AD-240421.1	21.5	4.7
AD-240422.1	19.9	4.6
AD-240423.1	13.1	2.3
AD-240431.1	16.1	3.3
AD-240446.1	16.6	3.5
AD-240474.1	28.7	10.8
AD-240475.1	32.7	11.9
AD-240476.1	11.0	1.8
AD-240490.1	38.5	5.6
AD-240494.1	37.3	14.0
AD-240495.1	17.4	4.6
AD-240501.1	29.5	6.7
AD-240502.1	16.3	1.2
AD-240503.1	12.4	2.5
AD-240504.1	15.6	4.4
AD-240505.1	44.8	15.3
AD-240507.1	47.0	12.7
AD-240512.1	31.9	3.9
AD-240513.1	44.2	3.8
AD-240514.1	13.0	2.4
AD-240538.1	35.5	6.4
AD-240540.1	40.0	12.4
AD-240542.1	65.6	15.4
AD-240545.1	18.7	2.3
AD-240546.1	32.4	5.0
AD-240779.1	33.8	8.0
AD-240782.1	33.6	7.3
AD-240787.1	35.4	3.4
AD-240788.1	12.5	1.3
AD-240789.1	42.6	8.0
AD-240790.1	21.9	2.1
AD-240792.1	22.0	2.8
AD-240793.1	22.7	3.7
AD-240794.1	37.5	9.5
AD-240795.1	18.9	1.9
AD-240826.1	38.9	6.9
AD-240830.1	32.9	2.4
AD-240833.1	41.6	9.4
AD-240834.1	17.2	3.6
AD-240837.1	42.1	7.9
AD-240839.1	18.4	3.7
AD-240843.1	17.1	5.9
AD-240844.1	19.8	3.8
AD-240871.1	16.2	2.1
AD-240875.1	48.1	27.7

(実施例 2)

iRNA の設計、合成、および選択

【0713】

この実施例では、追加的な HSD17B13 iRNA 作用剤を設計、合成、および選択するための方法を記載する。

バイオインフォマティクス

【0714】

ヒト水酸化ステロイド 17-β-脱水素酵素 13 遺伝子 (HSD17B13; ヒト NCBI refseq ID NM_178135.4; NCBI GeneID: 3452

10

20

30

40

50

75) ならびにカニクイザル由来の毒性学種HSD17B13オルソログ: XM__005555367.2を標的とするsiRNAのセットを、カスタムのRおよびPythonスクリプトを使用して設計した。siRNA設計は全て、ヒトHSD17B13転写物に対する完全なマッチおよびカニクイザルオルソログと完全にまたはほぼ完全にマッチするサブセットを有する。ヒトNM__178135 REFSEQ mRNA、バージョン4は2397塩基の長さを有する。siRNA設計のセットのための理論的根拠および方法は以下の通りである: 10位から末端までのあらゆる潜在的な23merのsiRNAについての予測される有効性を、脊椎動物遺伝子の多様なセットを標的とする数千種の別個のsiRNA設計からのmRNAノックダウンの直接測定から導かれたランダムフォレストモデルを用いて決定した。siRNAの各鎖について、カスタムPythonスクリプトを総当たり検索に使用して、siRNAとヒトトランスクリプトーム内の全ての潜在的なアラインメントの間のミスマッチの数および位置を測定した。本明細書ではアンチセンスオリゴヌクレオチドの2位~9位と定義されるシード領域内のミスマッチ、ならびに本明細書ではアンチセンスオリゴヌクレオチドの10位~11位と定義されるsiRNAの切断部位に追加の重み付けを行った。ミスマッチの相対的な重みは、シードミスマッチ、切断部位、およびアンチセンス19位に至るまでの他の位置に対して、2.8、1.2、1であった。最初の位置のミスマッチは無視した。各鎖について特異性スコアを、重み付けされたミスマッチそれぞれの値を合計することによって算出した。ヒトおよびカニクイザルにおけるアンチセンススコアが ≥ 2 であり、予測される有効性が $\geq 50\%$ ノックダウンであったsiRNAに優先性を与えた。

*in vitro*におけるCos-7 (Dual-Luciferase psiCHECK2ヒトHSD17B13ベクター) および初代カニクイザル肝細胞のスクリーニング Dual-Glo (登録商標) ルシフェラーゼアッセイ [0715]

Cos-7細胞(ATCC、Manassas、VA)を、10%FBSを補充したDMEM(ATCC)中、5%CO₂雰囲気下、37℃で、ほぼ集密になるまで成長させた後、トリプシン処理によってプレートから放出させた。複数用量実験を10nMおよび0.1nMで実施した。siRNAおよびpsiCHECK2-HSD17B13(XhoI-NoI部位にクローニングされたNM__178135)プラスミドトランスフェクションを、ウェル当たり5μlのsiRNA二重鎖および5μl(5ng)のpsiCHECK2-HSD17B13プラスミドをウェル当たり4.9μlのOpti-MEMプラス0.1μlのLipofectamine 2000(Invitrogen、Carlsbad CA、cat#13778-150)と一緒に添加することによって行い、次いで、室温で15分間インキュベートした。次いで、混合物を細胞に添加し、それを新鮮な完全培地35μlに再懸濁させた。トランスフェクトされた細胞を5%CO₂雰囲気下、37℃でインキュベートした。

[0716]

siRNAおよびpsiCHECK2-HSD17B13プラスミドをトランスフェクトした48時間後に、ホタル(トランスフェクション対照)およびウミシイタケ(HSD17B13標的配列と融合したもの)ルシフェラーゼを測定した。まず、培地を細胞から取り出した。次いで、培養培地体積と等しいDual-Glo(登録商標)Luciferase Reagent 20μlを各ウェルに添加し、混合することによってホタルルシフェラーゼ活性を測定した。混合物を室温で30分間インキュベートした後、発光(500nm)をSpectramax(Molecular Devices)で測定して、ホタルルシフェラーゼシグナルを検出した。室温のDual-Glo(登録商標)Stop&Glo(登録商標)Reagent 20μlを各ウェルに添加し、プレートを10~15分間インキュベートした後、発光を再度測定して、ウミシイタケルシフェラーゼシグナルを決定した。Dual-Glo(登録商標)Stop&Glo(商標)Reagentによりホタルルシフェラーゼシグナルがクエンチされ、ウミシイタケルシフェラーゼ反応に関する発光が持続した。各ウェル内のウミシイタケ(HSD17B13)シグナ

ルをホタル（対照）シグナルに対して正規化することによって*siRNA*活性を決定した。次いで、*siRNA*活性の大きさを、同じベクターをトランスフェクトしたが*siRNA*で処理しなかったまたは非標的化*siRNA*で処理した細胞と相対させて評価した。全てのトランスフェクションを $n=2$ またはそれよりも多くで行った。

細胞培養およびトランスフェクション

【0717】

初代カニクイザル肝細胞（*Bioreclamation/IVT*）を、384ウェルプレート中、ウェル当たり4.9 μ lの*Opti-MEM*プラス0.1 μ lの*RNAiMAX*（*Invitrogen*、*Carlsbad CA*、cat#13778-150）を、ウェル当たり5 μ lの*siRNA*二重鎖に、各*siRNA*二重鎖について4つの反復実験で添加し、プレートを室温で15分間インキュベートすることによってトランスフェクトした。次いで、約 5×10^3 個の細胞を含有する*InvitroGRO CP*プレATING培地（*Bioreclamation/IVT*）40 μ lを*siRNA*混合物に添加した。細胞を48時間インキュベートした後、RNA精製を行った。複数用量実験を10nMおよび0.1nMで実施した。

DYNABEADS mRNA単離キットを使用した全RNA単離

【0718】

RNAを、DYNABEAD（*Invitrogen*、cat#61012）を使用し、BioTek-EL406プラットフォームにおいて自動プロトコールを使用して単離した。簡単に述べると、溶解／結合緩衝剤70 μ lおよび磁気ビーズ3 μ lを含有する溶解緩衝剤10 μ lを、細胞と共にプレートに添加した。プレートを、電磁気振とう機において室温で10分間インキュベートし、次いで、磁気ビーズを捕捉し、上清を除去した。次いで、ビーズに結合したRNAを洗浄緩衝剤A 150 μ lで2回洗浄し、洗浄緩衝剤Bで1回洗浄した。次いで、ビーズを溶出緩衝剤150 μ lで洗浄し、再捕捉し、上清を除去した。

ABI High capacity cDNA逆転写キット（*Applied Biosystems*、*Foster City, CA*、Cat#4368813）を使用したcDNA合成

【0719】

反応当たり10 $\times$ 緩衝剤1 μ l、25 $\times$ dNTP 0.4 μ l、10 $\times$ ランダムプライマー1 μ l、逆転写酵素0.5 μ l、RNase阻害剤0.5 μ lおよびH₂O 6.6 μ lを含有するマスターミックス10 μ lを上で単離したRNAに添加した。プレートを密閉し、混合し、電磁気振とう機において室温で10分間インキュベートし、その後、37℃で2時間インキュベートした。

リアルタイムPCR

【0720】

cDNA 2 μ lを、384ウェルプレート（*Roche* cat#04887301001）中、ウェル当たりCyno GAPDH TaqMan Probe（フォワードプライマー：5'-GCATCCTGGGCTACACTGA-3'（配列番号4483）、リバースプライマー：5'-TGGGTGTCGCTGTTGAAGTC-3'（配列番号4484）、プローブ：5'-HEX-CCAGGTGGTCTCCTCC-3' BHQ-1（配列番号4485））0.5 μ l、およびHSD17B13カニクイザルプローブ（Mf0288851_m1）0.5 μ lおよびLightcycler 480プローブマスターミックス（*Roche* Cat#04887301001）5 μ lを含有するマスターミックスに添加した。LightCycler 480 Real Time PCR system（*Roche*）においてリアルタイムPCRを行った。各二重鎖を少なくとも2回試験し、データを、非標的化対照*siRNA*でトランスフェクトした細胞に対して正規化した。相対的な倍率変化を算出するために、リアルタイムデータを、 $\Delta\Delta Ct$ 法を使用して解析し、非標的化対照*siRNA*でトランスフェクトした細胞を用いて実施したアッセイに対して正規化した。

10

20

30

40

50

結果

【0721】

表7にHSD17B13 ELF7 GNA7の修飾された配列を提示する。表8にHSD17B13 ELF7 GNA7の修飾されていない配列を提示する。Cos-7および初代カニクイザル肝細胞におけるHSD17B13 ELF7 GNA7の修飾された配列の*in vitro*での10nMスクリーニングからの結果を表9に要約する。

【0722】

同様に、表10にHSD17B13 NonF DNAの修飾された配列を提示する。表11にHSD17B13 NonF DNAの修飾されていない配列を提示する。表12には、Cos-7および初代カニクイザル肝細胞におけるHSD17B13 NonF DNAの修飾された配列の*in vitro*での10nMスクリーニングの結果が示されている。「NonF」は、これらのRNAi作用剤がフルオロ修飾を欠くことを示す。

10

20

30

40

50

【表 7 - 1】

表7.HSD17B13 ELF7 GNA7の修飾された配列*

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-286958.1	asgsuaccUfcCfuUfcCcuaggacuaL96	2981	usAfsuacc(Tgm)aggagGfaGfguacugsu	302	ACAGUACCUCCUCCUCCUAGGACUA	602
AD-287001.1	uscscuucUfgCfuUfcuaucaacuaL96	2982	usGfsguag(Tgm)caagagCfaGfagagauusu	303	AAUCCUUCUGCUUCUAGUACACCA	603
AD-287012.1	csasnuacCfuAfcUfcuacuggaL96	2983	usCfscuag(Tgm)aggaguAfgAfugauugsu	304	ACCAUCAUCUACUCCUACUUGGA	604
AD-287014.1	uscstuaucCfuAfcUfcuagagucguL96	2984	asCfsgacu(Cgm)caaguaGfgAfguagauusg	305	CAUCUACUCCUACUUGGAGUCGU	605
AD-287015.1	csusacuCfuAfcUfcuagagucguL96	2985	asAfsagac(Tgm)ccuagAfgGfagauusg	306	AUCUACUCCUACUUGGAGUCGU	606
AD-287017.1	gsusacuCfuAfcUfcuagagucguL96	2986	asUfsaguc(Cgm)uaggagGfgAfguacugsu	307	CAGUACCUCCUCCUCCUAGGACUAC	607
AD-287026.1	ascsaacGfgAfcUfcuagagucguL96	2987	asUfsuag(Tgm)uacagCfuUfcuagauusg	308	CUACACAAGGACUGAACACGAAAG	608
AD-287059.1	ascscuacAfuCfuAfcuacuaauL96	2988	asAfsagua(Ggm)gagugAfuGfagugusga	309	UCACCAUCAUCUACUCCUACUUG	609
AD-287060.1	csasnuacUfcUfcUfcuacuaugL96	2989	asCfscuag(Agm)aggagGfaUfgauugusg	310	CACCAUCAUCUACUCCUACUUGG	610
AD-287061.1	asusacuUfaCfuUfcuacuaugL96	2990	asUfscuac(Ggm)uaggagUfaGfagauusg	311	CCAACUACUACUCCUACUUGGAG	611
AD-287062.1	csasnuacCfuCfuUfcuagagucguL96	2991	asAfsuacc(Agm)uaggagAfgUfgauusga	312	CUACUACUCCUACUUGGAGUC	612
AD-287064.1	usascuacUfaCfuUfcuagagucguL96	2992	asAfsagac(Cgm)uacagUfaGfagauusga	313	UCUACUCCUACUUGGAGUCGUUG	613
AD-287065.1	ascscuacAfcUfcUfcuagagucguL96	2993	asCfscuag(Agm)uacagCfuAfgauusga	314	CUACUCCUACUUGGAGUCGUUG	614
AD-287066.1	csusacuCfuUfcUfcuagagucguL96	2994	asCfscuac(Ggm)uacagAfgUfgauusga	315	UACUCCUACUUGGAGUCGUUGGU	615
AD-287126.1	uscscuacUfuGfgAfguagucguL96	2995	asAfsuacc(Ggm)uacagAfaGfagauusga	316	ACUCCUACUUGGAGUCGUUGGUUG	616
AD-287200.1	ascscuacAfgCfuUfcuagagucguL96	2996	usUfscuag(Cgm)uacagCfuGfagauusga	317	GAAACUGCAGCUGAGUGCCGAAA	617
AD-287201.1	ascscuacGfgUfcUfcuagagucguL96	2997	usUfscuag(Cgm)uacagGfgUfgauusga	318	AAACUGCAGCUGAGUGCCGAAA	618
AD-287202.1	uscscuacUfgAfgUfcuagagucguL96	2998	asGfscuac(Cgm)uacagCfaGfagauusga	319	ACUGCAGCUGAGUGCCGAAAACU	619
AD-287203.1	gscsagucGfaGfuUfcuagagucguL96	2999	usAfsuag(Tgm)uacagUfcAfgauusga	320	CUGCAGCUGAGUGCCGAAAACUA	620
AD-287205.1	asgsuaccGfaAfaAfcuagagucguL96	3000	usGfscuac(Cgm)uaguuUfcGfagauusga	321	UGAGUGCCGAAAACUAGGCGUAC	621
AD-287206.1	usgsuaccAfaAfcUfcuagagucguL96	3001	asGfscuag(Cgm)uacagUfuUfcuagauusga	322	AGUGCCGAAAACUAGGCGUACU	622
AD-287227.1	csusgagGfaUfaUfcuagagucguL96	3002	asCfscuac(Agm)uacagUfcCfagauusga	323	UUCUGUGGGAUAUAUAAGCGC	623
AD-287246.1	csusgagCfuGfgUfcuagagucguL96	24	asUfscuac(Ggm)uacagAfgCfagauusga	324	AACUGCAGCUGAGUGCCGAAAAC	624
AD-287247.1	csasgucAfgUfcUfcuagagucguL96	25	asUfscuag(Tgm)uacagCfuCfagauusga	325	UGCAGCUGAGUGCCGAAAACUAG	625
AD-287248.1	asgsuaccGfgUfcUfcuagagucguL96	26	asCfscuag(Tgm)uacagAfcUfcuagauusga	326	GCAGCUGAGUGCCGAAAACUAGG	626
AD-287249.1	gscsagucUfgCfuUfcuagagucguL96	27	asCfscuag(Tgm)uacagCfaCfagauusga	327	CAGCUGAGUGCCGAAAACUAGG	627
AD-287250.1	csusgagUfcUfcUfcuagagucguL96	28	asGfscuac(Ggm)uacagGfgCfagauusga	328	AGCUGAGUGCCGAAAACUAGGCG	628
AD-287251.1	gsasgucCfuAfaAfcuagagucguL96	29	asAfsuacc(Tgm)uacagUfuGfagauusga	329	CUGAGUGCCGAAAACUAGGCGUAC	629
AD-287252.1	gsusgucAfaAfcUfcuagagucguL96	30	asUfscuag(Cgm)uacagUfuCfagauusga	330	GAGUGCCGAAAACUAGGCGUAC	630
AD-287253.1	gscsagucAfaAfcUfcuagagucguL96	31	asAfsuagac(Cgm)uacagUfuUfcuagauusga	331	GUGCCGAAAACUAGGCGUACUAC	631
AD-287254.1	csusgagAfaAfcUfcuagagucguL96	32	asCfscuag(Agm)uacagCfuUfcuagauusga	332	UGCCGAAAACUAGGCGUACUAC	632
AD-287258.1	ascscuagGfgUfcUfcuagagucguL96	33	asCfscuag(Cgm)uacagCfuCfagauusga	333	AAACUAGGCGUACUAGGCGUAC	633

10

20

30

40

50

【表 7-2】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-287287.1	gsashtuafUfcGfCfUfucuaaaucaul.96	34	usGfsauu(Agn)gagagcCfuaUfugaucgsasu	334	GAGAUUAUCCGUCUCUAAAUCA	634
AD-287288.1	csusauagCfucUfCfuaaucauggul.96	35	asCfsuag(Tgn)uuuagAgfCfgauggsasu	335	AUCUAUCCGUCUCUAAAUACAGGU	635
AD-287289.1	astusegeuChfUfUfAfaucagguag.96	36	usCfsaucc(Ggn)auuuagAfgaCfagauggsasu	336	CUAUCGUCUCUAAAUACAGGUGA	636
AD-287290.1	uscsgeueUfUfUfAFAfaucaagugaaL.96	37	usUfscucc(Tgn)gaunuaGfagfagaggsasu	337	UAUCGUCUCUAAAUACAGGUGAA	637
AD-287293.1	uscstucuaAfuaUfCfAfagugagaauL.96	38	usUfscuuu(Cgn)accuagUfuaUfagagsgsc	338	GCUCUCUAAAUACAGGUGAAGAA	638
AD-287316.1	gsusagagAfuaUfAfUfugeugagaaL.96	39	usGfsuucc(Agn)geauuaUfufCfaccagsgsa	339	UCUGUGUAUAUAUUGCUGGACGA	639
AD-287320.1	gsasauuaUfjCfUfGfagacagunuaL.96	40	usAFsuau(Cgn)uccagCfuaUfuauuacsac	340	GUGAUAUAUGCUGGACAGUAUA	640
AD-287321.1	asastuaatGfUfUfGfGfagacagunuaL.96	41	asUfauuac(Tgn)gucccaGfCfAfuauuacsac	341	UGAUAUAUGCUGGACAGUAUAU	641
AD-287324.1	gsaggaCfuaUfUfAfucaagcagcaul.96	42	asUfscgce(Tgn)ggsauuAfufUfugccasag	342	CUGGGACAGUAUAUCCAGCCGAU	642
AD-287325.1	gsasacagUfuaUfUfCfagcagcaul.96	43	asGfsaucc(Ggn)cuaggaUfuaUfugucscsc	343	GGGACAGUAUAUCCAGCCGAUCU	643
AD-287326.1	ascasguafUfUfUfCfCfagcagcaul.96	44	asAfsuagc(Tgn)geuaggaUfuaUfugucscsc	344	GGACAGUAUAUCCAGCCGAUCU	644
AD-287327.1	agsuauuaUfCfCfAfGfagcaucuuL.96	45	asAfsauu(Cgn)ggcgagGfuaUfuauggsu	345	ACAGUAUAUCCAGCCGAUCUUCU	645
AD-287344.1	astucuaatCfGfUfCfucuaucuuL.96	46	asUfsgauu(Tgn)agagagCfGaUfuauggsu	346	AGAUCUAUCCGUCUCUAAAUACAG	646
AD-287346.1	usastuceUfUfUfUfUfuaucagguuL.96	47	asAfsuagc(Agn)uuuagGfagfCfagauggsasu	347	UCUAUCCGUCUCUAAAUACAGGU	647
AD-287347.1	cspsuauCfuaUfAfAfAfagcagguagL.96	48	asUfscuac(Cgn)uaguuAfafAfagaggsasu	348	AUCGUCUCUAAAUACAGGUGAAG	648
AD-287366.1	cspsuagguCfuaUfUfAfafuagcagguagL.96	49	asUfscucc(Tgn)cauuuAfufAfaccaggsasu	349	AUCGUGGUGAUAUAUUGCGGGAC	649
AD-287367.1	usgsuguaCfuaUfUfAfafuagcagguagL.96	50	asUfscucc(Cgn)agcauuAfufAfaccaggsasu	350	CGUGUGUAUAUAUUGCGGGACAG	650
AD-287370.1	astuscgucGfagAfCfAfafuaucuuL.96	51	asUfsgguu(Agn)uacuuCfCfCfagaucsu	351	UAUUGCGGGACAGUAUAUCCAC	651
AD-287371.1	usgsuagCfCfAfAGfuaucuucaul.96	52	asCfsuag(Tgn)auuagUfCfCfagcaucsu	352	UAUUGCGGGACAGUAUAUCCAGC	652
AD-287372.1	gsuagguAfCfAfGfUfuaucuucaul.96	53	asGfscuag(Agn)uauuacUfufCfagcaucsu	353	AUCGUGGGACAGUAUAUCCAGCC	653
AD-287373.1	csusggagCfAfGfUfAfuacacagcaul.96	54	asGfscuag(Cgn)auuauUfufUfaccagcsa	354	UUGCGGGACAGUAUAUCCAGCCG	654
AD-287374.1	gsusacagUfUfUfUfUfUfcaagcagcaul.96	55	asAfsuagc(Tgn)ugguuaUfuaUfugucscsa	355	UGGGACAGUAUAUCCAGCCGAUC	655
AD-287375.1	csasguauAfuaUfCfAfagcagcaucuuL.96	56	asAfsauu(Cgn)ggcgagUfuaUfugucscsa	356	GACAGUAUAUCCAGCCGAUCUUC	656
AD-287391.1	cscsaagAfufGfAfAfagcagcaucuuL.96	57	usGfsguua(Tgn)cuuucAfufCfuauggsu	357	CACCAAGGAUGAAGAGAUUACCA	657
AD-287392.1	csasaggaUfjCfAfAGfagaauaccaL.96	58	usUfsguua(Agn)ucuuuUfuaUfucuggsu	358	ACCAAGGAUGAAGAGAUUACCAA	658
AD-287406.1	usustugagCfUfCfAfAfaucaucaggaL.96	59	usCfscuag(Ggn)auuagAfCfCfuaaagcu	359	CAUUUGAGGUCACAUCCUAGGA	659
AD-287407.1	usgsuagCfuaUfCfAfAfucuaagcaul.96	60	usGfscucc(Tgn)agguuUfjCfCfuaucasa	360	UUUGAGGUCACAUCCUAGGACA	660
AD-287408.1	gsasaggaCfAfCfAfUfUfagcagcaul.96	61	asUfscuag(Agn)aggaUfufUfaccuasa	361	UUUGAGGUCACAUCCUAGGACAU	661
AD-287410.1	gsusacaaCfuaUfCfCfuaagcagcaul.96	62	asAfsauu(Cgn)cuaggaUfjCfUfagccscsa	362	GAGGUCACAUCCUAGGACAUUU	662
AD-287411.1	gsusacaaAfufCfUfUfagcagcaul.96	63	asAfsauu(Tgn)cuaggaUfufUfagccscsa	363	AGGUCAACAUCCUAGGACAUUUU	663
AD-287413.1	ascasauCfAfGfGfAfcauuuuggaL.96	64	usCfscuua(Agn)auuucUfuaGfagauggsu	364	CAACAUCUAGGACAUUUUUUGGA	664
AD-287414.1	csasaucaUfjGfAfCfAfauuuuggaL.96	65	asUfscuac(Agn)auuucUfuaUfagauggsu	365	AACAUCUAGGACAUUUUUUGGAU	665
AD-287415.1	uscsuacCfAfCfAfUfuuuueagcaul.96	66	usGfsaucc(Agn)aaauuUfufCfCfagaucsu	366	CAUCCUAGGACAUUUUUUGGAU	666

【表 7-3】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-287418.1	asgsaacUfUfUfUfGgaucacaaal.96	67	usUfsuag(Agn)uccaaaAfAfuftuccusag	367	CUAGGACAUUUUUUGGAUCACAAA	667
AD-287419.1	gsaacauUfUfUfGfgaucacaaal.96	68	usUfsuag(Ggn)auccaaAfAfuftuccusag	368	UAGGACAUUUUUUGGAUCACAAA	668
AD-287421.1	ustusuuGfAfUfCfAfcacaaagcaul.96	69	asGfsuag(Tgn)uuugagUfcCfacaasusag	369	CAUUUUUGGAUCACAAAAGCACU	669
AD-287424.1	usgsaucAfAcfAfAfAfgaacuuuul.96	70	asAfsuag(Tgn)gcuuuuGfuGfcaucacasa	370	UUUGGAUCACAAAAGCACUUCU	670
AD-287427.1	csasaaagCfAcUfUfUfuccaucagal.96	71	usCfsuag(Ggn)aaagaUfGfCfuuuugsug	371	CACAAAAGCACUUCUUCACUGA	671
AD-287428.1	asasaaagAfUfUfUfCfcaucacaaul.96	72	usUfsuag(Ggn)gaagaaGfuGfuccuuusgu	372	ACAAAAGCACUUCUUCACUGAU	672
AD-287429.1	asasacacUfUfUfUfCfcaucacaaul.96	73	usUfsuag(Ggn)uagaaAfAfguccuuusgu	373	AAAAGCACUUCUUCACUGAUGA	673
AD-287430.1	asgsaacUfUfUfUfCfcaucacaaul.96	74	usUfsuag(Ggn)uagaaAfAfguccuuusgu	374	AAAAGCACUUCUUCACUGAU	674
AD-287441.1	gsgsaaagAfAfuUfCfcaucacaaul.96	75	usUfsuag(Ggn)uagaaUfUfCfcaucacasa	375	AUGGAGAGAAAUC AUGGCCACAU	675
AD-287453.1	ascsaaagGfAfUfGfAfagaaauuul.96	76	asGfsuag(Cgn)uucuuUfCfCfuugugsc	376	GCACC AAGAUAGAGAUUACC	676
AD-287462.1	asgsaacUfUfUfGfAfGfcaucacaaul.96	77	asUfsuag(Tgn)gaucacAfAfuftuccusag	377	CAAGACAUUUGAGGUCACAUCC	677
AD-287463.1	csasuuuAfGfUfCfAfcacacaaul.96	78	asUfsuag(Tgn)uuugagUfcCfacaasusag	378	GACAUUUGAGGUCACAUCCUAG	678
AD-287464.1	asuuuugaGfGfUfCfAfcacacaaul.96	79	asCfsuag(Agn)uuugagUfcCfacaasusag	379	ACAUUUGAGGUCACAUCCUAG	679
AD-287465.1	usuuuagUfUfAfCfCfcaucacaaul.96	80	asUfsuag(Ggn)uagaaUfCfCfcaucacasa	380	AUUUGAGGUCACAUCCUAGGAC	680
AD-287466.1	csasacacUfUfUfGfAfGfcaucacaaul.96	81	asUfsuag(Tgn)uucuuUfCfCfuugugsc	381	GUCAACAUCCUAGGACAUUUUUG	681
AD-287467.1	asasacacUfUfUfGfAfGfcaucacaaul.96	82	asCfsuag(Agn)uucuuUfGfCfuugugsc	382	UCAACAUCCUAGGACAUUUUUG	682
AD-287468.1	asuuuugaGfGfUfCfAfcacacaaul.96	83	asUfsuag(Ggn)uagaaUfCfCfcaucacasa	383	ACAUCCUAGGACAUUUUUGGAC	683
AD-287469.1	csuuuugaGfGfUfUfUfuuuugaaul.96	84	asUfsuag(Cgn)aaauuUfCfCfuugugsc	384	AUCCUAGGACAUUUUUGGACAC	684
AD-287470.1	gsaacacUfUfUfGfGfcaucacaaal.96	85	asUfsuag(Tgn)gaucacAfAfuftuccusag	385	AGGACAUUUUUUGGAUCACAAAAG	685
AD-287471.1	gsaacacUfUfUfGfGfcaucacaaal.96	86	asUfsuag(Ggn)uucuuUfGfCfuugugsc	386	UUGGAUCACAAAAGCACAUUCU	686
AD-287476.1	csaacaaaAfGfCfAfcacacaaul.96	87	asUfsuag(Agn)uagaaUfCfCfuugugsc	387	UACACAAAAGCACAUUCUCCAC	687
AD-287477.1	ascsaaagGfUfUfUfCfCfcaucacaaul.96	88	asGfsuag(Agn)uagaaUfCfCfuugugsc	388	UACACAAAAGCACAUUCUCCAC	688
AD-287478.1	asasaaagCfUfUfUfUfuccaucaaul.96	89	asUfsuag(Tgn)uagaaUfGfCfuugugsc	389	CAAAAGCACUUCUUCACUGAUG	689
AD-287479.1	gsaacacUfUfUfCfCfcaucacaaul.96	90	asUfsuag(Cgn)uagaaUfGfCfuugugsc	390	AAGCACUUCUCCAUCCUAGAU	690
AD-287491.1	asgsaaaUfUfUfGfGfcaucacaaul.96	91	asUfsuag(Ggn)uagaaUfGfCfuugugsc	391	AGAGAAUCCUAGGACACUCCGUC	691
AD-287492.1	asasaaagUfGfGfUfCfcaucacaaul.96	92	asUfsuag(Agn)uagaaUfGfCfuugugsc	392	AGAAAUCCUAGGACACUCCGUC	692
AD-287517.1	usuuuugaUfCfUfCfCfcaucacaaul.96	93	asUfsuag(Ggn)uagaaUfGfCfuugugsc	393	GAUUCUACCCUACUCCUACU	693
AD-287520.1	ascsuacUfCfCfCfAfuuuuuccal.96	94	usGfsuag(Agn)uagaaUfGfCfuugugsc	394	UUACCUACCCUACUUGUCCAC	694
AD-287521.1	uscsaacUfUfUfUfUfuccaucagal.96	95	usGfsuag(Agn)uagaaUfGfCfuugugsc	395	CCUCAUCCUACUUGUCCAGGA	695
AD-287522.1	csasuuuAfUfUfUfUfUfuccaucagal.96	96	usUfsuag(Ggn)uagaaUfGfCfuugugsc	396	CUCAUCCUACUUGUCCAGCAA	696
AD-287524.1	uscsuacUfUfUfUfUfUfuccaucagal.96	97	asUfsuag(Tgn)uagaaUfGfCfuugugsc	397	CAUCCUACUUGUCCAGCAA	697
AD-287525.1	csaacacUfUfUfUfUfUfuccaucagal.96	98	asUfsuag(Ggn)uagaaUfGfCfuugugsc	398	AUCCUACUUGUCCAGCAA	698
AD-287537.1	uscsuacUfUfUfUfUfUfuccaucagal.96	99	asGfsuag(Cgn)uagaaUfCfCfuugugsc	399	GCTUGUUGGCUUACAGAGGUU	699

10

20

30

40

【表 7 - 4】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標の配列、5'から3'へ	配列番号
AD-287539.1	ggsgctuuCfaCfAfGfagguugacalL96	100	usGfsuacg(Agn)ccucugUfGfAfaagccsasa	400	UUGGCUUUUACACAGAGAGGUCUGACA	700
AD-287540.1	gscsmucAfcAfGfAfagguugacaulL96	101	asUfsguac(Ggn)accucUfGfAfaagccsasa	401	UGGCUUUUACACAGAGAGGUCUGACA	701
AD-287543.1	csascagaGfgUfGfagguugacaulL96	102	usUfscuag(Tgn)gucagaCfUfGfagguugacaulL96	402	UUCACAGAGGUCUGACACACAGAA	702
AD-287546.1	asgsgucUfGfAfUfGfagguugacaulL96	103	usGfsaagU(Tgn)gucagaUfUfGfagguugacaulL96	403	AGAGGUCUGACACACAGAAACUUA	703
AD-287568.1	uscscuaCfcUfCfAfUfGfagguugacaulL96	104	asAfsauu(Ggn)ggaagaGfgUfGfagguugacaulL96	404	AUUCUUAACUUAACUUAACUUAACUUA	704
AD-287591.1	ustuscacaGfAfgGfUfGfagguugacaulL96	105	asUfsgau(Tgn)gagaccUfUfGfagguugacaulL96	405	CUUUGGGAACUUAACUUAACUUAACUUA	705
AD-287610.1	ustuscagaAfaAfCfUfGfagguugacaulL96	106	asUfsgau(Tgn)gagaccUfUfGfagguugacaulL96	406	CUUUGGGAACUUAACUUAACUUAACUUA	706
AD-287615.1	ascsgugUfAfaCfAfaCfUfGfagguugacaulL96	107	asCfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	407	AAACUGGUUACAAACUUAACUUAACUUA	707
AD-287616.1	usgsuauCfaAfAfAfaCfUfGfagguugacaulL96	108	asGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	408	ACUGGUUACAAACUUAACUUAACUUA	708
AD-287627.1	csuscugCfcAfGfUfGfagguugacaulL96	109	asUfsguac(Ggn)accucUfGfAfaagccsasa	409	GUCUCUGGCAAGUUAACUUAACUUA	709
AD-287632.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	110	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	410	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	710
AD-287633.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	111	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	411	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	711
AD-287634.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	112	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	412	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	712
AD-287636.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	113	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	413	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	713
AD-287637.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	114	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	414	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	714
AD-287638.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	115	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	415	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	715
AD-287647.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	116	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	416	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	716
AD-287648.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	117	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	417	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	717
AD-287651.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	118	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	418	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	718
AD-287652.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	119	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	419	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	719
AD-287653.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	120	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	420	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	720
AD-287654.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	121	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	421	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	721
AD-287655.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	122	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	422	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	722
AD-287656.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	123	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	423	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	723
AD-287658.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	124	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	424	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	724
AD-287659.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	125	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	425	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	725
AD-287679.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	126	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	426	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	726
AD-287680.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	127	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	427	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	727
AD-287683.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	128	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	428	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	728
AD-287690.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	129	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	429	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	729
AD-287693.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	130	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	430	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	730
AD-287694.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	131	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	431	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	731
AD-287695.1	ustusuuGfGfAfUfGfagguugacaulL96	132	usGfsaagU(Tgn)gguuuGfUfGfagguugacaulL96	432	UUUUUUGGAAUACUUAACUUAACUUA	732

10

20

30

40

50

【表 7 - 5】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-287696.1	usaseuugGfuUfCfAfcacaaauuL96	133	asCfsauuu(Tgn)uuguguaAfcCfcagauusuu	433	AAUACUGGGUUCACCAAAAUAUC	733
AD-287700.1	csasecaaAfaUfCfcaagcacauuL96	134	asUfsuug(Cgn)uugugauUfuUfugugusasa	434	UUCACCAAAAUAUCCACAGCACAAG	734
AD-287701.1	asasaucAfaGfCfcaagauuuL96	135	asAfsauu(Cgn)uugugCfUfGfauuusuu	435	AAAAUCCAAGCACAAAGAUUAUG	735
AD-287702.1	asasucaAfgCfAfcfaagauuuL96	136	asCfsauu(Tgn)uugugCfuUfugausuu	436	AAAUCCAAGCACAAAGAUUAUGG	736
AD-287703.1	asusecaaGfcAfcfafaagauuuL96	137	asCfsauu(Agn)uucuuGfcUfugausuu	437	AAAUCCAAGCACAAAGAUUAUGG	737
AD-287704.1	useseaagCfaCfAfcfaagauuuL96	138	asCfsauu(Agn)uucuuGfcUfugausuu	438	AUCCAAGCACAAAGAUUAUGG	738
AD-287706.1	asasaagaUfuAfuUfGfcaaguuuL96	139	asAfsauu(Agn)uucuuGfcUfugausuu	439	GCACAAGAUUAUGGCGUUAUUG	739
AD-287707.1	csasagauUfaUfGfGfcaaguuuL96	140	asCfsauu(Cgn)uugugCfaAfcuugusg	440	CACAAGAUUAUGGCGUUAUUG	740
AD-287709.1	asusauugGfcUfUfGfauuugaaL96	141	asUfsuue(Cgn)uucagGfcCfaauusuu	441	AGAUUAUGGCGUUAUUGGAGAC	741
AD-287711.1	gsasecuUfaUfUfGfagagaaL96	142	asAfsuue(Cgn)uucagGfcCfaauusuu	442	AUGGCGUUAUUGGAGACAGAU	742
AD-287724.1	gsusaagaAfgUfCfUfgaugaaL96	143	usCfsauu(Tgn)uucagCfuUfugausuu	443	UCGUAGAAGUCUGAUAGAUGGA	743
AD-287725.1	usasagaGfuCfUfGfauuugaaL96	144	usUfsuue(Cgn)uucagAfcUfugausuu	444	CGUAAGAAGUCUGAUAGAUGGA	744
AD-287726.1	asasegaUfUfGfAfuagaaL96	145	asUfsuue(Cgn)uucagCfaCfuueusg	445	GUAGAAGUCUGAUAGAUGGAU	745
AD-287727.1	asgsaagaCfuGfAfuUfagaaL96	146	usAfsuue(Cgn)uucagAfcUfugausuu	446	UAAGAAGUCUGAUAGAUGGAUA	746
AD-287728.1	asasaguuGfaUfAfcfauuagaaL96	147	asCfsauu(Cgn)uucagUfcAfcuueusuu	447	AGAAGUCUGAUAGAUGGAUAUCU	747
AD-287735.1	asgsaaggAfaUfAfcfauuagaaL96	148	usUfsuue(Cgn)uucagUfcAfcuueusuu	448	AUAGAUGGAUAUCUACCAUAUA	748
AD-287736.1	asusggaUfAfcUfUfcaauuagaaL96	149	usCfsauu(Tgn)uucagUfcUfugausuu	449	AGAUGGAUAUCUACCAUAUAUA	749
AD-287737.1	usgsagaUfUfUfAfcfaauuagaaL96	150	usUfsuue(Cgn)uucagGfuAfcuueusuu	450	GAUGGAUAUCUACCAUAUAUAUA	750
AD-287738.1	gsasauaCfuUfAfcfcaauuagaaL96	151	usUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	451	AUGGAUAUCUACCAUAUAUAUA	751
AD-287739.1	gsasauaUfUfAfcfcaauuagaaL96	152	usUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	452	UGGAUAUCUACCAUAUAUAUAUA	752
AD-287740.1	asasuauUfAfcfcaauuagaaL96	153	asUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	453	GGAAUAUCUACCAUAUAUAUAUA	753
AD-287778.1	ususuuuUfUfGfAfcagaaL96	154	usCfsuue(Cgn)uucagGfcAfcuueusuu	454	AGUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU	754
AD-287793.1	gsasuuuUfAfcfcaauuagaaL96	155	usUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	455	GGAAUAUCUACCAUAUAUAUAUA	755
AD-287795.1	usuuuuuUfUfGfAfcagaaL96	156	usAfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	456	GAUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU	756
AD-287798.1	asasaugUfUfGfAfcagaaL96	157	usCfsauu(Tgn)uucagUfcUfugausuu	457	UUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUUU	757
AD-287800.1	asasegaUfUfGfAfcagaaL96	158	asUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	458	AAUUGUAUGCAGAAUAUUAUAUA	758
AD-287801.1	useseuagGfcAfcfafaauuagaaL96	159	asAfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	459	AAUUGUAUGCAGAAUAUUAUAUA	759
AD-287802.1	csasagaUfUfGfAfcagaaL96	160	asAfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	460	AUCGUAGCAGAAUAUUAUAUAUA	760
AD-287804.1	asusgagAfaUfAfcfauuagaaL96	161	usUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	461	GUUUGCAGAAUAUUAUAUAUAUA	761
AD-287810.1	gsasagucUfUfAfcfauuagaaL96	162	asUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	462	AAGAAGUCUGAUAGAUGGAUAUA	762
AD-287811.1	useseuagAfcUfUfGfauuagaaL96	163	asUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	463	AGUCUGAUAGAUGGAUAUAUAUA	763
AD-287813.1	gsasugaAfaUfAfcfauuagaaL96	164	asUfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	464	UAGAUGGAUAUAUAUAUAUAUAUA	764
AD-287837.1	ascsagaGfuUfUfCfuueuagaaL96	165	asCfsuue(Cgn)uucagUfcUfugausuu	465	CUACAGAAGUUUUUUUUUUUUUU	765

10

20

30

40

50

【表 7-6】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-287839.1	asgsaagufuChufUfucugaaagcunl.96	166	asGfscgun(Cgn)aggaaGfaAfafeucusgsu	466	ACAGAAGUUUUCUUCUGAACGCG	766
AD-287841.1	asasgmuCfuUfCfugaaagcunl.96	167	asGfscgc(Tgn)ucagaaGfaAfafeucuscu	467	AGAAGUUUUCUUCUGAACGCGC	767
AD-287842.1	gsustueuUfCfUfGfaagcgcunl.96	168	asAfsccgc(Cgn)guucagGfaAfgaaacsusu	468	AAGUUUUCUUCUGAACGCGCUC	768
AD-287844.1	uscusuecUfgAfACfGgcgcucunl.96	169	asCfsugag(Ggn)cgccguCfaGfagaaasasa	469	UUUUCUUCUGAACGCGCCUCAGC	769
AD-287854.1	gscsagaUfufUfCfcaumuaagunl.96	170	asCfsucaa(Agn)auugaaUfaUfucugcsasu	470	AUGCAGAUAUUAUAUUUGAAGC	770
AD-287856.1	asasuaunCfaAfUfUfugaaagcunl.96	171	asAfsccgc(Tgn)ucaaaUfGfAfaaunscsu	471	AGAAUUAUCAUUUGAACGACGUG	771
AD-287857.1	usasuueaAfUfUfUfGfaagcgcunl.96	172	asCfsccgc(Ggn)cuueaaAfuUfcauacsusu	472	AAUAUUCAAUUUGAACGAGUGU	772
AD-287893.1	gsasuegaUfgCfAfUfGfaaagaaunl.96	173	usAfsucaa(Tgn)aucaagCfaUfagaacsusu	473	GAGAUGUAUGCAUGAUAAGUA	773
AD-287917.1	csasugcUfgCfAfAfagcunuaunl.96	174	asAfsuaaa(Agn)gcmuugCfaGfcauaggsuu	474	AUCAUGCUGCAAGCUUUUUUU	774
AD-287924.1	asasagcuUfuAfUfUfucacuaunl.96	175	asAfsaaau(Ggn)gugaauAfaAfgcuunsgsc	475	GCAAAGCUUUAUUUCACAUUUUU	775
AD-287934.1	asasuugCfaGfCfAfagugugcunl.96	176	asGfsccaa(Cgn)caucgcUfuCfaaunsgsa	476	UCAAUUUGCAAGCAGGUUUGGC	776
AD-287969.1	asasuugcGfCfAfAfagcunuaunl.96	177	gsAfsuaaa(Tgn)agcuuuGfCfAfgcuunsgsa	477	UCAUUGCUGCAAGCUUUUAUUC	777
AD-287970.1	usgscugCfAfAfGfCfhuuaunl.96	178	asUfsgaaa(Agn)aaagcuUfuGfcaacastus	478	AUUGCUGCAAGCUUUUAUUUCAC	778
AD-287982.1	asasaacAfUfUfGfGfhuugcuacl.96	179	usAfsugcc(Cgn)aaacaaAfuGfhuuunssasa	479	UUA AAAACA UUGU UUGGCACUA	779
AD-288005.1	agssuaaaAfUfAfCfufugcucunl.96	180	asGfsgagc(Agn)caagaaAfuUfauucustug	480	CAAGAUAUAUACCGUCUUCUCCU	780
AD-288006.1	asusuaauUfAfCfUfugcucunl.96	181	asCfsagga(Agn)gacagGfUfaAfuuaunscsu	481	AGAUAUAUACCGUCUUCUCCGU	781
AD-288008.1	usasaauaCfUfGfUfUfucugcunl.96	182	asAfsacag(Ggn)aaacaaGfGfUfaaunssasu	482	AUUAUAUACCGUCUUCUCCGUUU	782
AD-288010.1	uascccgUfCfUfUfUfucugcunl.96	183	usGfsgaaa(Agn)caagaaGfAfCfagunssasu	483	AUUAUACCGUCUUCUCCGUUUUCA	783
AD-288011.1	asccscugCfuUfGfCfugunucuacl.96	184	usUfsgagat(Agn)acagagAfgAfcaagunssasa	484	UUAUACCGUCUUCUCCGUUUUCA	784
AD-288015.1	uscusuecUfgUfUfUfucacaaunl.96	185	usAfsucaa(Tgn)gagaaCfaGfagunssasa	485	UGUCUCCGUUUUCUCAAAGAAUA	785
AD-288046.1	ustustueaUfuUfCfAfugcucuacl.96	186	usUfssaag(Ggn)gcaugaAfaGfcaaaasasc	486	GUUUUCCUUUCAUGCCUUA	786
AD-288049.1	uscusuecUfgGfCfucuaaaal.96	187	usUfsuuaa(Agn)gagagCfUfaAfgagassasa	487	UUUCCUUUCAUGCCUUAUAAAA	787
AD-288050.1	csusuecuUfGfCfUfucuaaunl.96	188	asGfssuuuu(Tgn)aaagagCfaUfagunssasa	488	UCCUUUCAUGCCUUAUAAAAU	788
AD-288076.1	asasaacaUfuGfGfUfugagcuacl.96	189	asUfsgagc(Cgn)caaacAfaUfagunssusu	489	UAAAACAUUGGUUUGGCACUAG	789
AD-288092.1	gsasuaaUfuAfCfCfugcucunl.96	190	asAfsagaa(Ggn)acagcuAfaUfuaunscusu	490	AAGAUUAUAUACCGUCUUCUCCUG	790
AD-288094.1	ustusaccGfCfUfUfucugunuacl.96	191	asAfsagaa(Cgn)aggagAfcAfagunssusu	491	AUUUACCGUCUUCUCCGUUUUC	791
AD-288095.1	csesugucUfuChfUfUfucuaunl.96	192	asUfsgagat(Agn)aaacaaAfaGfcaagssusa	492	UACCGUCUUCUCCGUUUUCUCAA	792
AD-288108.1	gsgsucugUfuUfUfUfucuaagunl.96	193	asCfsuagc(Agn)aggaaAfaCfagacussasa	493	UAGGUCGUUUUUCCUUUCAUGC	793
AD-288109.1	gsgsucugUfuUfUfUfucuaagunl.96	194	asGfscagc(Agn)aaagaaAfaAfcagacssusu	494	AGGUCGUUUUUCCUUUCAUGCC	794
AD-288173.1	ustusauuaAfcAfCfAfaggagunl.96	195	asAfsaccu(Tgn)cccuugGfuAfaaunsgsu	495	ACUUAUUAACAGAGGAAGGUUU	795
AD-288174.1	ustasuaaCfAfCfAfaggagunuacl.96	196	usAfsaac(Cgn)ucccuUfgUfuaunssag	496	CUUUAUUUAACAGAGGAAGGUUUA	796
AD-288176.1	ustusaaacAfgGfGfAfaggunuacl.96	197	usCfsuaaa(Agn)ccuueCfuGfhuuaasasa	497	AUUUACACAGGAAGGUUUUAAGA	797
AD-288177.1	asasaaacAfgAfAfGfGfuaagunl.96	198	asGfssuaa(Agn)ccuueCfuGfhuuaasasa	498	UUUACACAGGAAGGUUUUAAGACU	798

【表 7 - 7】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-288180.1	gsagsaagGfuUfUfAfagacugnucaL96	199	usGfsaaca(Ggn)ucuuuaAfcCfuucccsusg	499	CAGGGAAGGUUUUAGACUGUUUCA	799
AD-288181.1	gsagsaagUfuUfAfAfagacugnucaL96	200	usUfsgaac(Agn)gucuaAfaCfuucccsu	500	AGGGAAGGUUUUAGACUGUUUCA	800
AD-288183.1	asgsaguuuAfaGfAfCfugnucaagual96	201	usAfscuuu(Agn)uagacUfuAfaaccususc	501	GAAGUUUUAGACUGUUUCAAGUA	801
AD-288184.1	usuuuagAfcUfGfUfucuaagual96	202	usAfscuuu(Agn)uagacUfuAfaaccususc	502	GGUUUAGACUGUUUCAAGUAGCA	802
AD-288186.1	usasagacUfgUfUfCfagugacauL96	203	asAfsgucU(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	503	UUUAAGACUGUUUCAAGUAGCAUU	803
AD-288187.1	gsasagucUfCfAfAfGfagacauuL96	204	usGfsaguu(Ggn)ucuuuAfaCfuucccsu	504	AAGACUGUUUCAAGUAGCAUUUCA	804
AD-288188.1	ascsaguuCfaAfGfUfagacauuL96	205	usUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	505	AGACUGUUUCAAGUAGCAUUUCA	805
AD-288189.1	csusagucAfaGfUfAfagacauuL96	206	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	506	GACUGUUUCAAGUAGCAUUUCAUU	806
AD-288190.1	gsusacaaGfuUfUfAfagacauuL96	207	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	507	CUGUUUCAAGUAGCAUUUCAUU	807
AD-288192.1	csasagaaGfcAfUfUfCfagacauuL96	208	usAfscagaa(Tgn)uagacUfuAfaaccususc	508	UUCAAAGUAGCAUUUCAUUUCAUU	808
AD-288193.1	usasagaaUfCfAfAfCfagacauuL96	209	usUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	509	AGUAGCAUUUCAAGUAGCAUUUCA	809
AD-288194.1	asgscauuCfcAfAfUfCfagacauuL96	210	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	510	GUAGCAUUUCAAGUAGCAUUUCA	810
AD-288229.1	asascuuUfuUfAfAfCfagacauuL96	211	asUfscuuu(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	511	AGAACUUUUUACAGUAGCAUUUCA	811
AD-288230.1	asascagGfGfAfAfCfagacauuL96	212	asUfscuuu(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	512	UUUACACAGGGAAGGUUUUAAAGC	812
AD-288231.1	asgsagaaGfGfUfUfUfCfagacauuL96	213	asUfscuuu(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	513	UACACAGGGAAGGUUUUAAAGCUG	813
AD-288232.1	asgsagaaGfGfUfUfUfCfagacauuL96	214	asUfscuuu(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	514	ACAGGGAAGGUUUUAAAGCUGUUUC	814
AD-288233.1	gsasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	215	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	515	GGGAAGGUUUUAAAGCUGUUUCAAG	815
AD-288235.1	asasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	216	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	516	AAGUUUUUAGACUGUUUCAAGUAG	816
AD-288236.1	asgsagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	217	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	517	UUUAGACUGUUUCAAGUAGCAUUUC	817
AD-288237.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	218	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	518	UAGACUGUUUCAAGUAGCAUUUC	818
AD-288238.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	219	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	519	ACUGUUUCAAGUAGCAUUUCAUUC	819
AD-288290.1	gsasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	220	usUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	520	UGUUUCAAGUAGCAUUUCAUUCUG	820
AD-288316.1	asgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	221	usUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	521	AGGACGUUUUUCUUCUUCUUCUUC	821
AD-288318.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	222	usUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	522	UCAGCAUUUUUAAAGUUUUCCCUA	822
AD-288319.1	gsasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	223	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	523	UUUGAAAGUUUUCCCUUAGCCUUCU	823
AD-288324.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	224	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	524	UUUGAAAGUUUUCCCUUAGCCUUCU	824
AD-288337.1	asgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	225	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	525	AUUUCCCUUAGCCUUCUUCUUCUUC	825
AD-288338.1	gsasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	226	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	526	ACAAGAACACAGAAUAGAGUGCAC	826
AD-288339.1	asgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	227	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	527	AAGAACACAGAAUAGAGUGCACAG	827
AD-288340.1	gsasagaaUfuUfAfAfCfagacauuL96	228	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	528	AGAACACAGAAUAGAGUGCACAGC	828
AD-288341.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	229	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	529	CACAGAAUAGAGUGCACAGCUAAG	829
AD-288366.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	230	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	530	CAGAAUAGAGUGCACAGCUAAGAG	830
AD-288367.1	usgsaagUfuUfAfAfCfagacauuL96	231	asUfsgaac(Agn)ucuuuAfaCfuucccsu	531	GAUUCAGCAUUUUGAAAGAUUUC	831

10

20

30

40

50

【表 7-8】

[illegible]

【表 7 - 9】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	mRNA標の配列、5'から3'へ	配列番号
AD-288613.1	ustscuaaUfaUfCfCfuuugucccauL96	265	asUfsggaU(Cgn)caaggaUfaUfaugaasag	565	CUUUCUAUAUACUCCUUGGUUCCAC	865
AD-288620.1	gsasuguuUfaGfAfCfaunuuuagguL96	266	asCfscuaa(Agn)auugueUfaUfaacausc	566	GAGAUUUUAGACAAUUAUAGGC	866
AD-288624.1	gsascuaAfaAfaUfaaagcuauL96	267	asUfsuag(CTgn)uuauuUfuUfagccsusa	567	UAGGCUCAAAAAUUAAAGCUAAC	867
AD-288625.1	csuscaaaAfaUfUfAfaagcuacauL96	268	asUfsguuU(Cgn)uuuuuUfuUfuuagcsc	568	GGUCUAAAAAUUAAAGCUAACAC	868
AD-288626.1	csasaaaaUfuAfaAfaacuaacauL96	269	asUfsguag(CTgn)agcuuAfaUfuuuagcag	569	CUCAAAAAUUAAAGCUAACACAC	869
AD-288628.1	asasauuaAfaGfCfUfaacacaggaL96	270	usUfscuag(CTgn)uuuagCfUfauuuusuu	570	AAAUUAACAGCUAACACAGGAA	870
AD-288634.1	usasacacAfaGfAfAfaagracuL96	271	asCfscuu(Cgn)uuuuuCfuGfuuuuagc	571	GCUAACACAGGAAAGGAAACUGU	871
AD-288637.1	gsasaaaaGfgAfaCfugacugguL96	272	asGfscag(CTgn)acaguCfcUfuuuuagc	572	CAGGAAAAGGAACUGUACUUGGU	872
AD-288639.1	asasaaggAfaCfUfGfuaucugcuL96	273	asUfsgac(CTgn)uuuagUfuCfuuuuuagc	573	GGAAAGGAACUGUACUUGGUU	873
AD-288642.1	gsasacuGfuAfcUfGfuaauuacL96	274	usGfuaau(Agn)uuuagUfuCfuuuuuagc	574	AAGGAACUGUACUUGGUUUAUA	874
AD-288696.1	csasggaaAfaGfGfAfaagcuacguL96	275	asCfsguu(Cgn)aguuuUfuUfuuuagc	575	CACAGGAAAGGAACUGUACUGG	875
AD-288698.1	asgsaacUfgUfAfCfugcuauuL96	276	asUfsauu(Cgn)ccaguCfaGfuuuuagc	576	AAAGGAACUGUACUUGGUUUAUA	876
AD-288912.1	csuscccaCfuAfcAfaacagcuauL96	277	usUfsguc(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	577	GACUCCACUACUACUAGGACUAA	877
AD-288913.1	uscscacUfaCfAfUfcaagcuauL96	278	asUfsuag(Cgn)uuuagUfaGfuuuagc	578	ACUCCACUACUACUAGGACUAAU	878
AD-288914.1	csasacuAfaUfCfAfaagcuauL96	279	asGfuaau(Cgn)uuuagUfuUfuuuagc	579	UCCACUACUACUAGGACUAAUUA	879
AD-288915.1	csasacuAfaUfCfAfaagcuauL96	280	asUfsuag(Cgn)uuuagUfuUfuuuagc	580	CCCACUACUACUAGGACUAAUUA	880
AD-288916.1	csasacuAfaUfCfAfaagcuauL96	281	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	581	CACUACUACUAGGACUAAUUAUA	881
AD-288917.1	usascacAfaGfAfCfuaucuuL96	282	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	582	ACUACUACUAGGACUAAUUAUA	882
AD-288918.1	ascsaucaAfaUfCfUfuaucuuL96	283	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	583	CUACUACUAGGACUAAUUAUAUA	883
AD-288933.1	gsusguuuUfuCfAfCfuaucuuL96	284	usUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	584	GUGUUUUUUACUAGGACUAAUUA	884
AD-288937.1	uscscacuGfuAfuUfUfuaagcuL96	285	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	585	UUUACUAGUAAUUAAGAAUGCU	885
AD-288938.1	csascacUfaUfUfAfaagcuL96	286	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	586	UUCACUAGUAAUUAAGAAUGCU	886
AD-288941.1	gsusauuaUfaGfAfAfuuuuagcuL96	287	usUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	587	AUGUAAUUAAGAAUGCUUUUGCA	887
AD-288943.1	usasagaAfuGfCfUfuuuagcuL96	288	usUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	588	AUUUAGAAUGCUUUUGCAUGGA	888
AD-288945.1	asgsaacGfuUfUfUfcaagcuL96	289	usUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	589	AUAGAAUGCUUUUGCAUGGACUA	889
AD-288946.1	gsasauuUfuUfUfGfuaucuuL96	290	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	590	UAGAAUGCUUUUGCAUGGACUAU	890
AD-288947.1	usgsuuuUfgCfAfUfGfuaucuuL96	291	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	591	AUGCUUUUGCAUGGACUAUUAUA	891
AD-288948.1	csusuuuGfAfUfGfuaucuuL96	292	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	592	UGCUUUUGCAUGGACUAUUAUA	892
AD-288950.1	usuuuGfAfUfUfuaucuuL96	293	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	593	UUUUGCAUGGACUAUUAUAUA	893
AD-288951.1	usgsaacGfAfUfUfuaucuuL96	294	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	594	UUUUGCAUGGACUAUUAUAUA	894
AD-288952.1	gsasauuAfaUfUfUfuaucuuL96	295	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	595	UUUGCAUGGACUAUUAUAUAUA	895
AD-288956.1	gsasacuUfcCfUfCfuuuuuL96	296	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	596	AUGGACUAUUAUAUAUAUAUA	896
AD-288957.1	gsasacuUfcCfUfCfuuuuuL96	297	asUfsuag(CTgn)uuuagUfuUfuuuagc	597	UGGACUAUUAUAUAUAUAUAUA	897

10

20

30

40

50

【表 8 - 1】

表8.HSD17B13 ELF7 GNA7の修飾されていない配列*

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-286958.1	AGUACCUCCUCCUAGGACUA	902	5-25	UAGUCCTAGGAGGAGGUAUCUGU	1202	3-25
AD-287001.1	UCCUUCUGCUUCUGAUCACCA	903	85-105	UGGUGATCAGAAAGCAGAAAGGAUU	1203	83-105
AD-287012.1	CAUCAUCUACUCCUACUUGGA	904	104-124	UCCAAGTAGGAGUAAGUAGUGGU	1204	102-124
AD-287015.1	CUACUCCUACUUGGAGUCGUU	906	110-130	AACGACTCCAAGUAGGAGUAAGAU	1206	108-130
AD-287017.1	GUACCUCCUCCUAGGACUAU	907	6-26	AUAGUCCUAGGGAGGAGGUACUG	1207	4-26
AD-287026.1	ACACAAGGACUGAAACCAGAAU	908	25-45	AUUCUGGUUCAGUCCUUGUGUAG	1208	23-45
AD-287059.1	ACCAUCAUCUACUCCUACUUU	909	102-122	AAAGUAGGAGUAAGUAUGGUGA	1209	100-122
AD-287060.1	CCAUCAUCUACUCCUACUUGU	910	103-123	ACAAAGUAGGAGUAAGUAUGGUG	1210	101-123
AD-287061.1	AUCAUCUACUCCUACUUGGAU	911	105-125	AUCCAAGUAGGAGUAAGUAUGG	1211	103-125
AD-287062.1	CAUCUACUCCUACUUGGAGUU	912	107-127	AACUCCAAGUAGGAGUAAGUAU	1212	105-127
AD-287064.1	UACUCCUACUUGGAGUCGUUU	913	111-131	AAACGACUCCAAGUAGGAGUAGA	1213	109-131
AD-287065.1	ACUCCUACUUGGAGUCGUUGU	914	112-132	ACAACGACUCCAAGUAGGAGUAG	1214	110-132
AD-287126.1	UCCUACUUGGAGUCGUUGGUU	916	114-134	AACCAACGACUCCAAGUAGGAGU	1216	112-134
AD-287203.1	GCAGCUGAGUGCCGAAACUA	920	294-314	UAGUUUUCGGCACUCAGCUGCAG	1220	292-314
AD-287227.1	CUGUGGGAUAUUAAUAGCGU	923	258-278	ACGCUUAUUAAUACCCACAGAA	1223	256-278
AD-287246.1	CUGCAGCUGAGUGCCGAAAU	924	292-312	AUUUUCGGCACUCAGCUGCAGUU	1224	290-312
AD-287247.1	CAGCUGAGUGCCGAAACUAU	925	295-315	AUAGUUUCGGCACUCAGCUGCA	1225	293-315
AD-287248.1	AGCUGAGUGCCGAAACUAU	926	296-316	ACUAGUUUUCGGCACUCAGCUGC	1226	294-316
AD-287249.1	GCUGAGUGCCGAAACUAAGGU	927	297-317	ACCUAGTUUUUCGGCACUCAGCUG	1227	295-317
AD-287250.1	CUGAGUGCCGAAACUAAGGCU	928	298-318	AGCCUAGUUUUCGGCACUCAGCU	1228	296-318
AD-287251.1	GAGUGCCGAAACUAAGGCGUU	929	300-320	AACGCCTAGUUUUCGGCACUCAG	1229	298-320
AD-287252.1	GUGCCGAAACUAAGGCGUCAU	930	302-322	AUGACGCCUAGUUUUCGGCACUC	1230	300-322
AD-287253.1	GCCGAAACUAAGGCGUCACUU	931	304-324	AAGUGACGCCUAGUUUUCGGCAC	1231	302-324
AD-287254.1	CCGAAACUAAGGCGUCACUGU	932	305-325	ACAGUGACGCCUAGUUUUCGGCA	1232	303-325
AD-287258.1	ACUAGGCGUCACUGCGCAUGU	933	311-331	ACAUGCGCAGUACGCCUAGUUU	1233	309-331
AD-287288.1	CUAUCGCUUCUAAUUCAGGU	935	365-385	ACCUAGATUUAGAGAGCGAUAGAU	1235	363-385
AD-287290.1	UCGCUCUCUAAUUCAGGUGAA	937	368-388	UUCACCTGAUUUAGAGAGCGAUA	1237	366-388
AD-287293.1	UCUCUAAUUCAGGUGAAGAAA	938	372-392	UUUCUUCACCCUGAUUUAGAGAGC	1238	370-392
AD-287316.1	GUGGUGAAUAUUGCUGGGACA	939	414-434	UGUCCCAGCAUUUUCACCCACGA	1239	412-434
AD-287320.1	GAUAUUGCUGGGACAGUAUA	940	419-439	UAUACUGUCCCAGCAUUUUCAC	1240	417-439
AD-287321.1	AAUAUUGCUGGGACAGUAUAU	941	420-440	AUAUACTGUCCCAGCAUUUUCUA	1241	418-440

10

20

30

40

50

【表 8 - 2】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-287324.1	GGGACAGUAUUAUCCAGCCGAU	942	429-449	AUCGGCTGGAAUAUACUGUCCAG	1242	427-449
AD-287325.1	GACAGUAUAUCCAGCCGAUCU	943	431-451	AGAUGGCUUGGAUAUACUGUCCC	1243	429-451
AD-287326.1	ACAGUAUAUCCAGCCGAUCUU	944	432-452	AAGAUCGGCUGGAUAUACUGUCC	1244	430-452
AD-287327.1	AGUAUAUCCAGCCGAUCUUCU	945	434-454	AGAAGATCGGCGGGAUAUACUGU	1245	432-454
AD-287344.1	AUCUAUCGCUCUCUAAAUCAU	946	363-383	AUGAUUTAGAGAGCGGAUAGAUCU	1246	361-383
AD-287346.1	UAUCGCUCUCUAAAUACAGGUU	947	366-386	AACCUAGUUUAGAGAGCGGAUAGA	1247	364-386
AD-287347.1	CGCUCUCUAAAUACAGGGAU	948	369-389	AUUCACCUAGUUUAGAGAGCGGAU	1248	367-389
AD-287366.1	CGUGGUGAAUAUUGCUGGGAU	949	413-433	AUCCAGCAUAUAUUCACCCAGAU	1249	411-433
AD-287367.1	UGGUGAAUAUUGCUGGGAU	950	415-435	AUGUCCAGCAUAUAUUCACCCAG	1250	413-435
AD-287370.1	AUGCUGGGACAGUAUAUCCAU	951	424-444	AUGGAUAUACUGUCCAGCAUUA	1251	422-444
AD-287371.1	UGCUGGGACAGUAUAUCCAGU	952	425-445	ACUGGATAUAUACUGUCCAGCAU	1252	423-445
AD-287372.1	GCUGGGACAGUAUAUCCAGCU	953	426-446	AGCUGGAUAUACUGUCCAGCAU	1253	424-446
AD-287373.1	CUGGGACAGUAUAUCCAGCCU	954	427-447	AGCUGGAUAUAUACUGUCCAGCA	1254	425-447
AD-287374.1	GGACAGUAUAUCCAGCCGAU	955	430-450	AUUGGCUUGGAUAUACUGUCCCA	1255	428-450
AD-287375.1	CAGUAUAUCCAGCCGAUCUUU	956	433-453	AAAGUCCGGCUGGAUAUACUGUC	1256	431-453
AD-287391.1	CCAGGAUAUAGAGAUUAACCA	957	460-480	UGGUAATCUCUUCUACUCCUUGUG	1257	458-480
AD-287406.1	UUUGAGGUAACAACCUAGGA	959	486-506	UCCUAGGAUGUUGACCCUCAAUG	1259	484-506
AD-287407.1	UGAGGUAACAACCUAGGACA	960	488-508	UGUCCUAGGAUGUUGACCCUCAA	1260	486-508
AD-287408.1	GAGGUCAACAUCUAGGACAU	961	489-509	AUGUCCTAGGAUGUUGACCCUCAA	1261	487-509
AD-287411.1	GUCAACAUCUAGGACAUUUU	963	492-512	AAAAUGTCCUAGGAUGUUGACCU	1263	490-512
AD-287413.1	ACAUCCUAGGACAUUUUUGGA	964	496-516	UCCAAAAAUGUCCUAGGAUGUUG	1264	494-516
AD-287414.1	CAUCCUAGGACAUUUUUGGAU	965	497-517	AUCCAAAAAUGUCCUAGGAUGUU	1265	495-517
AD-287418.1	AGGACAUUUUUGGAUCACAAA	967	503-523	UUUGGAUCCAAAAAUGUCCUAG	1267	501-523
AD-287419.1	GGACAUUUUUGGAUCACAAAA	968	504-524	UUUUGGAUCCAAAAAUGUCCUA	1268	502-524
AD-287421.1	UUUUUGGAUCACAAAAAGCACU	969	509-529	AGUGCUTUUUGGAUCCAAAAAUG	1269	507-529
AD-287424.1	UGGAUCACAAAAAGCACUUCUU	970	513-533	AAGAAGTGCUUUUUGGAUCCAAA	1270	511-533
AD-287427.1	CAAAAGCACUUCUCCAUCCGA	971	520-540	UCCGAUGGAAGAAGUCUUUUUGUG	1271	518-540
AD-287428.1	AAAAGCACUUCUCCAUCCGAU	972	521-541	AUCGAUGGAAGAAGUCUUUUUGUG	1272	519-541
AD-287453.1	ACCAAGGAUGAAGAGAUUACU	976	459-479	AGUAAUCUCUUCUACUCCUUGGUGC	1276	457-479
AD-287462.1	AGACAUUUGAGGUAACAACU	977	481-501	AGAUGUTGACCUCAAAUAGUCUUG	1277	479-501
AD-287463.1	CAUUUGAGGUAACAACUCCAU	978	484-504	AUAGGATGUUGACCUCAAAUAGUC	1278	482-504
AD-287464.1	AUUUGAGGUAACAACUCCUAGU	979	485-505	ACUAGGAUGUUGACCUCAAAUAGU	1279	483-505
AD-287465.1	UUUGAGGUAACAACUCCUAGGAU	980	487-507	AUCCUAGGAUGUUGACCUCAAAU	1280	485-507

10

20

30

40

50

【表 8 - 3】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-287466.1	CAACAUCUAGGACAUUUUUG	981	494-514	CAAAAATGUCCUAGGAUUGGAC	1281	492-514
AD-287467.1	AACAUCUAGGACAUUUUUG	982	495-515	ACAAAAUUGUCCUAGGAUUGA	1282	493-515
AD-287468.1	AUCCUAGGACAUUUUUGGAU	983	498-518	AUCCAAAAUUGUCCUAGGAU	1283	496-518
AD-287469.1	CCUAGGACAUUUUUGGAU	984	500-520	AUGUCCAAAAUUGUCCUAGGAU	1284	498-520
AD-287470.1	GACAUUUUGGACAUCAAAAU	985	505-525	AUUUGTGAUCCAAAAUUGUCCU	1285	503-525
AD-287474.1	GGAUCACAAAAGCACUUCUU	986	514-534	AAAGAAGUUGUUUUUGAUCCAA	1286	512-534
AD-287476.1	CACAAAAGCACUUCUCCAU	987	518-538	AAUGGAAGAAGUUCUUUUGAU	1287	516-538
AD-287477.1	ACAAAAGCACUUCUCCAU	988	519-539	AGAUGGAAGAAGUUCUUUUGA	1288	517-539
AD-287478.1	AAAGCACUUCUCCAUCCAU	989	522-542	AAUCGATGGAAGAAGUUCUUUG	1289	520-542
AD-287479.1	GCACUUCUCCAUCCAU	990	525-545	AAUCAUCGAUGGAAGAAGUUCU	1290	523-545
AD-287491.1	AGAAAUCAUGGCCACAUCCGU	991	549-569	AACGAUGUGGCCAUUUCU	1291	547-569
AD-287492.1	AAAUCAUGGCCACAUCCGU	992	551-571	AUACGAGUGUGGCCAUUUCU	1292	549-571
AD-287517.1	UCCUUAUCCUACUCCAUU	993	601-621	AAUUGGGAUGAGGUAAGGAU	1293	599-621
AD-287520.1	ACCUCAUCCCAUUGUCCCA	994	607-627	UGGAACAUAUUGGAUAGGUAA	1294	605-627
AD-287521.1	UCAUCCCAUUGUCCAGCA	995	610-630	UGCUGGAACAUAUUGGAUAGG	1295	608-630
AD-287524.1	UCCCAUUAUUGUCCAGCAAU	997	613-633	AUUUGTGGAACAUAUUGGAU	1297	611-633
AD-287525.1	CCCAUAUUGUCCAGCAAU	998	614-634	AAUUGCUGGAACAUAUUGGAU	1298	612-634
AD-287537.1	UGUUGGCUUUCACAGAGGCU	999	641-661	AGACCUUCUGGAAGCCACAGC	1299	639-661
AD-287539.1	GGCUUUCACAGAGGUCUGACA	1000	645-665	UGUCAGACCUUCUGUAAAGCAA	1300	643-665
AD-287543.1	CACAGAGGUCUGACAUAGAA	1002	651-671	UUCUGATGUCAGACCUUCUGAA	1302	649-671
AD-287546.1	AGGUCUGACAUAGAAUUA	1003	656-676	UGAAGUTCUGAUGUCAGACCU	1303	654-676
AD-287568.1	UCCUUAUCCCAUCCCAU	1004	602-622	AAUAUGGGAUGAGGUAAGGAU	1304	600-622
AD-287591.1	UUCACAGAGGUCUGACAU	1005	649-669	AUGAUGTCAGACCUUCUGAAAG	1305	647-669
AD-287610.1	UUGGGAUAAACUGGUAUCAA	1006	681-701	UUUGAUACCAAGUUUUUCCCAAGG	1306	679-701
AD-287616.1	UGGUAUCAAACCUCAUGUCU	1008	692-712	AGACAUGAGGUUUUGAUACCAU	1308	690-712
AD-287627.1	CUCUGCCAGUUUUUGGAU	1009	711-731	AUUCACAAAACUUGGCAGAGAC	1309	709-731
AD-287632.1	UUUUUGGAAUACUGGGUUA	1010	721-741	UGAACCCAGUAUUCACAAAAACU	1310	719-741
AD-287636.1	UGAAUACUGGGUUCACCAAAA	1013	727-747	UUUUGGTGAACCCAGUAUUCACA	1313	725-747
AD-287637.1	GAAUACUGGGUUCACCAAAA	1014	728-748	UUUUUGGUAACCCAGUAUUCAC	1314	726-748
AD-287647.1	AAAAAUCCAAGCACAGAUUA	1016	744-764	UAAUCUTGUGCUUGGAUUUUGG	1316	742-764
AD-287648.1	AAAAUCCAAGCACAGAUUA	1017	745-765	AUAAUCTUGUCUUGGAUUUUG	1317	743-765
AD-287654.1	AAGAUUAUGGCCUUAUUGGA	1021	758-778	UCCAAUACAGGCCCAUAAUCUUG	1321	756-778
AD-287655.1	GAUUAUGGCCUUAUUGGAGA	1022	760-780	UCUCCAAUACAGGCCCAUAAUCU	1322	758-780

10

20

30

40

50

【表 8 - 4】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-287659.1	GCCUGUAUUGGAGACAGAUGA	1025	767-787	UCAUCUGUCUCCAAUACAGGCCA	1325	765-787
AD-287679.1	CUGGUAUCAAAACCCUACUGUU	1026	691-711	AACAUGAGGUUUUUGAUACCAU	1326	689-711
AD-287680.1	GGUAUCAAAACCCUACUGUCUU	1027	693-713	AAGACATGAGGUUUUUGAUACCA	1327	691-713
AD-287683.1	UCAAAACCCUACUGUCUCUGCU	1028	697-717	AGCAGAGACUAGAGGUUUUUGAU	1328	695-717
AD-287690.1	CCCAGUUUUUGUGAAUACUGU	1029	716-736	ACAGUATUCACAAAACUUGGCCA	1329	714-736
AD-287693.1	UUUUGUGAAUACUGGCUUACU	1030	722-742	AGUAAACCCAGAUUUUUCACAAAAC	1330	720-742
AD-287694.1	UUUGUGAAUACUGGCUUACU	1031	723-743	AGUGAACCCAGAUUUUUCACAAAAC	1331	721-743
AD-287695.1	AUACUGGGUUCACCAAAAUAU	1032	730-750	AAUUUTGGUGAACCCAGUAUUC	1332	728-750
AD-287696.1	UACUGGGUUCACCAAAAUAU	1033	731-751	AGAUUUTGGUGAACCCAGUAUUC	1333	729-751
AD-287700.1	CACCAAAAUAUCCAAAGCACA	1034	740-760	AUUGUGCUUGGAUUUUUGGUGAA	1334	738-760
AD-287701.1	AAAUCCAAAGCACAAAGAUUAU	1035	746-766	AAUAAUCUUGUGCUUGGAUUUU	1335	744-766
AD-287702.1	AAUCCAAAGCACAAAGAUUAU	1036	747-767	ACAAATCUUGUGCUUGGAUUUU	1336	745-767
AD-287703.1	AUCCAAAGCACAAAGAUUAU	1037	748-768	ACCAUAAUCUUGUGCUUGGAUUU	1337	746-768
AD-287704.1	UCCAAAGCACAAAGAUUAU	1038	749-769	AGCCAAUAAUCUUGUGCUUGGAU	1338	747-769
AD-287706.1	ACAAAGAUUAUGGCCUGUAUU	1039	756-776	AAUACAGGCCAAUAAUCUUGGC	1339	754-776
AD-287707.1	CAAGAUUAUGGCCUGUAUU	1040	757-777	ACAAUACAGGCCAAUAAUCUUGG	1340	755-777
AD-287709.1	AUUUUGGCCUGUAUUGGAGAU	1041	761-781	AUCUCCAAUACAGGCCAAUAAUCU	1341	759-781
AD-287711.1	GGCCUGUAUUGGAGACAGAUU	1042	766-786	AAUCUGTCUCCAAUACAGGCCAU	1342	764-786
AD-287724.1	GUAAAGAGUCUGUAUAGAU	1043	792-812	UCCAUCTCUCAGACUUCUACGA	1343	790-812
AD-287726.1	AAGAAAGUCUGUAUAGAU	1045	794-814	AUCCATCUAUCAGACUUCUAC	1345	792-814
AD-287727.1	AGAAAGUCUGUAUAGAU	1046	795-815	UAUCCAUUAUCAGACUUCUUA	1346	793-815
AD-287735.1	AGAUUGGAUACUUAACCAUAA	1048	806-826	UUUUGGUAAGUAUUCUUAU	1348	804-826
AD-287736.1	AUGGAUACUUAACCAUAA	1049	808-828	UCUUAUTGGUAAGUAUUCUUAU	1349	806-828
AD-287737.1	UGGAUACUUAACCAUAA	1050	809-829	UUCUUAUUGGUAAGUAUUCUUAU	1350	807-829
AD-287738.1	GGAAUACUUAACCAUAA	1051	810-830	UUUCUUAUUGGUAAGUAUUCUUAU	1351	808-830
AD-287739.1	GAAUACUUAACCAUAA	1052	811-831	UUUUCUUAUUGGUAAGUAUUCUUAU	1352	809-831
AD-287740.1	AAUACUUAACCAUAA	1053	812-832	AUUUUCTUUAUUGGUAAGUAUUCUUAU	1353	810-832
AD-287778.1	UUUCUUCUGAACCGCCUCA	1054	879-899	UGAGGCGGCUUACGGAAGAAU	1354	877-899
AD-287798.1	AAUUCGUAUGCAGAAUUAU	1057	908-928	UGAAUATUCUGCAUACGAAUUAU	1357	906-928
AD-287800.1	AUCGUAUGCAGAAUUAU	1058	910-930	AUUGAATAUUCUGCAUACGAAUUAU	1358	908-930
AD-287801.1	UCGUAUGCAGAAUUAU	1059	911-931	AAUUGAAUUAUUCUGCAUACGAAUUAU	1359	909-931
AD-287802.1	CGUAUGCAGAAUUAU	1060	912-932	AAUUGAAUUAUUCUGCAUACGAAUUAU	1360	910-932
AD-287804.1	AUGCAGAAUUAUUAU	1061	915-935	UUCAAATUGAAUUAUUCUGCAUUAU	1361	913-935

10

20

30

40

50

【表 8 - 5】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-287810.1	GAAGUCUGAUAAGAUGGAUAU	1062	796-816	AUAUCCAUUCUAUCAGACUUCUU	1362	794-816
AD-287811.1	UCUGAUAAGAUGGAUAACUUAU	1063	800-820	AUAAAGUAUCCAUUCUAUCAGACU	1363	798-820
AD-287813.1	GAUGGAUAACUUAACCAUAUAU	1064	807-827	AUUAUUGGUAAGUAUUCCAUCUA	1364	805-827
AD-287837.1	ACAGAAGUUUCUUCUGAACU	1065	872-892	AGUUCAGGAAGAAACUUCUGUAG	1365	870-892
AD-287839.1	AGAAAGUUUCUUCUGAACGCU	1066	874-894	AGCGUUCAGGAAGAAACUUCUGU	1366	872-894
AD-287841.1	AAGUUUCUUCUGAACGCGCU	1067	876-896	AGCGCTUCAGGAAGAAACUUCU	1367	874-896
AD-287842.1	GUUUCUUCUGAACGCGCCUU	1068	878-898	AAGCGCGUUCAGGAAGAAACU	1368	876-898
AD-287844.1	UCUUCUGAACGCGCCUCAGU	1069	881-901	ACUGAGCGCGUUCAGGAAGAA	1369	879-901
AD-287854.1	GCAGAAUAUCAAUUGAAGU	1070	917-937	ACUUCAAAUUGAAUAUUCGCAU	1370	915-937
AD-287856.1	AUAUAUAUAUUGAAGCAGUU	1071	921-941	AACUGCTUCAAUUGAAUAUUCU	1371	919-941
AD-287893.1	GAUGUAUGCAUGAUAAUGAUA	1073	989-1009	UAUCAUTAUCAUGCAUACAUCUC	1373	987-1009
AD-287917.1	CAAGUCUGCAAAGCUUUUAUUU	1074	1025-1045	AAUAAAGCUUUUGCAGCAUUGAU	1374	1023-1045
AD-287924.1	AAAGCUUAUUAUACAUAUUU	1075	1034-1054	AAAAAUGUGAAUAAAGCUUUGC	1375	1032-1054
AD-287934.1	AUUUGAAGCAGUGGUGGCU	1076	928-948	AGCCAAACCAGUUCUCAAUUGA	1376	926-948
AD-287969.1	AUUGCUGCAAAGCUUUUAUUC	1077	1026-1046	GAAUAAAGCUUUUGCAGCAUUGA	1377	1024-1046
AD-287970.1	UGCUGCAAAGCUUUUAUUCAU	1078	1028-1048	UGAAATAAAGCUUUUGCAGCAU	1378	1026-1048
AD-288005.1	AGAUUAUUAUACUGUUCUUCU	1080	1111-1131	AGGAAGACAGGUAAUUAUUCUUG	1380	1109-1131
AD-288006.1	AUAUAUUAUACUGUUCUUCU	1081	1113-1133	ACAGGAAGACAGGUAAUUAUUCU	1381	1111-1133
AD-288008.1	UAUAUACUGUUCUUCUUCU	1082	1115-1135	AAACAGGAAGACAGGUAAUUAU	1382	1113-1135
AD-288010.1	UACUGUUCUUCUUCUUCUCA	1083	1119-1139	UGAGAAACAGGAAGACAGGUAAU	1383	1117-1139
AD-288011.1	ACCUGUUCUUCUUCUUCUCA	1084	1120-1140	UUGAGAAACAGGAAGACAGGUAA	1384	1118-1140
AD-288015.1	UCUUCUGUUUCUCAAGAAUA	1085	1125-1145	UAUUCUTGAGAAACAGGAAGACA	1385	1123-1145
AD-288046.1	UUUCCUUUCUAGCCUUCUUA	1086	1171-1191	UUAAGAGGCAUGAAAGGAAAC	1386	1169-1191
AD-288049.1	UCCUUUCAUGCCUUCUUA	1087	1174-1194	UUUUUAAGAGGCAUGAAAGGAA	1387	1172-1194
AD-288050.1	CUUUCUUGCCUUCUUA	1088	1176-1196	AGUUUUUAAGAGGCAUGAAAGGA	1388	1174-1196
AD-288076.1	AAACAUAUUGGUUUGGCAUAU	1089	1073-1093	AUAGUGCCAAACCAUUGUUUA	1389	1071-1093
AD-288092.1	GAUUAUAUACUGUUCUUCU	1090	1112-1132	AAGGAAGACAGGUAAUUAUUCU	1390	1110-1132
AD-288094.1	UUACUGUUCUUCUUCUUCU	1091	1118-1138	AAGAAACAGGAAGACAGGUAAU	1391	1116-1138
AD-288095.1	CCUGUUCUUCUUCUUCUCAU	1092	1121-1141	AUUGAGAAACAGGAAGACAGGUA	1392	1119-1141
AD-288108.1	GGUCUGUUUUUCUUCUUAU	1093	1164-1184	ACAUGAAAGGAAACACAGACCUA	1393	1162-1184
AD-288109.1	GUCUGUUUUUCUUCUUAU	1094	1165-1185	AGCAUGAAAGGAAACACAGACCU	1394	1163-1185
AD-288173.1	UUUUUAACACAGGGAAGGUUU	1095	1302-1322	AAACCUUCCUUGUUAUUAAGU	1395	1300-1322
AD-288174.1	UAUUUAACACAGGGAAGGUUA	1096	1303-1323	UAAACCTUCCUUGUUAUUAAG	1396	1301-1323

10

20

30

40

50

【表 8 - 6】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-288180.1	GGGAAGGUUUAAAGACUGUUCA	1099	1313-1333	UGAACAGUCUUUAAACCUUCCCU	1399	1311-1333
AD-288181.1	GGGAAGGUUUAAAGACUGUUCAA	1100	1314-1334	UUGAACAGUCUUUAAACCUUCCCU	1400	1312-1334
AD-288184.1	UUUAAAGACUGUUCAAGUAGCA	1102	1320-1340	UGCUACTUGAACAGUCUUAAACC	1402	1318-1340
AD-288187.1	GACUGUUCAAGUAGCAUUGCA	1104	1325-1345	UGGAUAGUCUACUUGAACAGUCUU	1404	1323-1345
AD-288188.1	ACUGUUCAAGUAGCAUUGCAA	1105	1326-1346	UUGGAATGCUACUUGAACAGUCUU	1405	1324-1346
AD-288192.1	CAAGUAGCAUUGCAAUCUGUA	1108	1332-1352	UACAGATUGGAUUGCUACUUGAA	1408	1330-1352
AD-288227.1	AACUUAUUUACACAGGGAAGU	1111	1299-1319	ACUCCCGUGUAAUAAAGUUCU	1411	1297-1319
AD-288229.1	UACACAGGGAAGGUUUUAAAGAU	1112	1307-1327	AUCUUAAACCUUCCCGUGUAAA	1412	1305-1327
AD-288230.1	CACAGGGAAGGUUUUAAAGAUU	1113	1309-1329	AAGUCUTAAACCUUCCCGUGUA	1413	1307-1329
AD-288231.1	AGGGAAGGUUUUAAAGACUGUUU	1114	1312-1332	AAACAGTCUUAAACCUUCCCU	1414	1310-1332
AD-288232.1	GAAGGUUUAAAGACUGUUCAAU	1115	1315-1335	AUUGAACAGUCUUAAACCUUCCC	1415	1313-1335
AD-288233.1	GGUUUAAAGACUGUUCAAGUAU	1116	1318-1338	AUACUUGAACAGUCUUAAACCUU	1416	1316-1338
AD-288235.1	AAGACUGUUCAAGUAGCAUUU	1117	1323-1343	AAUGCTACUUGAACAGUCUUA	1417	1321-1343
AD-288236.1	AGACUGUUCAAGUAGCAUUCU	1118	1324-1344	AGAAUGCUACUUGAACAGUCUUA	1418	1322-1344
AD-288237.1	UGUUCAGUAGCAUUCCAAUU	1119	1328-1348	AAUUGGAUUGCUACUUGAACAGU	1419	1326-1348
AD-288238.1	UUCAAGUAGCAUUCCAAUCUU	1120	1330-1350	AAGAUUGGAUUGCUACUUGAAC	1420	1328-1350
AD-288290.1	GCAGCUUUUUCUCAACCUGGA	1121	1419-1439	UCCAGGTUGAGAUAAAGCUGCCU	1421	1417-1439
AD-288316.1	AGCAUUUGAAAGAUUCCCUA	1122	1455-1475	UAGGGAUUCUUUUCAAUUGCUGA	1422	1453-1475
AD-288318.1	UGAAAGAUUUCCCUAGCCUCU	1123	1461-1481	AGAGGCTAGGGAUUCUUAUCAA	1423	1459-1481
AD-288324.1	UUCCCUAGCCUCUUCUUUUU	1125	1469-1489	AAAAGGAAGAGGCUAGGGAU	1425	1467-1489
AD-288337.1	AAGAACACAGAAUGAGUGCAU	1126	1374-1394	AUGCACTCAUUCUGUGUUCUUGU	1426	1372-1394
AD-288338.1	GAACACAGAAUGAGUGCACAU	1127	1376-1396	AUGGCACUCAUUCUGUGUUCUU	1427	1374-1396
AD-288339.1	AACACAGAAUGAGUGCACAGU	1128	1377-1397	ACUGGCACUCAUUCUGUGUUCU	1428	1375-1397
AD-288340.1	CAGAAUGAGUGCACAGCUAAU	1129	1381-1401	AUUAGCTGUGCACUCAUUCUGUG	1429	1379-1401
AD-288341.1	GAAUGAGUGCACAGCUAAGAU	1130	1383-1403	AUCUUAGCUGUGCACUCAUUCUG	1430	1381-1403
AD-288366.1	UUCAGCAUUUGAAAGAUUUCU	1131	1452-1472	AGAAUCUUUCAAUUGCUGAAUC	1431	1450-1472
AD-288369.1	CAUUUGAAAGAUUCCCUAGU	1132	1457-1477	ACUAGGGAUUCUUUCAAUUGCU	1432	1455-1477
AD-288370.1	AUUUGAAAGAUUCCCUAGCU	1133	1458-1478	AGCUAGGGAUUCUUUCAAUUGC	1433	1456-1478
AD-288394.1	GUGCAACUCUAUUCUGGACUU	1136	1505-1525	AAGUCCAGAAUAGAGUUGCACCG	1436	1503-1525
AD-288396.1	GCAACUCUAUUCUGGACUUUA	1138	1507-1527	UAAAGUCCAGAAUAGAGUUGCAC	1438	1505-1527
AD-288397.1	CAACUCUAUUCUGGACUUUAU	1139	1508-1528	AUAAAGTCCAGAAUAGAGUUGCA	1439	1506-1528
AD-288427.1	AGUCCACCAAAGUGGACCCU	1142	1559-1579	AGGGUCCACUUUUGGUGACUUC	1442	1557-1579
AD-288466.1	AAACGGUGCAACUCUAUUCUU	1148	1500-1520	AAGAAUAGAGUUGCACCGUUUUG	1448	1498-1520

10

20

30

40

50

【表 8 - 7】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-288467.1	AACGGUGCAACUCUAUUUCUGU	1149	1501-1521	ACAGAATAGAGUUUGCACCCUUUUU	1449	1499-1521
AD-288470.1	UAUUCUGGACUUUAUUACUUU	1150	1514-1534	AAAGUAAUAAAGUCCAGAAUAGA	1450	1512-1534
AD-288491.1	AAAGUGGACCCUCUAUAUUUC	1151	1568-1588	GAAAUATAGAGGGUCCACUUUUG	1451	1566-1588
AD-288492.1	AAGUGGACCCUCUAUAUUUCU	1152	1569-1589	AGAAAUUAJAGAGGGUCCACUUUU	1452	1567-1589
AD-288561.1	AUGUUUAGACAUAUUUAGGCU	1153	1724-1744	AGCCUAAAAUUUGUCUAAACAUCU	1453	1722-1744
AD-288562.1	GUUUAGACAUAUUUAGGCUCA	1154	1726-1746	UGAGCCTAAAAUUUGUCUAAACA	1454	1724-1746
AD-288567.1	GACAAUUUUAGGCUCAAAAAU	1159	1731-1751	AUUUUUGAGCCUAAAAUUUGUCUA	1459	1729-1751
AD-288573.1	UAGGCUCAAAAAUUAAAGCUA	1161	1739-1759	UAGCUUTAAUUUUUGAGCCUAAA	1461	1737-1759
AD-288574.1	AGGCUCAAAAAUUAAAGCUAA	1162	1740-1760	UUAGCUUTAAUUUUUGAGCCUAA	1462	1738-1760
AD-288575.1	GCUCAAAAAUUAAAGCUAACA	1163	1742-1762	UGUUAGCUUUAUUUUUUGAGCCU	1463	1740-1762
AD-288576.1	UCAAAAAUUAAAGCUAACAACA	1164	1744-1764	UGUGUUAGCUUUAUUUUUUGAGC	1464	1742-1764
AD-288613.1	UUCAUUAUCCUUGGUCCCAU	1165	1701-1721	AUGGACCAAGGAUAUAUGAAAG	1465	1699-1721
AD-288620.1	GAUGUUUAGACAAUUUUAGGU	1166	1723-1743	ACCUAAAAUUUGUCUAAACAUCUC	1466	1721-1743
AD-288624.1	GGCUCAAAAAUUAAAGCUAAU	1167	1741-1761	AUUAGCTUUAUUUUUUGAGCCUA	1467	1739-1761
AD-288625.1	CUCAAAAAUUAAAGCUAACA	1168	1743-1763	AUGUUAGCUUUAUUUUUUGAGCC	1468	1741-1763
AD-288626.1	CAAAAAUUAAAGCUAACAACA	1169	1745-1765	AUGUGTAGCUUUAUUUUUUGAG	1469	1743-1765
AD-288628.1	AAAUUAAAGCUAACAAGGAA	1170	1748-1768	UUCUGTGUUAGCUUUAUUUUU	1470	1746-1768
AD-288634.1	UAACACAGGAAAGGAACUGU	1171	1758-1778	ACAGUCCUUUUUCCUGUUAAGC	1471	1756-1778
AD-288637.1	GGAAAGGAACUGUACUGGCU	1172	1765-1785	AGCCAGTACAGUUCUUUUUCCUG	1472	1763-1785
AD-288696.1	CAGGAAAGGAACUGUACUGU	1175	1763-1783	ACAGUACAGUUCUUUUUCCUGUG	1475	1761-1783
AD-288698.1	AGGAACUGUACUGGCUAUUAU	1176	1770-1790	AUAUAAGCCAGUACAGUUCUUU	1476	1768-1790
AD-288912.1	CUCCACUAACAUAAGACUAA	1177	2189-2209	UUAGUCTUGAUGUAGUGGGAGUC	1477	2187-2209
AD-288915.1	CACUACAUAAGACUAAUCUU	1180	2193-2213	AAGAUAAGUCUUGAUGUAGUGGG	1480	2191-2213
AD-288916.1	CUACAUAAGACUAAUCUUGU	1181	2195-2215	ACAAGATUAGUCUUGAUGUAGUG	1481	2193-2215
AD-288933.1	GUGUUUUCACAUGUAUUUA	1184	2221-2241	UAUAUAACAUGUGAAAAACACAC	1484	2219-2241
AD-288937.1	UCACAUGUAUUUAAGAAUGCU	1185	2228-2248	AGCAUUCUAUAUAACAUGUGAAA	1485	2226-2248
AD-288938.1	CACAUGUAUUUAAGAAUGCUU	1186	2229-2249	AAGCAUTCUAUAUAACAUGUGAA	1486	2227-2249
AD-288948.1	CUUUUGCAUGGACUAUCCUCU	1192	2247-2267	AGAGGATAGUCCAUAGCAAAAGCA	1492	2245-2267
AD-288950.1	UUGCAUGGACUAUCCUCUUGU	1193	2250-2270	ACAAAGGGAUAGUCCAUAGCAAAA	1493	2248-2270
AD-288956.1	GGACUAUCCUCUUGUUUUUAU	1196	2256-2276	AUAAAAACAAGAGGAUAGUCCAU	1496	2254-2276
AD-288957.1	GACUAUCCUCUUGUUUUUAUU	1197	2257-2277	AUAUAAAAACAAGAGGAUAGUCCA	1497	2255-2277
AD-288959.1	CUAUCCUCUUGUUUUUAUUAA	1198	2259-2279	UUAUAUAAAAACAAGAGGAUAGUC	1498	2257-2279
AD-288981.1	CCCACUAACAUAAGACUAAUU	1199	2191-2211	AUUAGTCUUGAUGUAGUGGGAG	1499	2189-2211

10

20

30

40

50

【 表 8 - 8 】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置
AD-288982.1	ACUACAUCAAAGACUAAUCUUU	1200	2194-2214	AAAGAUTAGUCUUGAUGUAGUGG	1500	2192-2214
AD-288996.1	AUGCUUUUGCAUGGACUAUCU	1201	2244-2264	AGAUAGTCCAUAGCAAAAGCAUUC	1501	2242-2264

* 標的 : HSD17B13

10

20

30

40

50

【表 9 - 1】

表9.Cos-7(ヒトDual-Luciferase psiCHECK2ベクター)および初代カニクイザル肝細胞における
HSD17B13 ELF7 GNA7 in vitro 10nMスクリーニング

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-286958.1	108.7	111.4	84.5	99.1
AD-287001.1	84.8	98.4	14.7	81.4
AD-287012.1	88.6	110	97.1	88.8
AD-287014.1	95.2	105.8	116.5	102.3
AD-287015.1	65.4	93.8	14.5	80.3
AD-287017.1	98.5	94.9	91.6	96.2
AD-287026.1	31.9	91	44.8	73.6
AD-287059.1	76.9	117.2	70	94.4
AD-287060.1	101.6	97.9	71.1	97.8
AD-287061.1	94.6	92.8	60.5	96.4
AD-287062.1	90.8	97.7	67.1	113.1
AD-287064.1	97	92.5	75	98.2
AD-287065.1	92.2	98.2	74.4	98
AD-287066.1	98.5	96.4	27	99.3
AD-287126.1	95.6	99.9	19.1	93.5
AD-287200.1	98.7	126.7	91.5	95.3
AD-287201.1	38.7	101.6	88.6	100.6
AD-287202.1	74.5	97.2	88.7	100.7
AD-287203.1	72.9	98.7	50.3	87.1
AD-287205.1	72.8	98	40	96.9
AD-287206.1	62.7	112.9	19.6	88.4
AD-287227.1	64.3	95	34.2	95.1
AD-287246.1	58.1	97.5	20.8	72.4
AD-287247.1	76.2	95.9	84.8	115.1
AD-287248.1	65.5	110.9	55	92
AD-287249.1	90.1	107.8	126.6	113.4
AD-287250.1	76.9	113.2	96.2	95.6
AD-287251.1	35.8	92.3	53.5	93.7
AD-287252.1	57.7	89	32.7	101.4
AD-287253.1	76.1	95	74.1	92.6
AD-287254.1	104.7	124	89.5	100.5
AD-287258.1	91.4	107.8	44.9	98.1
AD-287287.1	55.2	96.5	65.7	104.4
AD-287288.1	53.1	96.9	36	108.3
AD-287289.1	77.3	98.1	57.5	97.8
AD-287290.1	23.5	103.2	55.3	82.8
AD-287293.1	46.6	89.5	88.6	102.2
AD-287316.1	78.6	82.4	34.1	92.4
AD-287320.1	86.2	88.8	105.8	97.9
AD-287321.1	86	108.2	81.3	91
AD-287324.1	72.7	113.6	34.3	107.8
AD-287325.1	78.4	104.6	85.2	86.2
AD-287326.1	39.2	95.1	17.3	73.3
AD-287327.1	91.7	95.2	99.6	90.4
AD-287344.1	13.6	81.4	14.4	58.3
AD-287346.1	115.2	122.2	96.5	103.1
AD-287347.1	43.3	89.6	26.3	86.7
AD-287366.1	53	98.4	36.1	90.1
AD-287367.1	102.8	99.3	98.4	93.3
AD-287370.1	107.7	106.7	102.1	93.8
AD-287371.1	79.2	107	81.6	93.5

10

20

30

40

50

【表 9 - 2】

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-287372.1	101.8	103.2	94.4	108.4
AD-287373.1	67.5	85.9	28.7	89.6
AD-287374.1	60.7	103.2	63.2	83.2
AD-287375.1	96	101	85.3	98
AD-287391.1	28.3	92	26.4	95.3
AD-287392.1	33.8	100.9	31.4	90.8
AD-287406.1	93.2	106.5	54.1	96.2
AD-287407.1	47.5	86.1	23.6	72.2
AD-287408.1	63.1	90.3	47.1	98.2
AD-287410.1	32.5	87.6	10.9	80.2
AD-287411.1	21.6	87.3	10	69.1
AD-287413.1	87.4	98.2	72.7	89.9
AD-287414.1	100.6	97.3	100.2	98.6
AD-287415.1	20.2	88.9	9.7	68.8
AD-287418.1	13.3	88.8	45.9	66.6
AD-287419.1	54.6	99.7	58.7	88
AD-287421.1	27.4	94.7	7.4	66.2
AD-287424.1	33.4	98	40.6	87.6
AD-287427.1	67.9	106.6	24.2	75.8
AD-287428.1	79.1	94.5	22.3	84.7
AD-287429.1	99.5	98.2	53.8	94.7
AD-287430.1	101.9	104	88.3	103.9
AD-287441.1	62.8	104	61.1	103.6
AD-287453.1	19.9	91.5	12.5	70.3
AD-287462.1	44.1	90.3	85.1	93.1
AD-287463.1	93.9	99.9	78.3	100.4
AD-287464.1	113	107.9	51.5	110.6
AD-287465.1	86.6	99	80.4	101.5
AD-287466.1	89.9	96.4	106.2	109.7
AD-287467.1	85.2	100.4	82.2	107.9
AD-287468.1	36.6	102.8	13.7	92.4
AD-287469.1	67.5	93.6	88.5	107.8
AD-287470.1	30	111.3	24.9	68.2
AD-287474.1	61.6	103.1	55.4	93.3
AD-287476.1	33.2	120.5	29.2	52
AD-287477.1	62.3	90.6	38.2	81.3
AD-287478.1	44	86.3	6.1	52.5
AD-287479.1	89.8	95.8	53	95.1
AD-287491.1	63.1	108.1	75.7	92.2
AD-287492.1	70.8	92.9	93.6	97.1
AD-287517.1	75.2	93.3	98	99.5
AD-287520.1	73.9	97.9	96.2	101.9
AD-287521.1	50.1	94.6	70.2	98.7
AD-287522.1	88.9	109.4	83.4	91.8
AD-287524.1	14.4	111.5	31.1	65.9
AD-287525.1	71.6	104.4	88.6	103.8
AD-287537.1	51.6	110.5	20.5	84.7
AD-287539.1	47.9	115.9	27.9	78.5
AD-287540.1	74.9	105.1	19.6	86.2
AD-287543.1	47.6	95.3	12.7	93.3
AD-287546.1	65.7	102.8	6.8	59
AD-287568.1	74.8	104.6	56.7	100.7
AD-287591.1	40	100.8	12.7	65.1
AD-287610.1	33.3	78.1	32.3	66.4

10

20

30

40

50

【表 9 - 3】

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-287615.1	24.4	104.8	12.5	68.7
AD-287616.1	15.7	102	16.1	63.6
AD-287627.1	81.3	92.3	111.8	94.5
AD-287632.1	93.9	93.1	88.9	106.9
AD-287633.1	106.4	91.9	68.4	122.6
AD-287634.1	82.3	114.7	78.7	94.5
AD-287636.1	21.8	97.7	18.9	56.5
AD-287637.1	27.6	92.3	22.8	91.4
AD-287638.1	99	101.2	101.6	98.1
AD-287647.1	74.2	108.2	74.5	94.3
AD-287648.1	12.9	92.8	29.8	61
AD-287651.1	66.5	100.6	92.8	106.4
AD-287652.1	12.8	79.5	11.5	66.2
AD-287653.1	18.9	69.8	17.9	87.7
AD-287654.1	87.5	101	75.4	91.4
AD-287655.1	61.6	101.7	88.3	98
AD-287656.1	91.7	122.5	86.4	97.9
AD-287658.1	78.1	118.7	45	89.4
AD-287659.1	37	100.9	22.1	87.2
AD-287679.1	55.4	93.6	24.4	85.1
AD-287680.1	14.3	114.1	17.4	35.8
AD-287683.1	59	94.1	33.3	87.5
AD-287690.1	81.2	144.4	49.9	93.5
AD-287693.1	68.7	125.5	85.8	100.5
AD-287694.1	100.2	111.7	87.8	101.8
AD-287695.1	88.4	110.2	89.2	106.1
AD-287696.1	13.8	78.3	12	63.6
AD-287700.1	15.6	97	22.9	82.3
AD-287701.1	46.1	95	108.7	109.1
AD-287702.1	80.1	112.2	80.1	93.9
AD-287703.1	70.1	102.6	92.2	105.5
AD-287704.1	38.2	113.8	25.4	95.5
AD-287706.1	94.3	105	96.1	97.8
AD-287707.1	82.6	114.2	103.2	106.7
AD-287709.1	78.2	93.8	89.9	103.9
AD-287711.1	23.1	76.9	15.5	88.1
AD-287724.1	54.2	94.9	100.4	97.6
AD-287725.1	83.1	116.3	61.8	101.3
AD-287726.1	20.8	77.6	15.5	70.6
AD-287727.1	33.6	111	27.9	57.1
AD-287728.1	28.8	107	11.2	76.6
AD-287735.1	13.2	92.7	9.6	25.6
AD-287736.1	60.7	111	26.9	83.8
AD-287737.1	71.3	98.7	42.5	105.1
AD-287738.1	31.3	114.3	21.8	87.8
AD-287739.1	22.5	101.9	55	72
AD-287740.1	16.3	73.5	19	55.7
AD-287778.1	82.4	113.7	66.4	90.9
AD-287793.1	47.8	91.5	84.1	92.9
AD-287795.1	32.9	99.6	54.4	102.2
AD-287798.1	48.8	98.3	18.5	90.5
AD-287800.1	59.4	96.3	58.7	95.1
AD-287801.1	17.7	140.3	16.1	71.4
AD-287802.1	5.6	82.9	17	27.8

10

20

30

40

50

【表 9 - 4】

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-287804.1	14.7	77.5	14.3	70.3
AD-287810.1	53.9	98.6	72.5	100.1
AD-287811.1	64.5	106	33.9	90.2
AD-287813.1	35.9	114.4	17.9	91.4
AD-287837.1	11.6	66	9.3	58
AD-287839.1	95.3	106.1	60	136.1
AD-287841.1	13.4	98.7	22.9	46.4
AD-287842.1	94.6	89.9	106.1	97.5
AD-287844.1	87.4	161.1	74	88.1
AD-287854.1	32.4	103.1	25.2	82.8
AD-287856.1	16.9	99.3	32.4	64.5
AD-287857.1	88	99.4	64.7	106.2
AD-287893.1	17.2	94.7	58.7	93.2
AD-287917.1	30.5	114.1	60	69.4
AD-287924.1	52.3	85.6	75.3	86.5
AD-287934.1	48.5	91.3	39.4	96.8
AD-287969.1	100.3	96.7	77.9	105.5
AD-287970.1	15.4	88.3	43	87.6
AD-287982.1	73.8	87.6	26.7	56.3
AD-288005.1	23.6	92.4	69.9	88.4
AD-288006.1	28.8	91.1	52.8	95.3
AD-288008.1	62.6	111.1	52	97.5
AD-288010.1	66.8	116.2	66.1	102
AD-288011.1	11.7	78	45.2	54.5
AD-288015.1	27.1	111.4	66.6	61
AD-288046.1	12.2	72.4	20.7	53.5
AD-288049.1	44.9	104.5	68.6	77.3
AD-288050.1	32.2	120.1	41.8	70.6
AD-288076.1	43.1	109.1	24.2	66.4
AD-288092.1	10.9	106.6	58.5	113.2
AD-288094.1	66.8	92.3	90.4	91.6
AD-288095.1	16.2	92.4	39	55.5
AD-288108.1	53.3	122.8	49.1	96.7
AD-288109.1	39.8	114.6	51	90.4
AD-288173.1	19.3	110.7	58.8	81.1
AD-288174.1	39	90.1	71.8	88.7
AD-288176.1	135.9	92.9	102.6	106
AD-288177.1	91.4	99.7	57.2	99.5
AD-288180.1	34.5	110	68	82
AD-288181.1	19.9	116.4	34.6	74.9
AD-288183.1	38.2	96.5	20.5	84.6
AD-288184.1	43.4	95	28.9	84.1
AD-288186.1	63.9	107.4	60.7	88
AD-288187.1	22.9	113.8	53	84.5
AD-288188.1	16.3	77.6	23.4	60.5
AD-288189.1	47.2	104.1	22.4	49.3
AD-288190.1	21.5	81.3	22.8	58.1
AD-288192.1	71.7	112.4	76.6	93.6
AD-288193.1	62.5	118.5	34	72.8
AD-288194.1	66.7	96.6	31.2	87.1
AD-288227.1	86.5	85.7	113.1	103.6
AD-288229.1	104.6	103.1	73.7	88.6
AD-288230.1	32.5	122.3	29.7	75.1
AD-288231.1	19	100.2	46.5	72.1

10

20

30

40

50

【表 9 - 5】

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-288232.1	66.9	95.5	97	95.2
AD-288233.1	26.2	108	21.1	68.6
AD-288235.1	7.4	79.8	39.3	52.6
AD-288236.1	18.1	78.8	21.5	51.6
AD-288237.1	59.8	133.8	37.3	72.6
AD-288238.1	10.4	57.4	21.3	58.1
AD-288290.1	68.9	108.4	29.8	90.7
AD-288316.1	38	98.2	42.2	61.8
AD-288318.1	37.6	99.4	25.3	66
AD-288319.1	23.7	93.5	44.4	90.4
AD-288324.1	56.4	146.7	51.7	81.8
AD-288337.1	24.7	94.5	30	78
AD-288338.1	34.8	95.6	46.9	68.3
AD-288339.1	67.3	86.5	78.5	94
AD-288340.1	19.5	114.6	29.5	51.7
AD-288341.1	23.1	88.9	48.8	75.7
AD-288366.1	34.6	160.9	42.9	91.4
AD-288369.1	16.4	120.9	28.2	77.4
AD-288370.1	15.1	73.8	26.8	89.1
AD-288391.1	30.1	84	21.2	64.5
AD-288393.1	56	96.6	41.8	101.9
AD-288394.1	20.1	107	48.5	75.6
AD-288395.1	64	94.8	53.7	101
AD-288396.1	86	94.3	100.2	90.7
AD-288397.1	28.3	83.9	33.9	83.9
AD-288398.1	63.4	108.8	87.6	91.7
AD-288402.1	60.1	103.7	37	89.3
AD-288427.1	110.8	95.6	89.8	97.2
AD-288430.1	94.7	118.3	85.2	92.7
AD-288431.1	87.4	94.7	106.5	94.5
AD-288432.1	39	112.5	81.6	88.7
AD-288433.1	100.7	113	107.9	92.4
AD-288434.1	104.8	99.6	87.5	102.3
AD-288466.1	65	99.1	77.1	100
AD-288467.1	99.4	99.8	64.9	98.6
AD-288470.1	30.7	97.7	82.9	83.8
AD-288491.1	82.6	98.5	69.8	90.6
AD-288492.1	77	98.1	84.5	106.6
AD-288561.1	54.5	92.2	102.4	103.6
AD-288562.1	35.9	91.8	32.2	89.5
AD-288563.1	18.7	79.9	29.9	69.1
AD-288564.1	24.5	68.1	38.3	80.9
AD-288565.1	47.1	97.6	53.9	83.8
AD-288566.1	33.7	89.8	30.5	64.6
AD-288567.1	75.7	92.5	101.7	99.7
AD-288572.1	93.2	97.6	92	110.6
AD-288573.1	51.9	95	46.3	86.1
AD-288574.1	12.6	79.8	25.8	54.3
AD-288575.1	51.2	116.2	61.7	76.2
AD-288576.1	26.9	98	51.7	75
AD-288613.1	36	92.1	103.9	113.2
AD-288620.1	62.8	94.8	107	88.5
AD-288624.1	26.8	101.4	32.2	66.8
AD-288625.1	16.4	99.3	40.5	73.2

10

20

30

40

50

【表 9 - 6】

二重鎖名	残存ヒト メッセージの%、 10nM	残存ヒト メッセージの%、 0.1nM	残存Cyno メッセージの%、 10nM	残存Cyno メッセージの%、 0.1nM
AD-288626.1	34.7	100.9	30.1	70.8
AD-288628.1	32.7	85.2	35.1	80.2
AD-288634.1	89.6	92.6	77	90.6
AD-288637.1	44.5	93.6	42.1	104
AD-288639.1	43.7	112	20.6	46.7
AD-288642.1	42.2	99.6	25.2	69.8
AD-288696.1	52.8	101.5	31.1	88
AD-288698.1	16.3	75.6	21	58.9
AD-288912.1	21.1	83.4	23.2	56.1
AD-288913.1	28.5	88	26.7	65.9
AD-288914.1	16.1	77.7	23.1	56.1
AD-288915.1	17.7	92.8	33.9	73.6
AD-288916.1	16.1	91.1	24	75.5
AD-288917.1	15.1	59.6	31	77
AD-288918.1	23.6	85.2	35.2	98.8
AD-288933.1	24.9	78.9	62.9	78.8
AD-288937.1	74.3	103.3	51.6	89.9
AD-288938.1	28.2	105.7	42.9	92.7
AD-288941.1	33.1	100	44.9	114.1
AD-288943.1	69.7	97.2	49.1	89
AD-288945.1	25.1	83.4	26.1	64.4
AD-288946.1	54	89.5	45.5	82.9
AD-288947.1	26.7	97.6	26.6	76.9
AD-288948.1	18.2	93.6	24.7	67.6
AD-288950.1	24.3	103.4	31.8	89.7
AD-288951.1	18.9	85.3	29.7	96.5
AD-288952.1	98.1	103.2	85.4	92.9
AD-288956.1	30.5	104	53	84.5
AD-288957.1	23.4	88.8	57.9	85.2
AD-288959.1	21.5	82.5	45.7	64.4
AD-288981.1	63.2	101.9	26.6	73.5
AD-288982.1	82.9	103.7	50.2	88.4
AD-288996.1	11.6	70.8	39.3	70.3

10

20

30

40

50

【表 10-1】

表10.HSD17B13 NonF DNAの修飾された配列*

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標の配列、5'から3'へ	配列番号
AD-291929.1	ascsaagadAcdTgaacgaauL96	1502	asdTsuadTgdGuacAdGudCcuuugutsasg	1797	CUACACAGGACUGAACCCAGAAAG	2092
AD-291931.1	ascsaagacdTgdAaccagaggaL96	1503	usdCscudTcdTgmuadCadCucuuugusgu	1798	ACAC AAGGACUGAACCCAGAAAGGA	2093
AD-291988.1	uscscuucugCdTtCuagacacaaL96	1504	usdGsgudGadTtcaagAdgCagaagaagtasu	1799	AAUCCUUCUGUUCUGAUCACCA	2094
AD-291993.1	csusgcucudGadTtcaacucauuL96	1505	asdAsgudAudGcgudAdTcdAgaagcaggsasa	1800	UUCUGCUUCUGAUCACCAUCAUC	2095
AD-291998.1	uscstugaucdCdAucacucauuL96	1506	asdAsgudAgdAaugadGgdTgaucagagssag	1801	CUUCUGAUACCAUCAUCAUCAUC	2096
AD-292005.1	ascscuacudCadAcutucauuL96	1507	asdAsgudTgdGagudAdgAugagagssusa	1802	UACCAUCAUCAUCAUCAUCAUG	2097
AD-292006.1	cscsaucadCTadCuccucauuL96	1508	asdCsaadGadAaggadTadGaugaugssusg	1803	CACCAUCAUCAUCAUCAUCAUG	2098
AD-292007.1	csasucacudAcdTtcaucuuL96	1509	usdCscadAgdTtggadGudAgaugaugssu	1804	ACCAUCAUCAUCAUCAUCAUGGA	2099
AD-292008.1	asuscaucadCudCcuucuuL96	1510	asdTscadAadGuagdgAdTtgaugaugssg	1805	CCAUCAUCAUCAUCAUCAUGGAG	2100
AD-292010.1	csasucacudCcdTtcaucuuL96	1511	asdAsgudCcdAaugadGgdAgaugaugssu	1806	AUCAUCAUCAUCAUCAUGGAGUC	2101
AD-292012.1	uscscuacudCadCcuugagcuL96	1512	asdCsgadCcdCaagdTgdGgugaugssusg	1807	CAUCAUCAUCAUCAUGGAGUCGU	2102
AD-292013.1	csuscuacudAcdTtugaugcuL96	1513	asdAsgcdAdCTcaadGudAaggauagssu	1808	AUCAUCAUCAUCAUGGAGUCGUU	2103
AD-292014.1	usascuacudCudTtggagucguL96	1514	asdAsgadGadCtcaadAdgTtgaugaugssu	1809	UCUACUCAUCAUGGAGUCGUUG	2104
AD-292015.1	ascscuacudTudGgagucguL96	1515	asdCsaadCgdAenudCadCuaagagssusg	1810	CUACUCAUCAUGGAGUCGUUGG	2105
AD-292016.1	csuscucacudTgdGagucguL96	1516	asdCscadAcdGacudCcdAguagagssusa	1811	UACUCAUCAUGGAGUCGUUGGU	2106
AD-292017.1	uscscuacudGgdAguagcuL96	1517	asdAsgcdAadCgacudCcdAguagagssu	1812	ACUCCAUCAUGGAGUCGUUGGU	2107
AD-292028.1	gsuscguugdTgdAaguuuL96	1518	asdTsgadAadAacudCadCcaagcagssu	1813	GAGUCGUUGGAGUUAUUUCAU	2108
AD-292137.1	ususcguucudGudGggaunaaL96	1519	asdTsuadAudAuccedAcdAgaacacasa	1814	UAUUGUUCUGUGGGAUUAUUAU	2109
AD-292140.1	gsuscguugdTgdAuaunaaL96	1520	asdTsuadTudAuaudCcdCacagacscsa	1815	UGGUUCUGGGAUUAUUAUUAAG	2110
AD-292143.1	csuscguugadTtAuaaagcuL96	1521	asdCsgcdTadAuaadTadTtcaacagssu	1816	UUCUGUGGAUUAUUAUUAAGCG	2111
AD-292182.1	gsuscguugdTcdTtcaaacuL96	1522	asdCscudAgdTtmuudCgdTtcaacagssu	1817	CAGCUGAGUGCCGAAAACUAGGC	2112
AD-292183.1	csuscguugdTcdAaacuL96	1523	asdGscdTtadGmuudCgdTtcaacagssu	1818	AGCUGAGUGCCGAAAACUAGGCG	2113
AD-292185.1	gsuscguugdTadAacuaagcuL96	1524	asdAsgcdCcdTtguudTudCggaucagssu	1819	CUGAGUGCGAAAACUAGGCGUC	2114
AD-292186.1	asguscgagadAadAacuaagcuL96	1525	usdGscadGcdCuaugdTudTtggcagssu	1820	UGAGUGCCGAAAACUAGGCGUCA	2115
AD-292187.1	gsuscggaadAadCuaagcguL96	1526	asdTsgadCgdCtcaugdTudTtggcagssu	1821	GAGUGCCGAAAACUAGGCGUCAC	2116
AD-292188.1	usgscgaadAcdTtggcguL96	1527	asdGsgudGadCtcaudAdTtmgcgscsu	1822	AGUGCCGAAAACUAGGCGUCACU	2117
AD-292189.1	gsuscgaadCudAagcguL96	1528	asdAsgudGadCtcaudAdTtmgcgscsu	1823	GUGCCGAAAACUAGGCGUCACUG	2118
AD-292190.1	csuscgaadTadGgagcguL96	1529	asdCsgdTtadAagcdTadGmuugcscsa	1824	UGCCGAAAACUAGGCGUCACUGC	2119
AD-292238.1	csasgagagAdAacuaagcuL96	1530	asdAsgcdGadTtgaudCudCcuucugssu	1825	AACAGAGAAGAUUAUCUGCUC	2120
AD-292244.1	asggaucudAcdCgcuuuaaL96	1531	usdTsuadGadGagcdAadAgaucucssu	1826	GAGAGAUCUAUCGUCUCUAAA	2121
AD-292245.1	gsasgaucudTudGagcguL96	1532	asdTsuadAadAagcdAdTtgaucucssu	1827	AAGAGAUCUAUCGUCUCUAAU	2122

【 1 0 - 2 】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標の配列、5'から3'へ	配列番号
AD-292247.1	gsasucuaucdGdTcucuaaaucaL96	1533	usdGsaudTudA gagadGcdGauuagauucsu	1828	GAGAUUAUCGUCUCUAAAUAUCA	2123
AD-292248.1	asuscuauucgdCudCuaaaucauL96	1534	asdTsgadTudTTagadAgdGauuagauucsu	1829	AGAUAUAUCGUCUCUAAAUAUCAG	2124
AD-292250.1	csusaucgcudCudCuaaaucauL96	1535	asdCscudGadTuuagdAgdAgcgauuagsu	1830	AUCUAUCGUCUCUAAAUAUCAGGU	2125
AD-292251.1	usasaucgcudTcdTaaaucauL96	1536	asdAseedTgdAuuuadGadGagcgauuagsa	1831	UCUAUCGUCUCUAAAUAUCAGGU	2126
AD-292252.1	asuscuauucgdCudAaaucauL96	1537	usdCsaedCudGauuadAgdAgagcgauuags	1832	CUAUCGUCUCUAAAUAUCAGGUGA	2127
AD-292253.1	usascuauucdTadAaucauL96	1538	usdTscadCcdTgaudTadGagcgauuagsa	1833	UAUCGUCUCUAAAUAUCAGGUGAA	2128
AD-292254.1	csascuauucdTadAaucauL96	1539	asdTscadCcdTgaudTadGagcgauuagsa	1834	AUCGUCUCUAAAUAUCAGGUGAAG	2129
AD-292257.1	usascuauucdTadAaucauL96	1540	usdTscadCcdTgaudTadGagcgauuagsa	1835	GCUCUCUAAAUAUCAGGUGAAGAA	2130
AD-292309.1	asuscuauucdTadAaucauL96	1541	asdTsgadAadAuuadGadCcccgauuagsa	1836	UAUUCUGGGACAGUAUAUCCAG	2131
AD-292310.1	usgsuagggdTadGauuaucauL96	1542	asdCsgdTadTaaudTgdTcccgauuagsu	1837	AAUUCUGGGACAGUAUAUCCAGC	2132
AD-292315.1	gsasacauuadTadTccagcgauuL96	1543	asdAseedGcdTuuagdTadTaccuagcgauu	1838	UGGACAGUAUAUCCAGCGCAUC	2133
AD-292318.1	csasguauuadCcdAgcgauuL96	1544	asdAsgdAudCggcdGgdAuuuagcgauu	1839	GACAGUAUAUCCAGCGCAUCUUC	2134
AD-292344.1	gsasacauuadTadAagcgauuL96	1545	asdGsaudAudCuuuadCcdTccuagcgauu	1840	GCACCAAGGUAAGAGAGAUUACC	2135
AD-292345.1	csasacauuadTadAagcgauuL96	1546	usdGsaudAudCuuuadCcdTccuagcgauu	1841	CACCAAGGUAAGAGAGAUUACCA	2136
AD-292346.1	csasacauuadTadAagcgauuL96	1547	usdTsgdTadAuuadTadTccuagcgauu	1842	ACCAAGGUAAGAGAGAUUACCAA	2137
AD-292363.1	csasacauuadTadTgaugcgauuL96	1548	usdGsaudGadCuuuadAadTgaugcgauu	1843	UACCAAGGUAAGAGAGAUUACCAA	2138
AD-292366.1	asgsacauuadGadGgucauL96	1549	asdGsaudGadTgaugdTadAuuuagcgauu	1844	CAAGACAUUUGAGGUAACAUCC	2139
AD-292367.1	gsasacauuadTadGgucauL96	1550	asdGsaudGadTgaugdTadAuuuagcgauu	1845	AAGACAUUUGAGGUAACAUCCU	2140
AD-292369.1	csasacauuadGadGgucauL96	1551	asdTsgdTadTgaugdTadAuuuagcgauu	1846	GACAUUUGAGGUAACAUCCUAG	2141
AD-292370.1	asuscuauucdTadAaucauL96	1552	asdCsaudGadAuuuadGadCuuuagcgauu	1847	ACAUUUGAGGUAACAUCCUAGG	2142
AD-292371.1	usgsuagggdTadAaucauL96	1553	usdCsaudGadAuuuadGadCuuuagcgauu	1848	CAUUGAGGUAACAUCCUAGGACA	2143
AD-292373.1	usgsuagggdTadAaucauL96	1554	usdGsaudGadAuuuadGadCuuuagcgauu	1849	UUUGAGGUAACAUCCUAGGACA	2144
AD-292374.1	gsasacauuadTadTccuagcgauuL96	1555	asdTsgdTadTgaugdTadTccuagcgauu	1850	UUGAGGUAACAUCCUAGGACA	2145
AD-292376.1	gsasacauuadTadTccuagcgauuL96	1556	asdAseedGcdTuuagdTadTccuagcgauu	1851	GAGGUAACAUCCUAGGACA	2146
AD-292377.1	gsasacauuadTadTccuagcgauuL96	1557	asdAseedGcdTuuagdTadTccuagcgauu	1852	AGGUAACAUCCUAGGACA	2147
AD-292379.1	csasacauuadTadTccuagcgauuL96	1558	csdAseedGcdTuuagdTadTccuagcgauu	1853	GUCAACAUCCUAGGACA	2148
AD-292380.1	asasacauuadTadTccuagcgauuL96	1559	asdCsaadAadAuuuadGadAuuuagcgauu	1854	UCAACAUCCUAGGACA	2149
AD-292381.1	asasacauuadTadTccuagcgauuL96	1560	usdCsaadAadAuuuadGadAuuuagcgauu	1855	CAACAUCUAGGACA	2150
AD-292382.1	csasacauuadTadTccuagcgauuL96	1561	asdTscadAadAuuuadGadAuuuagcgauu	1856	AACAUCUAGGACA	2151
AD-292383.1	asuscuauucdTadTccuagcgauuL96	1562	asdAseedGcdTuuagdTadTccuagcgauu	1857	ACAUCUAGGACA	2152
AD-292384.1	usgsuagggdTadTccuagcgauuL96	1563	usdGsaudGadAuuuadTadTccuagcgauu	1858	CAUCCUAGGACA	2153
AD-292385.1	csasacauuadTadTccuagcgauuL96	1564	asdTsgdTadTccuagdTadTccuagcgauu	1859	AUCCUAGGACA	2154

10

20

30

40

50

【表 10 - 3】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-292388.1	asgsaacauudTudTggaucaacaalL96	1565	usdTsuigdTgdAuccadAadAauugccusasg	1860	CUAGGACAUUUUUUGGACACAAA	2155
AD-292389.1	gsasacauudTudGaucaacaalL96	1566	usdTsuigdTgdAuccadAadAauugccusasa	1861	UAGGACAUUUUUUGGACACAAA	2156
AD-292390.1	gsasacauudTgdGaucaacaalL96	1567	asdTsuigdTgdTgaucdCadAaaauugccusu	1862	AGGACAUUUUUUGGACACAAAAG	2157
AD-292394.1	usuuuuuggdTcdAcaaaagcaulL96	1568	asdgugcdCudTuuugdGadTccaaauasug	1863	CAUUUUUGGACACAAAAGCACU	2158
AD-292397.1	usuuuggaucadCadAaagcaucnuclL96	1569	asdgasadGudGcuuudTgdTgaucacasa	1864	UUUUUGGACACAAAAGCACUUCU	2159
AD-292398.1	usgsaucaacdAadAagcaucnuclL96	1570	asdgasadGdTgcumdTudGugaucasa	1865	UUUGGACACAAAAGCACUUCU	2160
AD-292399.1	gsasaucaacdAadAagcaucnuclL96	1571	asdgasadGadTgucdTudTgaucacasa	1866	UUUGGACACAAAAGCACUUCUUC	2161
AD-292403.1	csascaaaagdCadCuuuucanulL96	1572	asdgasadGadAgaagdTgdCuuuugcasu	1867	AUCACAAAAGCACUUCUUCUCCAU	2162
AD-292404.1	ascsaaagadAcdTuccaueanulL96	1573	asdgasadGadAgaagdGadGcuuugcasu	1868	UCACAAAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2163
AD-292405.1	csasaaagadCudTuccaueanulL96	1574	usdCsgadTgdGaaagdAadTgcuuuugcasu	1869	CACAAAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2164
AD-292406.1	asasaagcadTudCuccaueanulL96	1575	asdTscgdAadGaaagdAadGugcuuugcasu	1870	ACAAAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2165
AD-292407.1	asasagcaudTcdTuccaueanulL96	1576	asdgasadGadTggaagdGadAgaucuuusg	1871	CAAAAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2166
AD-292408.1	asasagcaudCudTuccaueanulL96	1577	usdCsaadGadAgaagdAadAgaucuuusg	1872	AAAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2167
AD-292409.1	asgsaacuudTudCcaueganulL96	1578	asdTscadTcdGauggdAadGaugcuusg	1873	AAAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2168
AD-292410.1	gsasacnuudTcdCcaueganulL96	1579	asdgasadGadGauggdAadGaugcuusg	1874	AAGCACUUCUUCUCCAUCCG	2169
AD-292434.1	asgsaaauacdTgdGccacueganulL96	1580	asdgasadGadGauggdCadTgaucuuusg	1875	AGAGAAUUCUUCUCCAUCCG	2170
AD-292486.1	uscsacuaacdCudCauccanulL96	1581	asdgasadTgdGgaagdAadGuaagcuusg	1876	GAUUCUUCUUCUCCAUCCG	2171
AD-292487.1	uscsacuaacdTcdCauccanulL96	1582	asdgasadAadGgaagdGadGuaagcuusg	1877	AUUCUUCUUCUCCAUCCG	2172
AD-292492.1	ascsacuaacdCcdAuaugueanulL96	1583	usdGsgadAcdAuaudGadGuaagcuusg	1878	UUACCUCAUCCCAUUAUUGUCCCA	2173
AD-292495.1	uscsacuaacdTadTugueganulL96	1584	usdGscudGadAcaadTadTggcuugcasg	1879	CCUCAUCCCAUUAUUGUCCGCA	2174
AD-292498.1	uscsacuaacdTgdTuccaueanulL96	1585	asdTsuigdTgdGgaagdCadAuaugcuusg	1880	CAUCCCAUUAUUGUCCGCAAAU	2175
AD-292499.1	csacuaauudGudTccagcaanulL96	1586	asdgasadTgdGgaagdCadAuaugcuusg	1881	AUCCCAUUAUUGUCCGCAAAU	2176
AD-292526.1	usgsuuugcudTudCacagagcuclL96	1587	asdgasadCudCugugdAadAgaucacspc	1882	GCUGUUGGUUUCACAGAGGUCU	2177
AD-292531.1	gsasuuuacacdAadAagcuuagcuclL96	1588	asdTsgudCadGacudCudGugaagcuclL96	1883	UGGCUUUCACAGAGGUCUGACAU	2178
AD-292534.1	uscsacagadGadTuccaueanulL96	1589	asdTsgadTgdTgaagdCcdTgaucacasa	1884	CUUUCACAGAGGUCUGACAUCCG	2179
AD-292536.1	csacagagadTcdTgacaucaanulL96	1590	usdTscudGadTgucadGadCcuugcuusg	1885	UUCACAGAGGUCUGACAUCCG	2180
AD-292541.1	asgsuucagadCadTcagaacnuclL96	1591	usdGsaadGudTgaagdTgdTgaucacasa	1886	AGAGGUCUGACAUCCGAAACUUC	2181
AD-292566.1	usuuuggaadAadCugguuacaaalL96	1592	usdTsuigdAadAcaagdTudTuccaagsg	1887	CCUUGGGAACAAACUGGUUACAAA	2182
AD-292574.1	ascsuugguadTcdAaaccuauulL96	1593	asdgasadGadGcuuudGadTgaucacasa	1888	AAAACUGGUUACAAAACCCUCCG	2183
AD-292575.1	ascsuugguadCadAaaccuauulL96	1594	asdgasadGadGcuuudTgdAuaucacasa	1889	AAACUGGUUACAAAACCCUCCG	2184
AD-292576.1	csuugguuadAadAaccuauulL96	1595	asdgasadTgdAgaagdTudGuaucacasa	1890	AACUGGUUACAAAACCCUCCG	2185
AD-292577.1	usgsuauuadAadAaccuauulL96	1596	asdgasadAadGaggdTudTgaucacasa	1891	ACUGGUUACAAAACCCUCCG	2186

10

20

30

40

50

【表 10 - 4】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-292578.1	gsgtauaacaaAadCcucauguguuL96	1597	asdAsgadCadTtgaggdTudTugauacsasg	1892	CUGGUUCAAACAAACCUCAUGUCUC	2187
AD-292579.1	gsgtauaacaaAadCcucauguguuL96	1598	asdGsgadAadAugagdTudTugauacsasa	1893	UGGUUCAAACCUCAUGUCUCU	2188
AD-292582.1	uscsaaaccdTcdAugucucuuL96	1599	asdGsgadGadGacaudGadGguuuagasa	1894	UUAUCAAACCUCAUGUCUCGCC	2189
AD-292596.1	csuscuagccdTcdTuuuugugaauL96	1600	asdTsuadAadAaaadCudGgagagasa	1895	GUCUCGCCAGUUUUUGUGAAU	2190
AD-292601.1	csescauuuudTudGugaauucuuL96	1601	asdCsgdTadTucadAadAauucggcsa	1896	UGCCAGUUUUUGUGAAUACUGG	2191
AD-292606.1	usustuuugdTadTucuggguucaL96	1602	usdGsgadCcdCagudTudCacaaasasu	1897	AGUUUUUGUAAUACUGGGUUCU	2192
AD-292607.1	usustuuugdTadTucuggguucaL96	1603	asdTsgadAadCagudTudTacaasasa	1898	UUUUUGUGAAUACUGGGUUCAC	2193
AD-292610.1	usgsuagaadCudGgucuccaaL96	1604	usdTsgdTgdAaccdTadTaucacasa	1899	UUUGUGAAUACUGGGUUCACCAA	2194
AD-292612.1	usgsaauacudGgdGuucaccaaaL96	1605	usdTsuadGdTgaadCcdAguuacsasa	1900	UGUGAAUACUGGGUUCACCAAA	2195
AD-292613.1	gsasuaucudGgdTucacaaaalL96	1606	usdTsuadTgdGugaadCcdCaguanucasa	1901	GUGAAUACUGGGUUCACCAAAA	2196
AD-292614.1	asasuaucudGgdTucacaaaalL96	1607	asdTsuadTudGugaadAadCaguanucasa	1902	UGAAUACUGGGUUCACCAAAA	2197
AD-292615.1	asasuaucudGgdTucacaaaalL96	1608	asdTsuadTgdGugaadAadCaguanucasa	1903	GAUACUGGGUUCACCAAAA	2198
AD-292616.1	usascuagggdTcdAccaaaauuL96	1609	asdGsgadTudTugudGadAccaguuusu	1904	AAUACUGGGUUCACCAAAA	2199
AD-292624.1	uscsaacaadAadTcaagacaaL96	1610	usdTsgudGdTuggdTudTugugasa	1905	GUUCACCAAAAUCCAAGCACAA	2200
AD-292625.1	csasccaadAadCcaagcacaalL96	1611	asdTsgdTgdCuagdTudTuuuggsasa	1906	UUCACCAAAAUCCAAGCACAA	2201
AD-292629.1	asasaaucdTadGcacaagaauL96	1612	usdAaadCudTgugdTudGgaunuuusg	1907	CCAAAAUCCAAGCACAAAGAU	2202
AD-292630.1	asasaaucdTadGcacaagaauL96	1613	asdTsaadTcdTugudCudTggaunuuusg	1908	CAAAAUCCAAGCACAAAGAU	2203
AD-292631.1	asasaaucdTadGcacaagaauL96	1614	asdAaadAadCungdTadTuggaunuuusg	1909	AAAAUCCAAGCACAAAGAU	2204
AD-292634.1	uscsaagcaadCcdAgaunuuugcuL96	1615	asdGscdTadAauudTgdTgcuuggsasu	1910	AAUCCAAGCACAAAGAU	2205
AD-292638.1	asgscaagdTadTaugccuagauL96	1616	usdAaadGdTcauadAadCungcuusg	1911	CAAGCACAAAGAU	2206
AD-292639.1	gscaacaagdTadTaugccuagauL96	1617	asdTsaadAadGcacaadAadTcuuggsasu	1912	AAGCACAAAGAU	2207
AD-292640.1	csascaagdTadTgcccugauuL96	1618	asdAaadAadGcacaadAadTcuuggsasu	1913	AGCACAAAGAU	2208
AD-292641.1	ascsaagaadAadGcccugauuL96	1619	asdAaadAadAagcdAadAauucuuusg	1914	GCACAAAGAU	2209
AD-292642.1	csasagaadTgdGccuagauuL96	1620	asdCsaadTadCagcdCcdTaaucuuusg	1915	CACAAAGAU	2210
AD-292646.1	asusuaugcdCudGuaugggauL96	1621	asdTsuadCcdAuaadAadGcacaunucsu	1916	AGAUUUGGCCUUAUUGGAGAC	2211
AD-292650.1	usgsccuagdTadTggagacagaL96	1622	asdTsuadCudCuccadAadAagcccasu	1917	UUGGCCUUAUUGGAGACAGAU	2212
AD-292651.1	gscccuagdTadTggagacagaL96	1623	asdAaadTgdTuccdTadTaaucuuusg	1918	AUGGCCUUAUUGGAGACAGAU	2213
AD-292652.1	gscccuagdTadTggagacagaL96	1624	usdCsaadCudGuccdTadAuaucuuusg	1919	UGGCCUUAUUGGAGACAGAU	2214
AD-292667.1	asgsaagaagdTcdGuaagaagcuL96	1625	asdGsaadTadCuaadGadCuaucuuusg	1920	ACAGAUAGAUUGGAGACAGAU	2215
AD-292668.1	gsasagaagdTcdTaaagaagcuL96	1626	asdAaadCudTcuadCcdAuaucuuusg	1921	CAGAUAGAUUGGAGACAGAU	2216
AD-292671.1	gsasagaagdTadGaaagcuagauL96	1627	usdAaadAadAauudTadAuaucuuusg	1922	AUGAAGUUAAGAGAGUUA	2217
AD-292673.1	asgsuagaadGadAguuagauagaL96	1628	usdCsaadTcdAgaadTcdTuaucuuusg	1923	GAAGUUAAGAGAGUUA	2218

10

20

30

40

50

【表 10 - 5】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-292677.1	gsusaagaagdTcdTgaugaugaaL96	1629	usdCscadTcdTaucadGadCuuuuuacgsa	1924	UCGUAAAGAAAGUCUGAUAGAUGGA	2219
AD-292678.1	usasagaagudCudGauauggaaL96	1630	usdTscadAudCuaudAgaActuuuacsg	1925	CGUAAAGAGUCUGAUAGAUGGAA	2220
AD-292679.1	asasagaugcdTgdAuauggaaL96	1631	asdTscudCadTcuadCadGacuuuacsa	1926	GUAAGAAAGUCUGAUAGAUGGAAU	2221
AD-292680.1	asgsaagucudGadTagauggaaL96	1632	usdAaagudCudAueadTcdGacuuuacsa	1927	UAAGAAAGUCUGAUAGAUGGAAU	2222
AD-292681.1	gsasagucudAudAgauggaaL96	1633	asdTsaudTcdCauudAudCagacuuacsa	1928	AAGAAGUCUGAUAGAUGGAAUAC	2223
AD-292682.1	asasgucgudTadGauggaauacL96	1634	asdTsaudTcdCauudAudCagacuuacsa	1929	AGAAGUCUGAUAGAUGGAAUACU	2224
AD-292684.1	gsuscgaugadGadTgaauauctuaL96	1635	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1930	AAGUCUGAUAGAUGGAAUACUUA	2225
AD-292685.1	uscsugaugadAudGgaauauctuaL96	1636	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1931	AGUCUGAUAGAUGGAAUACUUA	2226
AD-292691.1	asgsauggaadTadCuaaauaaL96	1637	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1932	AUAGAUGGAAUACUUAACCAUAA	2227
AD-292692.1	gsasugaugadAcdTuaaauaaL96	1638	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1933	UAGAUGGAAUACUUAACCAUAA	2228
AD-292693.1	asusggaugadCudTaccuaaagaL96	1639	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1934	AGAUGGAAUACUUAACCAUAA	2229
AD-292694.1	usgsaauacdTadCcaauaagaL96	1640	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1935	GAUGGAAUACUUAACCAUAA	2230
AD-292695.1	gsasauacudTadCcauaagaL96	1641	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1936	AUGGAAUACUUAACCAUAA	2231
AD-292696.1	gsasauacudAcdCaaagaagaL96	1642	usdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1937	UGGAAUACUUAACCAUAA	2232
AD-292697.1	asasauacudCcdAuaagaagaL96	1643	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1938	GGAUACUUAACCAUAA	2233
AD-292725.1	gsusuccauctadTaucuaauacL96	1644	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1939	UUGUCCAUUGUAUACCAUAA	2234
AD-292726.1	ususcgaugdTadTaucuaauacL96	1645	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1940	UGUCCAUUGUAUACCAUAA	2235
AD-292727.1	uscsauctadTadTaucuaauacL96	1646	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1941	GUUCCAUUGUAUACCAUAA	2236
AD-292728.1	cscauctadTadTaucuaauacL96	1647	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1942	UUCUCCAUUGUAUACCAUAA	2237
AD-292757.1	ascsagaugdTadCuaucugaacL96	1648	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1943	CUACAGAAGUUUCCUCCUGAACG	2238
AD-292759.1	asgsaaguuudCudTccugaacgcL96	1649	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1944	ACAGAAGUUUCCUCCUGAACGCG	2239
AD-292761.1	asasgaaucdTcdCugaacgcgcL96	1650	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1945	AGAAGUUUCCUCCUGAACGCGCC	2240
AD-292766.1	uscsuuccudAadCgcgcgcgcL96	1651	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1946	UUUCCUCCUGAACGCGCGCUCAGC	2241
AD-292787.1	gsasuuuaadAudCgungcagaL96	1652	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1947	GCGAUUUUAAAUCGUAUGCAGAA	2242
AD-292788.1	asusuuuaadTcdGuaugcagaL96	1653	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1948	CGAUUUUAAAUCGUAUGCAGAAU	2243
AD-292789.1	usuuuaadCgdTaugcagaL96	1654	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1949	GAUUUUAAAUCGUAUGCAGAAU	2244
AD-292793.1	asasaugudTgdCagaauuacL96	1655	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1950	UUAAAUCGUAUGCAGAAUUA	2245
AD-292795.1	asuscgaugdTadGuaauuacL96	1656	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1951	AAUCCGUAUGCAGAAUUAUUA	2246
AD-292796.1	uscsuugudAadGuaauuacL96	1657	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1952	AAUCCGUAUGCAGAAUUAUUA	2247
AD-292797.1	csgsuugudAadGuaauuacL96	1658	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1953	AUCGUAUGCAGAAUUAUUA	2248
AD-292800.1	asusgagaadTadTuaauuagL96	1659	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1954	GUAGCAGAAUUAUUAUUA	2249
AD-292802.1	gsasagaauadTadCaaauuagL96	1660	asdTsaudTcdTuccadTcdTaucagacsa	1955	AUGCAGAAUUAUUAUUA	2250

10

20

30

40

50

【表 10 - 6】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-292806.1	asasuuuacudAudTugaagcaguuL96	1661	asdAcsudGcdTuaadAudTgaauuuuscu	1956	AGAAUAUUCAAUUUGAAGCAGUG	2251
AD-292808.1	usasuuacudTudGaagcaguguuL96	1662	asdCscadCudGcuudCadAuuagaauasuu	1957	AAUAUUCAAUUUGAAGCAGUGGU	2252
AD-292870.1	gsasuguaugdCadTgaauaagaualL96	1663	usdAsudAudTtauedTgdCaucauucsuc	1958	GAGUUAUGCAUGAUAAUAGUAU	2253
AD-292893.1	asasuaguuudCgdAaucauuguuL96	1664	asdAsgcdTadTgauidCgdAaucauucsuc	1959	UGAAUAUUGUUGCAUAAUAGUGUG	2254
AD-292906.1	csasauugcugdCadAagcuuauuuL96	1665	asdAcsudAudTgauidTgdCagcuuugasu	1960	AUCAUUGCUGCAAGCUGUUUAU	2255
AD-292915.1	asasauugcuudAudTuaacauuuuuL96	1666	asdAcsudAudTgauidAudAaagcuuugsc	1961	GCAAAGCUUUUUUACACAUUUUU	2256
AD-292935.1	asasaacaudTgdGuuuggcacuaL96	1667	usdAsgudGcdCaacudCadAuuuuuuasa	1962	UUAAAACAUUGGUUUUGGCACUA	2257
AD-292936.1	asasaacaudGgdTuuuggcacuaL96	1668	asdTsgdTgdCcaadCcdAauuuuuusasa	1963	UUAAAACAUUGGUUUUGGCACUAG	2258
AD-292967.1	ascsagaacudGadTuaauuacuuL96	1669	asdAsgcdTadAuaadTcdTuuuucguusuu	1964	UAACGAACAAGAUAAUUAUACCUUG	2259
AD-292970.1	ascsagaacudTadAuuuacuguuL96	1670	asdGscadAgdGuaudTadAuuuucguusg	1965	CGAAACAAGAUAAUUAUACCUUGU	2260
AD-292974.1	asgsauuaudTadCcuugucuuL96	1671	asdGsgadAgdAcagdTadAuuuauucsu	1966	CAAGAUAUUUACCUUGUCUUCU	2261
AD-292975.1	gsasuuuaudAcuCugucuuuuL96	1672	asdAsggdAudGacagdTadAuuuauucsu	1967	AAGAUAUUUACCUUGUCUUCUUG	2262
AD-292978.1	usasuuuaccdTgdTuuuucguuuL96	1673	asdAcsudAgdGaaadCadGuaauuuaasa	1968	AUUAAUUAUACCUUGUCUUCUUGU	2263
AD-292979.1	asasuuaacudGudCuucuguuuL96	1674	gsdAcsadCadGaaadCadAagguuuaasa	1969	UUAAUUAUACCUUGUCUUCUUGU	2264
AD-292980.1	asusuaccugdTcdTuuuuguuuuL96	1675	asdGsaadCadAagadGadCagguuuaasa	1970	UAAUUAUACCUUGUCUUCUUGU	2265
AD-292981.1	usuuaccugudCudTcuuuguuuuL96	1676	asdAsgadAadCagadAadAagguuuaasa	1971	AAUUAUACCUUGUCUUCUUGU	2266
AD-292982.1	usuuaccugudTudCuuguuuuL96	1677	usdGsgdTadAadCagadAadAagguuuaasa	1972	AUUUAUUAUACCUUGUCUUCU	2267
AD-292983.1	ascsuugucudTcdCuuguuuuL96	1678	usdTsagdTadAacagdTadAagcagguuasa	1973	UUUAUUAUUAUACCUUGUUCUCAA	2268
AD-292984.1	cscsuugucudCcdTguuucuuuuL96	1679	usdTsgdTadAacagdTadAagcagguuasa	1974	UACCUUGUCUUCUUGUUCUUCUAA	2269
AD-293027.1	gsuugucuuudTudTcuuucuuuuL96	1680	usdCsaudGadAagadAadAagcagguuasa	1975	UAGGUUGUUCUUCUUCUUCUAA	2270
AD-293028.1	gsuugucuuudTudCuucuuuuuuL96	1681	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1976	AGGUUGUUCUUCUUCUUCUUCUAA	2271
AD-293034.1	usuuuucuuudTcdAuuuucuuuuL96	1682	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1977	GUUUUUCUUCUUCUUCUUCUUCUAA	2272
AD-293037.1	uscsuucuuudTgdCuucuuuuuuL96	1683	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1978	UUUUUUCUUCUUCUUCUUCUUCUAA	2273
AD-293039.1	csuuuucuuudTcdTuuuuaaauL96	1684	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1979	UCCUUUCUUCUUCUUCUUCUUCUAA	2274
AD-293099.1	usuuuucuuudTadTaaagguuuL96	1685	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1980	UUUUUUCUUCUUCUUCUUCUUCUAA	2275
AD-293153.1	ascsuuaudTadCagagguuuL96	1686	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1981	AGAAUUAUUUACACAGGGAAGG	2276
AD-293156.1	usuuuucuuudCcdAagagguuuL96	1687	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1982	ACUUUAUUUACACAGGGAAGG	2277
AD-293162.1	ascsuuaudTadGguuuaaguuL96	1688	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1983	UUACACAGGGAAGGGAAGG	2278
AD-293163.1	csasauuudTadGguuuaaguuL96	1689	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1984	UACACAGGGAAGGGAAGG	2279
AD-293166.1	asgsuuaudTadTaaagguuuL96	1690	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1985	ACAGGGAAGGGAAGGGAAGG	2280
AD-293167.1	gsuuaagguudTadAagcagguuuL96	1691	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1986	CAGGGAAGGGAAGGGAAGG	2281
AD-293168.1	gsuuaagguudTadAagcagguuuL96	1692	usdTsgdTadAagadAadAagcagguuasa	1987	AGGGAAGGGAAGGGAAGG	2282

10

20

30

40

50

【表 10 - 7】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-293169.1	gsasagguuudAadGacuguucaauL96	1693	asdTtsugdAadCagudTudAaacuucscsc	1988	GGGAAGGUUUAAAGACUGUUUCAAG	2283
AD-293170.1	asasgguuuadAadAcuguucaaguL96	1694	asdCtsudGadAcagudCudTtaacuucscsc	1989	GGAAAGGUUUAAAGACUGUUUCAAGU	2284
AD-293171.1	asgsuuuadGadCuguucaaguL96	1695	usdAseudTgdAacagdTudTtaacuucscsc	1990	GAGGUUUAAAGACUGUUUCAAGUA	2285
AD-293172.1	gsgsuuuagadAadTguucaaguauL96	1696	asdTtsagdTudGaacadGudCuuaaaccscsu	1991	AAAGGUUUAAAGACUGUUUCAAGUAG	2286
AD-293174.1	usuuuagadTgdTuucaaguagcaL96	1697	usdGseudAadTtugaadCadCucuuaaaccsc	1992	GGUUUUAAAGACUGUUUCAAGUAGCA	2287
AD-293176.1	usasaagugdTudCaaguagcauuL96	1698	asdAasgdCudAcungadAadCagucuuuasa	1993	UUUAAGACUGUUUCAAGUAGCAUU	2288
AD-293177.1	asasgacugdTcdAaguagcauuuL96	1699	asdAasudGadTtucudGadAcagucuuuasa	1994	UUAAAGACUGUUUCAAGUAGCAUUC	2289
AD-293178.1	asgsacugudCadAguagcauuuL96	1700	asdGsaadTgdCtuadTgdAacagucuuuasa	1995	UAAGACUGUUUCAAGUAGCAUUC	2290
AD-293179.1	gsascuguuadAadGuaagcauucaL96	1701	usdTsagdAadGcuadCudTgaacagucuuu	1996	AAGACUGUUUCAAGUAGCAUUC	2291
AD-293180.1	asesuguuadAadTgaagcauucaL96	1702	usdTsagdAadTtucadCudTgaacagucuu	1997	AGACUGUUUCAAGUAGCAUUC	2292
AD-293181.1	csusuuuadGadAgaucuucauuL96	1703	asdTtsugdGadAucudAadTugaacaguc	1998	GACUGUUCAAGUAGCAUUC	2293
AD-293182.1	usgsuuuagdTadGauuuccauuL96	1704	asdAasudGadAaugdTadCungaacagsu	1999	ACUGUUUCAAGUAGCAUUC	2294
AD-293183.1	gsusuuuagdTadGauuuccauuL96	1705	asdGsaadTgdGauuagdTadCungaacagsu	2000	CUGUUCAAGUAGCAUUC	2295
AD-293184.1	ususcagudGadAuuuccauuL96	1706	asdAasgdTudGgaudGedTtucugaaacsa	2001	UGUUCAAGUAGCAUUC	2296
AD-293186.1	csasagugadAadTccauuuguaL96	1707	usdAseadGadTugadAadCtucuuuagsa	2002	UUCAAGUAGCAUUC	2297
AD-293187.1	asasguagadTudCcauueuguaL96	1708	asdTtsagdAadAuuagdTadTgaucuuuagsa	2003	UCAAGUAGCAUUC	2298
AD-293191.1	asgsauuadAadTcuguaagcauL96	1709	asdTtsagdCudAcagdTadGgaucuuuag	2004	GUAGCAUUC	2299
AD-293218.1	gsasauuadAadAgaacacagcaL96	1710	usdCtsudTgdTtucudGudTgaucuuuag	2005	CAGAAUUC	2300
AD-293228.1	asasgaacdTadAaagagugcauL96	1711	asdTtsagdAadTcauudCudGuguuuag	2006	ACAAGAACACAGAAUGAGUGCAC	2301
AD-293230.1	gsasacacagdTadTgaugugcauL96	1712	asdTtsugdGedAacudTudCuguuuag	2007	AAGAACACAGAAUGAGUGCACAG	2302
AD-293231.1	asascacagdTadGagugacagcaL96	1713	asdCtsudTgdCacudAadTtuguuuag	2008	AGAACACAGAAUGAGUGCACAGC	2303
AD-293235.1	csasgaugadGudGacagucuaauL96	1714	asdTtsudGedTtugudAadTtucuuuag	2009	CACAGAAUGAGUGCACAGCUAAG	2304
AD-293271.1	asgsagagdTudAucuaaaccuuL96	1715	asdAasgdTudGagadAadAagucuuuag	2010	GCAGGCAGCUUUUUCUACACCUG	2305
AD-293273.1	gsasagcuudAadCuaaaccuagcaL96	1716	usdCtsadGedTugadAadAagucuuuag	2011	AGGCAGCUUUUUCUACACCUGGA	2306
AD-293306.1	ususcagcaudTudGaaagauuL96	1717	asdGsaadAadCuuedAadAagucuuuag	2012	GAUUCAGCAUUGAAAGAUUUC	2307
AD-293309.1	asgsacuuuadAadAgaauuuccuL96	1718	usdAasgdGadAauudTudCaaauuag	2013	UCAGCAUUGAAAGAUUUC	2308
AD-293311.1	csasuuuagadAadAuuuuccuagcaL96	1719	asdCtsudGedGaaadCudTtucuuuag	2014	AGCAUUGAAAGAUUUC	2309
AD-293312.1	asusuuuagadGadTuuuuccuagcaL96	1720	asdGseudAadGgaadTadTuuuauag	2015	GCAUUGAAAGAUUUC	2310
AD-293315.1	usgsaaagadTudCcuuagccuuL96	1721	asdGsaadGedTtugadAadAuuuuccasa	2016	UUUGAAAGAUUUC	2311
AD-293316.1	gsasaaagadTadCcuuagccuuL96	1722	asdAasgdGedCugagdTadAuuuuccasa	2017	UUGAAAGAUUUC	2312
AD-293323.1	ususcacagdTadTuuuuccuuuL96	1723	asdAasadAadGaaagdTadCuuuagga	2018	AUUUCCUAGCUUUCU	2313
AD-293353.1	asasacggudGedAacuuuuccuL96	1724	asdGsaadTadGagudGedAcuuuugsg	2019	CCAAACGGUGCAACUCU	2314

10

20

30

40

50

【表 10 - 8】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標の配列、5'から3'へ	配列番号
AD-293354.1	asasacggugdCadAcucuaucuuL96	1725	asdAsgadAudAgagudTgdCaccgmuusug	2020	CAAAACGGUGCAACUCUAUUCUG	2315
AD-293355.1	asascggugedAadCueuaucugul96	1726	asdCsgadAadTtagadTudGgaccgmuusuu	2021	AAAACGGUGCAACUCUAUUCUGG	2316
AD-293358.1	gsgugcgaacdTcdTaucucggacul96	1727	asdGsuacdCadGaauadCadGuugcaccsgsu	2022	ACGGUGCAACUCUAUUCUGGACU	2317
AD-293359.1	gsguacacudCudAuuucggacul96	1728	asdAsgudCcdAgaadAgdAauagcaccsg	2023	CGGUGCAACUCUAUUCUGGACUU	2318
AD-293360.1	usgsaaccudTadTucugacuuL96	1729	asdAsgdTcdCagadTadGagunccascsc	2024	GGUGCAACUCUAUUCUGGACUUU	2319
AD-293361.1	gscsaacucudAudTcuggacuuL96	1730	usdAaadGudCagadAudAgagunccasc	2025	GUGCAACUCUAUUCUGGACUUUA	2320
AD-293362.1	csasacucuaudTudCuggacuuL96	1731	asdTsaadAadTccagAadTtagunccscsa	2026	UGCAACUCUAUUCUGGACUUUAU	2321
AD-293363.1	asascucuaudTcdTggacuuL96	1732	asdAaadAadGucccadGadAuaagunccsc	2027	GCAACUCUAUUCUGGACUUUAU	2322
AD-293364.1	ascscuaauudCudGgacuuL96	1733	usdAasadAadAgucccdAgdAuaagunccsc	2028	CAACUCUAUUCUGGACUUUAUUA	2323
AD-293365.1	csuscuaucudTgdGacuuL96	1734	asdTsaadTadAagudCadGaunagcgsuu	2029	AACUCUAUUCUGGACUUUAUUA	2324
AD-293368.1	usasuucuggdAcdTuuuL96	1735	asdAsgdTadAuaadGudCagaauagcsa	2030	UCUAUUCUGGACUUUAUUAUUAU	2325
AD-293369.1	asusucuggdCudTuuuL96	1736	usdCsaadGudAuaadAadTccagaauagcsa	2031	CUAUUCUGGACUUUAUUAUUAU	2326
AD-293370.1	ususcuggdTudTuuuL96	1737	asdTscadAadTaaudAadGuccagaasusa	2032	UAUUCUGGACUUUAUUAUUAUUAU	2327
AD-293410.1	usgsaagucdAcdCaaaguggaL96	1738	asdTscadAcdTuuudGudGgacucagcsa	2033	UCUGAAGUCCACCAAAAGUGGAC	2328
AD-293419.1	cscsaagudGgdAaccucuaL96	1739	asdTsaadAadAggudCcdAauunngcsug	2034	CACCAAAAGUGGACCCUCUAUUA	2329
AD-293420.1	csasaagugdGadCccucuaL96	1740	asdAasadTadGaggdTcdCacuuunngcsu	2035	ACCAAAAGUGGACCCUCUAUUAU	2330
AD-293422.1	asasaguggdCcdCucuaL96	1741	gsdAasadTadTtaggdGgdTccacuuunng	2036	CAAAAGUGGACCCUCUAUUAUUAU	2331
AD-293423.1	asasaguggdCcdTuuuL96	1742	asdGsaadAudAuaadGgdGuccacuuusuu	2037	AAAAGUGGACCCUCUAUUAUUAU	2332
AD-293530.1	csusucuaudTadTcucugucul96	1743	asdGsgadCcdAagadTadTaugaagcsa	2038	UGCUUUCUAUUAUUCUUGGUC	2333
AD-293532.1	ususcuaudTcdCungucul96	1744	asdTsggdGadCgaagGadTaaugagcsa	2039	CUUUCUAUUAUUCUUGGUC	2334
AD-293554.1	gsasuguuadGadCaauuL96	1745	asdCscudAadAauudTcdTaaacucusc	2040	GAGAUUUUAGACAUAUUUAGGC	2335
AD-293555.1	asusgumuadAcdAauuL96	1746	asdGscudTadAauudGudCuuaacucsu	2041	AGAUGUUUAGACAUAUUUAGGC	2336
AD-293557.1	gsusuaagcdAadTuuuL96	1747	usdGsgadCcdTaaadTudGucuaacsa	2042	AUGUUUAGACAUAUUUAGGC	2337
AD-293558.1	ususuagacdAudTuuuL96	1748	usdTsagdGcdCuuaadAudTgucuaacsa	2043	UGUUUAGACAUAUUUAGGC	2338
AD-293559.1	ususuagacdTudTuuuL96	1749	usdTsagdAadCcuadAadTugucuaacsa	2044	GUUUAGACAUAUUUAGGC	2339
AD-293560.1	usasgacaadTudTaggucuaL96	1750	usdTsagdGcdCuuaadAudTgucuaacsa	2045	UUUAGACAUAUUUAGGC	2340
AD-293562.1	gsascaauudTadGgucuaL96	1751	asdTsagdTadGagcdTadAauuL96	2046	UAGACAUAUUUAGGC	2341
AD-293569.1	usisagucudAadAauuL96	1752	asdGscudTudAauudTudGagcuaacsa	2047	UUUAGGCUCAAAAUUUAAAGCU	2342
AD-293570.1	usasggucadAadAauuL96	1753	usdAsgcdTudTaaudTudGagcuaacsa	2048	UUUAGGCUCAAAAUUUAAAGCU	2343
AD-293571.1	asgscucaadAadAuuuL96	1754	usdTsagdCudTuuudTudTugagcuaacsa	2049	UUAGGCUCAAAAUUUAAAGCU	2344
AD-293572.1	gsgscucaadAadTuuuL96	1755	asdTsagdGcdTuuuadTudTugagcuaacsa	2050	UAGGCUCAAAAUUUAAAGCU	2345
AD-293573.1	gscscucaadAudTaaagcuaL96	1756	usdGsuudAadCuuuadAudTuuuL96	2051	AGGCUCAAAAUUUAAAGCU	2346

10

20

30

40

50

【表 10 - 9】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-293574.1	csuscaaaaadTudAaagcuuaacul.96	1757	asdTsgndTadGcunndAudTunungagsgsc	2052	GGUCUAAAAAUUAAAGCUAACAC	2347
AD-293575.1	uscsaaaaadTadAagcuuaacul.96	1758	usdGsgndTudAagcuudTadAunuuugagsgc	2053	GCUCAAAAUUUAAAGCUAACACA	2348
AD-293576.1	csasaaaaudAadAagcuuaacul.96	1759	asdTsgndGudTageudTudAunuuugagsgc	2054	CUCAAAAUUUAAAGCUAACACAG	2349
AD-293579.1	asasaaaaadGcdTaaacaggaal.96	1760	usdTsgcdTgdTageudGcdTunuuuuusuu	2055	AAAAUUUAAAGCUAACACAGGAA	2350
AD-293586.1	asgsuuuaadCadGgaagaaggaal.96	1761	asdTsgcdTgdTageudGcdTageuagcuusuu	2056	AAAGCUAACACAGGAAAAGGAAC	2351
AD-293589.1	usasaacagadGadAagaagaacul.96	1762	asdCsgadTudCcuudTcdCuguuuagsgc	2057	GTUAAACACAGGAAAAGGAACUGU	2352
AD-293592.1	csascagggaadAadGgaagaacul.96	1763	asdGsuadCadGcuudTudTuccuugsgsuu	2058	AACACAGGAAAAGGAACUGUACU	2353
AD-293594.1	csasgggaadGgdAagcuuaacul.96	1764	asdCsgadTadGcuudTcdTageuagcuusuu	2059	CACAGGAAAAGGAACUGUACUGG	2354
AD-293601.1	asgsuagaadTadCugcuuaacul.96	1765	asdTsgadTadGccagTadCaguuuagsgsu	2060	AAAGGAACUGUACUGGCUAUUAC	2355
AD-293602.1	gsasgaacudAcdTggcuuaacul.96	1766	usdGsuadAudAgecadGudAagaauuagsgsu	2061	AAGGAACUGUACUGGCUAUUACA	2356
AD-293872.1	csasgaacudAcdTaaacaggaal.96	1767	asdTsgcdTgdAagcuudGudGgaagaagsgsa	2062	UCCGACUCCACUACUACAAGAC	2357
AD-293875.1	csuscecaudAcdAucagaacul.96	1768	usdTsgcdTgdTageudGudAaggaagsgsu	2063	GACUCCACUACUACAAGACUAA	2358
AD-293876.1	uscscaacudCadTaaagaacul.96	1769	asdTsgadGudCuuagdTgdTageuagsgsu	2064	ACUCCACUACUACAAGACUAAU	2359
AD-293877.1	csescacuadAudCaagaacul.96	1770	asdAauadAgdTcuagdTudGuaugagsgsu	2065	CUCCACUACUACAAGACUAAUC	2360
AD-293878.1	csescacuadTcdAagaacul.96	1771	asdGsuadTadGcuudGudTageuagsgsu	2066	UCCACUACUACAAGACUAAUCU	2361
AD-293879.1	csascuacudCadAgaacul.96	1772	asdAsgadTudAagcuudTgdAaggaagsgsu	2067	CCCACUACAACAAGACUAAUCUU	2362
AD-293880.1	ascsuacaudAadGacuuaacul.96	1773	asdAsgadTadGcuudTudGuaugagsgsu	2068	CCACUACAACAAGACUAAUCUUG	2363
AD-293882.1	csuscauadAadAgaacul.96	1774	asdCsaadGadTageudTudTageuagsgsu	2069	CACUACAACAAGACUAAUCUUGU	2364
AD-293883.1	usascuacudGadCuuaacul.96	1775	asdAsgadTadAagcuudTgdTageuagsgsu	2070	ACUACAACAAGACUAAUCUUGU	2365
AD-293898.1	uscsuagaadTadTaaacaggaal.96	1776	asdAsgadTadGcuudGudCuuaggaagsgsu	2071	CUACAACAAGACUAAUCUUGUUU	2366
AD-293902.1	gsusguuuudCadCaggaacul.96	1777	asdTsgadTadGcuudGudAagaacul.96	2072	UUUUGUGUUUUUACAAGUAAU	2367
AD-293909.1	uscsaagcuudTadAagaacul.96	1778	usdAsgadTadGcuudGudAagaacul.96	2073	GUGUGUUUUUACAAGUAAUAAU	2368
AD-293910.1	csascuagadTadAagaacul.96	1779	asdGsgadTadCuuadAudAagaacul.96	2074	UUUACAAGUAAUAAAGAAUGCU	2369
AD-293914.1	usgsuauuadAadAagaacul.96	1780	asdAsgadTadCuuadAudAagaacul.96	2075	UUCACAGUAAUAAAGAAUGCUU	2370
AD-293915.1	gsusauuadGadAagaacul.96	1781	usdCsaadAadGcuudTudAagaacul.96	2076	CAUGUAAUAAAGAAUGCUUUUUGC	2371
AD-293919.1	usasaagaadGcdTuuuaggaal.96	1782	usdGsgadAadAagaacul.96	2077	AUUAAUAAAGAAUGCUUUUUGCA	2372
AD-293922.1	asgsaagcuudTadTageuaggaal.96	1783	usdCsgadTadCaaadGcdAagaacul.96	2078	AUUAAUAAAGAAUGCUUUUUGCA	2373
AD-293923.1	gsasaagcuudTadTageuaggaal.96	1784	usdAsgadTadCaaadGcdAagaacul.96	2079	AUAGAAGCUUUUUGCAUGGACUA	2374
AD-293928.1	asusgaacudTadTageuaggaal.96	1785	usdTsgadTadCaaadGcdAagaacul.96	2080	UAGAAGCUUUUUGCAUGGACUAU	2375
AD-293928.1	csusgaacudTadTageuaggaal.96	1786	usdGsuadAadTageuaggaal.96	2081	GAAGCUUUUUGCAUGGACUAUCC	2376
AD-293931.1	usgsuagaadTadTageuaggaal.96	1787	usdGsgadTadTageuaggaal.96	2082	UGCUUUUUGCAUGGACUAUCCUCU	2377
AD-293931.1	usgsuagaadTadTageuaggaal.96	1788	usdCsaadGadGgaadGudCagaacul.96	2083	UUUUGCAUGGACUAUCCUCUUGU	2378

10

20

30

40

50

【表 10 - 10】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列番号	m RNA標的配列、5'から3'へ	配列番号
AD-293932.1	usgscauggaadCudAuccueuuguuL96	1789	asdAascdAgdAggaadAgdTccaugcasasa	2084	UUUGCAUGGACUAUCCUCUUGUU	2379
AD-293933.1	gsesauggaacdTadTccueuuguuL96	1790	asdAascdAadGaggadTadGuccaugsasa	2085	UGCAUGGACUAUCCUCUUGUU	2380
AD-293934.1	esasauggaacudAudCceueuuguuL96	1791	asdAascdCadAgaggaAudAguccaugscsa	2086	UGCAUGGACUAUCCUCUUGUUU	2381
AD-293935.1	asusggacuadTcdCueuuguuuuL96	1792	asdAascdAcdAagagdTadTaguccaugsc	2087	GCAUGGACUAUCCUCUUGUUUU	2382
AD-293936.1	usgsaacuaudCcdTcuuguuuuuuL96	1793	usdAascdAadCaagadGgdAuaiguccasug	2088	CAUGGACUAUCCUCUUGUUUUUA	2383
AD-293937.1	gsaacuaudCudCuuguuuuuuL96	1794	asdTsaadAadAcaagdTadGauaguccsasu	2089	AUGGACUAUCCUCUUGUUUUUAU	2384
AD-293938.1	gsaseuaucedTcdTuguuuuuuuuL96	1795	asdAascdAadAacaadGadGgaugaguccsa	2090	UGGACUAUCCUCUUGUUUUUAU	2385
AD-293940.1	esusaucedTudGuuuuuuuuL96	1796	usdTsaadTadAaaadAadGaggaugusc	2091	GACUAUCCUCUUGUUUUUAUUA	2386

* 標的: HSD17B13

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 1】

表11.HSD17B13 NonF DNAの修飾されていない配列*

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-291929.1	ACACAAGGACTGAACCAAGAAU	2387	25-45	ATUCTGGUUCAGUCCUUGUAG	2682	23-45
AD-291931.1	ACAAGGACTGAACCAAGAAAGGA	2388	27-47	UCCUTCTGGUUCAGUCCUUGUGU	2683	25-47
AD-291988.1	UCCUUCUGCUTUGAUAACCA	2389	85-105	UGGUAATCAGAAGCAGAAGGAU	2684	83-105
AD-291993.1	CUGCUUCUGATCACCAUCAU	2390	90-110	AUGAUGGUGATCAGAAGCAGAA	2685	88-110
AD-291998.1	UCUGAUCACCAUCAUCAU	2391	95-115	AAGUAGUAGUAGGTGAUCAGAA	2686	93-115
AD-292005.1	ACCAUCAUCAUCCUACU	2392	102-122	AAAGTAGGAGUAGUAGUAGGUGA	2687	100-122
AD-292006.1	CCAUAUCTACUCCUACUUGU	2393	103-123	ACAAGUAGGAGTAGUAGUAGUGG	2688	101-123
AD-292007.1	CAUCAUUAUCCUACUUGGA	2394	104-124	UCCAAGTAGGAGUAGUAGUAGGUG	2689	102-124
AD-292008.1	AUCAUUAUCCUACUUGGAU	2395	105-125	ATCCAAGUAGGAGTAGUAGUAGG	2690	103-125
AD-292010.1	CAUCAUUAUCCUACUUGGAU	2396	107-127	AACUCCAAAGUAGGAGTAGUAGU	2691	105-127
AD-292012.1	UCUACUCCUACUUGGAGU	2397	109-129	ACGACUCCAAAGTAGGAGTAGUAG	2692	107-129
AD-292013.1	CUACUCCUACUUGGAGU	2398	110-130	AACGACTCCAAGUAGGAGTAGUAG	2693	108-130
AD-292014.1	UACUCCUACUUGGAGU	2399	111-131	AAACGACUCCAAAGTAGGAGTAGA	2694	109-131
AD-292015.1	ACUCCUACUUGGAGU	2400	112-132	ACAACGACUCCAAAGTAGGAGTAG	2695	110-132
AD-292017.1	UCCUACUUGGAGU	2402	114-134	AACCAACGACUCCAAAGTAGGAG	2697	112-134
AD-292028.1	GUCGUUGGTGAAGUUUUCAU	2403	125-145	ATGAAAACUUUCCACCAACGACUC	2698	123-145
AD-292137.1	UUGGUUCUGUGGGAUUAUAAU	2404	252-272	ATUAAUAUCCACACAGAACCAUA	2699	250-272
AD-292140.1	GUUCUGUGGGAUUAUUAUAAU	2405	255-275	ATUATUAUAUCCACACAGAACCA	2700	253-275
AD-292143.1	CUGUGGATATUAUUAAGCGU	2406	258-278	ACGCTUAUUAATATCCACAGAA	2701	256-278
AD-292182.1	GCUGAGUGCCGAAACUAGGU	2407	297-317	ACCUAGTUUUCGGCACUCAGCUG	2702	295-317
AD-292183.1	CUGAGUGCCGAAACUAGGU	2408	298-318	AGCCTAGUUUUCGGCACUCAGCU	2703	296-318
AD-292185.1	GAGUGCCGAAACUAGGCGU	2409	300-320	AACGCCTAGUUUUCGGCACUCAG	2704	298-320
AD-292186.1	AGUGCCGAAACUAGGCGUCA	2410	301-321	UGACGCCUAGUTUTCGGCACUCA	2705	299-321
AD-292187.1	GUGCCGAAACUAGGCGUCAU	2411	302-322	ATGACGCCUAGTUTUCCGCACUC	2706	300-322
AD-292188.1	UGCCGAAACUAGGCGUCACU	2412	303-323	AGUGACGCCUAGTUTUCCGCACU	2707	301-323
AD-292189.1	GCCGAAACUAGGCGUCACU	2413	304-324	AAGUGACGCCUAGTUTUCCGCAC	2708	302-324
AD-292190.1	CCGAAACUAGGCGUCACU	2414	305-325	ACAGTGACGCCUAGTUTUCCGCAC	2709	303-325
AD-292238.1	CAGAGAAGAGAUUAUCGCU	2415	353-373	AAGCGATAGAUUAUCUUCUGU	2710	351-373
AD-292244.1	AGAGAUUAUCGCUUAUA	2416	359-379	UTUAGAGAGCGAUAGAUUCUUC	2711	357-379

10

20

30

40

50

【表 11-2】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-292245.1	GAGAUUATCGCUCUUAUUAU	2417	360-380	ATUUAAGAGCGCATAGAUCUCU	2712	358-380
AD-292247.1	GAUCUAUCGCTCUCUAAAUCA	2418	362-382	UGAUUUAGAGAGCGAUAGAUCUC	2713	360-382
AD-292248.1	AUCUAUCGCUCUCUAAAUCAU	2419	363-383	ATGATUTAGAGAGCGAUAGAUCU	2714	361-383
AD-292250.1	CUAUCGCUCUCUAAAUCAAGU	2420	365-385	ACUGATUUAGAGAGCGAUAGA	2715	363-385
AD-292251.1	UAUCGCTCTCTAAAUCAAGGU	2421	366-386	AACCTGAUUUAGAGAGCGAUAGA	2716	364-386
AD-292253.1	UCGCUCCTAAAUCAAGGUGAA	2423	368-388	UTCACCTGAUTAGAGAGCGGAUA	2718	366-388
AD-292254.1	CGCUCUCUAAAUCAAGGUGAAU	2424	369-389	ATUCACCUGAUTUAGAGAGCGAU	2719	367-389
AD-292257.1	UCUCUAAATCAGGUGAAGAAA	2425	372-392	UTUTUCACCUGAUTUAGAGAGCG	2720	370-392
AD-292309.1	AUGCUGGGACAGUAUAUCCAU	2426	424-444	ATGGAUAUAUCUGUCCAGCAUUA	2721	422-444
AD-292310.1	UGCUGGGACAGUAUAUCCAGU	2427	425-445	ACUGGATUAUACTGTCCAGCAU	2722	423-445
AD-292315.1	GGACAGUATATCCAGCGAUU	2428	430-450	AAUCGGGUGGATATACUGUCCCA	2723	428-450
AD-292318.1	CAGUAUAUCCAGCCGACUUAU	2429	433-453	AAAGAUCGGCUGGAUAUACUGUC	2724	431-453
AD-292344.1	ACCAAGGATGAAGAGAUUACU	2430	459-479	AGUAUUCUCUUCATCCUUGGUG	2725	457-479
AD-292345.1	CCAAGGAUGAAGAGAUUACCA	2431	460-480	UGGUAATCUCUTCAUCCUUGGUG	2726	458-480
AD-292346.1	CCAAGGUAAGAGAUUACCA	2432	461-481	UTGGTAAUCUCUUAUCCUUGGUG	2727	459-481
AD-292363.1	CCAAGACATUTGAGGUCAACA	2433	478-498	UGUUGAGCCUCAAATGUCUUGGUA	2728	476-498
AD-292366.1	AGACAUUUUGAGGUCAACAUCU	2434	481-501	AGAUGUTGACCTCAAAGUUCUUG	2729	479-501
AD-292367.1	GACAUUUUGAGGUCAACAUCU	2435	482-502	AGGATGTUGACCUCAAAUGUCU	2730	480-502
AD-292369.1	CAUUUGAGGUCAACAUCUUAU	2436	484-504	ATAGGATGUUGACCUCAAAUGUC	2731	482-504
AD-292370.1	AUUUGAGGTCAACAUCUUAU	2437	485-505	ACUAGGAUGUUGACCUCAAAUGU	2732	483-505
AD-292371.1	UUUGAGGUCAACAUCUUAU	2438	486-506	UCCUAGGAUGUTGACCUCAAAUG	2733	484-506
AD-292373.1	UGAGGUCAACAUCUUAUAGGACA	2439	488-508	UGUCUAGGAUGUTGACCUCAAA	2734	486-508
AD-292374.1	GAGGUCAACATCCUAGGACAU	2440	489-509	ATGUCCTAGGATGTGACCUCCAA	2735	487-509
AD-292376.1	GGUCAACATCCUAGGACAUUU	2441	491-511	AAUUGCCUAGGATGUUGACCUC	2736	489-511
AD-292377.1	GUCAACAUCCUAGGACAUUUU	2442	492-512	AAAATGTCCUAGGAUGUUGACCU	2737	490-512
AD-292379.1	CAACAUCCTAGGACAUUUUUG	2443	494-514	CAAAAATGUCCTAGGAUGUUGAC	2738	492-514
AD-292380.1	AACAUCUAGGACAUUUUUGU	2444	495-515	ACAAAAAUGUCCUAGGAUGUGA	2739	493-515
AD-292381.1	ACAUCUAGGACAUUUUUGGA	2445	496-516	UCCAAAAAUGUCCUAGGAUGUUG	2740	494-516
AD-292382.1	CAUCCUAGGACAUUUUUGGAU	2446	497-517	ATCCAAAAAUGTCCUAGGAUGUU	2741	495-517
AD-292383.1	AUCCUAGGACAUUUUUGGAU	2447	498-518	AAUCCAAAAAUGUCCUAGGAUGU	2742	496-518
AD-292384.1	UCCUAGGACAUUUUUGGAU	2448	499-519	UGAUCAAAAAATGTCCUAGGAUG	2743	497-519
AD-292385.1	CCUAGGACAUUUUUGGAU	2449	500-520	ATGATCCAAAAAUGUCCUAGGAU	2744	498-520

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 3】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-292388.1	AGGACAUUUTGGAUCACAAA	2450	503-523	UTUGTGAUCCAAAAAUGUCCUAG	2745	501-523
AD-292389.1	GGACAUUUTUGGAUCACAAA	2451	504-524	UTUUGGAUCCAAAAAUGUCCUA	2746	502-524
AD-292390.1	GACAUUUTGGAUCACAAA	2452	505-525	ATUUTGTGAUCCAAAAAUGUCCU	2747	503-525
AD-292394.1	UUUUGGATCACAAGACACU	2453	509-529	AGUCUUTUGUGATCCAAAAAUG	2748	507-529
AD-292397.1	UUGGATCACAAAAGCACUUCU	2454	512-532	AGAAGUGCUUUTGTGAUCCAAA	2749	510-532
AD-292398.1	UGGAUCACAAAAGCACUUCU	2455	513-533	AAGAAGTCCUUTUGGAUCCAAA	2750	511-533
AD-292399.1	GGAUACAAAAGCACUUCUUCU	2456	514-534	AAAGAAUGCUTUTUGAUCCAA	2751	512-534
AD-292403.1	CACAAAAGCACUUCUCCAUU	2457	518-538	AAUGGAAGAGTGCUUUUGUGAU	2752	516-538
AD-292404.1	CAAAAAGCACUUCUCCAUU	2458	519-539	AGUGGAAGAAUGUCUUUUGUGA	2753	517-539
AD-292405.1	CAAAAAGCACUUCUCCAUCA	2459	520-540	UCGATGGAAGAGTGCUUUUGUG	2754	518-540
AD-292406.1	AAAAGCACUUCUCCAUCCGAU	2460	521-541	ATCGAUGGAAGAAUGCUUUUGU	2755	519-541
AD-292407.1	AAAGCACUUCUCCAUCCGAU	2461	522-542	AAUCGATGGAAGAAUGCUUUUG	2756	520-542
AD-292409.1	AGCACUUCUCCAUCCGAUGAU	2463	524-544	ATCATCGAUGGAAGAAUGUCUUU	2758	522-544
AD-292410.1	GCACUUCUCCAUCCGAUGAU	2464	525-545	AAUCAUCGAUGGAAGAAUGUCUU	2759	523-545
AD-292434.1	AGAAUUCATGGCCACAUUGUU	2465	549-569	AACGAUGUGGCCATGAUUCUCU	2760	547-569
AD-292486.1	UUCUUACCCUACUCCCAUUAU	2466	601-621	AAUATGGGAUGAGGUAAAGGAUC	2761	599-621
AD-292487.1	UCCUUACCTCAUCCCAUUAUU	2467	602-622	AAAUUGGGAUGAGGUAAAGGAU	2762	600-622
AD-292492.1	ACCUCAUCCCAUUAUUGUCCA	2468	607-627	UGGAACAAAUUGGGAUGAGGUAA	2763	605-627
AD-292495.1	UCAUCCCATATUGUCCAGCA	2469	610-630	UGCUGGAACAATATGGGAUGAGG	2764	608-630
AD-292498.1	UCCCAUAUTGTUCCAGCAAAU	2470	613-633	ATUUGCTGGAACAAAUUGGGGUG	2765	611-633
AD-292499.1	CCCAUAUUGUTCCAGCAAAU	2471	614-634	AAUUTGCUUGGAACAAAUUGGGAU	2766	612-634
AD-292526.1	UGUUGGCUUCACAGAGGUCU	2472	641-661	AGACCUUCUGAAAGCCAAACAGC	2767	639-661
AD-292531.1	GCUUUCACAGAGGUCUGACAU	2473	646-666	ATGUCAGACCUUCUGAAAGCCA	2768	644-666
AD-292534.1	UUCACAGAGGTCUGACAUCAU	2474	649-669	ATGATGTCAGACCTCUGUGAAAG	2769	647-669
AD-292536.1	CACAGAGGTCGACAUACAGAA	2475	651-671	UTCUGATGUCAGACCCUCUGUGAA	2770	649-671
AD-292541.1	AGGUCUGACATCAGAAACUUA	2476	656-676	UGAAGUTCUGATGTCAGACCUUCU	2771	654-676
AD-292566.1	UUGGGAAAACUGGUUAUCAA	2477	681-701	UTUGAUACCACTUTUCCCAAGG	2772	679-701
AD-292574.1	AACUGGUATCAAAACCCCAUU	2478	689-709	AAUGAGGUUUUGATACCAUUUUU	2773	687-709
AD-292575.1	ACUGGUAUCAAAACCCCAUGU	2479	690-710	ACAUGAGGUUUUGAUACCAUUUU	2774	688-710
AD-292576.1	CUGGUAUCAAAACCCCAUGUU	2480	691-711	AACATGAGGUUTUGAUACCAUUU	2775	689-711
AD-292577.1	UGGUUAUCAAACCCCAUGUCU	2481	692-712	AGACAUGAGGUUTUGAUACCAUU	2776	690-712
AD-292578.1	GGUAUCAAACCCCAUGUCUU	2482	693-713	AAGACATGAGGUUTUGAUACCAUU	2777	691-713

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 4】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-292579.1	GU/AU/CAAAACCUCAGUCUCU	2483	694-714	AGAGACAUGAGGUUUUUAUACCA	2778	692-714
AD-292582.1	UCAAAACCTCAUGUCUCUCU	2484	697-717	AGCAGAGACAUGAGUUUUUAUA	2779	695-717
AD-292596.1	CUCUGCCAGTUUUUGUAU	2485	711-731	ATUCACAAAACUGGGCAGAGAC	2780	709-731
AD-292601.1	CCCAGUUUUGUAUACUGU	2486	716-736	ACAGTATUCACAAAACUGGGCA	2781	714-736
AD-292606.1	UUUUUGUGAATACUGGGUUA	2487	721-741	UGAACCCAGUATUCACAAAACU	2782	719-741
AD-292607.1	UUUUUGUGAAUACUGGGUUAU	2488	722-742	ATGAACCCAGUAUTCACAAAAC	2783	720-742
AD-292610.1	UGUGAAUACUGGGUUAACCAA	2489	725-745	UTGGTGAACCCAGTAAUACACAA	2784	723-745
AD-292612.1	UGAAUACUGGGUUAACCAAAA	2490	727-747	UUUGGTGAACCCAGUAUUCACA	2785	725-747
AD-292613.1	GAUAACUGGGTUCACCAAAA	2491	728-748	UTUUUGGUAACCCAGUAUUCAC	2786	726-748
AD-292614.1	AAUACUGGGTUCACCAAAA	2492	729-749	ATUUUGGUGAACCCAGUAUUC	2787	727-749
AD-292615.1	AUACUGGGTUCACCAAAA	2493	730-750	AAUUTUTGGUAACCCAGUAUUC	2788	728-750
AD-292616.1	UACUGGGTUCACCAAAA	2494	731-751	AGAUTUTUGGUGAACCCAGUAU	2789	729-751
AD-292624.1	UCACCAAAAATCCAAGCACAA	2495	739-759	UTGUGCTUGGATUUUGGUGAAC	2790	737-759
AD-292625.1	CACCAAAAUCCCAAGCACAA	2496	740-760	ATUGTGUUGGATUUUGGUGAA	2791	738-760
AD-292629.1	AAAAUCCAAGCACAAAGUAU	2497	744-764	UAAUCUTGUGCTUGGUAUUUUG	2792	742-764
AD-292630.1	AAAAUCCAAGCACAAAGUAU	2498	745-765	ATAATCTUGGCTUGGUAUUUUG	2793	743-765
AD-292631.1	AAAUCCAAGCACAAAGUAU	2499	746-766	AAUAAUCUUGUGCTUGGUAUUU	2794	744-766
AD-292634.1	UCCAAGCACAAAGUAUUGGU	2500	749-769	AGCAUAAUCUTGTGCUUGGAUU	2795	747-769
AD-292639.1	GCACAAGATUAUGGCCUGAU	2502	754-774	ATACAGGCCAAATCUUUGGCUU	2797	752-774
AD-292640.1	CACAAGAUTATGGCCUGUAU	2503	755-775	AAUACAGGCCATAAUCUUGGCU	2798	753-775
AD-292641.1	ACAAGAUUUGGCCUGUAU	2504	756-776	AAAUACAGGCCAAUUCUUGGC	2799	754-776
AD-292642.1	CAAGAUUATGGCCUGUAUUGU	2505	757-777	ACAATACAGGCCATAAUCUUGUG	2800	755-777
AD-292646.1	AUUUUGGCCUGUAUUGGAGAU	2506	761-781	ATCUCCAUAACAGGCCAAUAAUCU	2801	759-781
AD-292650.1	UGGCCUGUAUTGGAGACAGAU	2507	765-785	ATCUGUCUCCAUAACAGGCCAAU	2802	763-785
AD-292651.1	GGCCUGUATUGGAGACAGAUU	2508	766-786	AAUCTGTGUCCAATACAGGCCAU	2803	764-786
AD-292652.1	GCCUGUAUTGGAGACAGAGA	2509	767-787	UCAUCUGUCUCCAUAACAGGCCA	2804	765-787
AD-292667.1	AGAUGAAGTCGUAAGAAGUCU	2510	782-802	AGACTUCUUACGACUUCUUCUGU	2805	780-802
AD-292668.1	GAUGAAGUCGTAAGAAGUCUU	2511	783-803	AAGACUTCUUACGACUUCUUCUG	2806	781-803
AD-292671.1	GAAGUCGUAAGAAGUCUGAU	2512	786-806	UAUCAGACUUCUACGACUUCAU	2807	784-806
AD-292673.1	AGUCGUAAGAAGUCUGUAAGA	2513	788-808	UCUATCAGACUUCUACGACUUC	2808	786-808
AD-292677.1	GU'AAGAAGTCTGAUAGAUGGA	2514	792-812	UCCATCTAUCAGACUUCUUCGGA	2809	790-812
AD-292678.1	UAAGAAGUCUGUAAGAUGGAA	2515	793-813	UTCCAUCUAUCAGACUUCUUCG	2810	791-813

10

20

30

40

50

【表 11 - 5】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-292679.1	AAGAAAGUCTGAUAGAUGGAU	2516	794-814	ATUCCATCUAUCAGACUUCUUAC	2811	792-814
AD-292680.1	AGAAAGUCUGATAGAUUGGAUA	2517	795-815	UAUUCACUATCAGACUUCUUA	2812	793-815
AD-292681.1	GAAGUCUGAUAGAUGGAUAU	2518	796-816	ATUATCCAUUCAGACUUCUU	2813	794-816
AD-292682.1	AAGUCUGATAGAUUGGAUAUCU	2519	797-817	AGUATUCCAUUCTACAGACUUCU	2814	795-817
AD-292684.1	GUCUGAUAAGATGGAUAUCUUA	2520	799-819	UAAGTATUCCATCTAUCAGACUU	2815	797-819
AD-292685.1	UCUGAUAUGGAUAUACUUAU	2521	800-820	ATAAGUAUCCAUUCAGACAU	2816	798-820
AD-292691.1	AGAUAGAATACUUAACCAUA	2522	806-826	UTAUUGUAAGTATUCCAUUAU	2817	804-826
AD-292692.1	GAUGGAUAUACUACCAUAU	2523	807-827	ATUATUGGAAGUAUCCAUUA	2818	805-827
AD-292693.1	AUGGAUAUACUACCAUAAGA	2524	808-828	UCUUAUTGGUAAGTAAUCCAUU	2819	806-828
AD-292694.1	UGGAUAUACUACCAUAAGAA	2525	809-829	UTCUTATUGGAAGUAUCCAUU	2820	807-829
AD-292695.1	GGAUAUACUACCAUAUAGAAA	2526	810-830	UTUCTUAUUGGTAAAGUAUCCAU	2821	808-830
AD-292696.1	GAAUACUUAACCAUAAGAAA	2527	811-831	UTUUCUTAUUGGAAGUAUCCA	2822	809-831
AD-292697.1	AAUACUUAACCAUAUAGAAA	2528	812-832	ATUUTCTUAUUGGTAAAGUAUCC	2823	810-832
AD-292725.1	GUUCCAUGUAUACCAUAU	2529	840-860	AAUATUGAUUACGAUGGAACAA	2824	838-860
AD-292726.1	UUCCAUCGTATAUCAUAUCU	2530	841-861	AGAUAUTGAUATACGAUGGAACA	2825	839-861
AD-292727.1	UCCAUCGUUAUCAUAUCUU	2531	842-862	AAGATATUGAUUACGAUGGAAC	2826	840-862
AD-292728.1	CCAUCGUATATCAUAUUCUU	2532	843-863	AAAGAUUUGATATACGAUGGAA	2827	841-863
AD-292757.1	ACAGAAGUTUCUCCUGAACU	2533	872-892	AGUUCAGGAAGAAACUUCUGUAG	2828	870-892
AD-292759.1	AGAAGUUUCUTCCUGAACGCU	2534	874-894	AGCGTUCAGGAAGAAACUUCUGU	2829	872-894
AD-292761.1	AAGUUCUTCCUGAACGCGCU	2535	876-896	AGCGGTUCAGGAAGAAACUUCU	2830	874-896
AD-292766.1	UCUUCUGAACGCGCCUCAGU	2536	881-901	ACUGAGGCGGTUCAGGAAGAAA	2831	879-901
AD-292787.1	GAUUUAAAUCGUUUGCAGAA	2537	902-922	UTCUGCAUACGAUTUAAAAUCGC	2832	900-922
AD-292788.1	AUUUAAATCGUAUGCAGAAU	2538	903-923	ATUCTGCAUACGATUUAAAAUCG	2833	901-923
AD-292793.1	AAUCCGUATGCAGAAUAUUA	2540	908-928	UGAATATUCUGCATACGAUUUA	2835	906-928
AD-292795.1	AUCGUAGCAGAAUAUUCAU	2541	910-930	ATUGAATAUUCTGCAUACGAUUU	2836	908-930
AD-292796.1	UCGUUAGCAGAAUAUUCAUU	2542	911-931	AAUUGAAUAUUCUGCAUACGAUU	2837	909-931
AD-292797.1	CGUAUGCAGAAUAUUCAAUUU	2543	912-932	AAAUUGAAUAUUTGCAUACGAU	2838	910-932
AD-292800.1	AUGCAGAATATUCAAUUUGAA	2544	915-935	UTCAAAATUGAATATUUCUGCAU	2839	913-935
AD-292802.1	GCAGAAUATUCAAUUUGAAGU	2545	917-937	ACUUCAAAUGAATAUUCUGCAU	2840	915-937
AD-292806.1	AAUUAUCAAUTUGAAGCAGUU	2546	921-941	AACUGCTUCAAAUTGAAUAUUCU	2841	919-941
AD-292870.1	GAUGUAUGCATGAUAUUGAUA	2548	989-1009	UAUCAUTAUCAATGCAUACAUUC	2843	987-1009
AD-292893.1	AAUAGUUUCGAAUCAAUGCUU	2549	1012-1032	AAGCAUTGAUUCGAAACUAUUA	2844	1010-1032

10

20

30

40

50

【表 11-6】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-292906.1	CAUUGCUGCAAAGCUUUUUUU	2550	1025-1045	AAAUAAAGCUUTGCAGCAUUGAU	2845	1023-1045
AD-292915.1	AAAGCUUUUAUTUCACAUUUUU	2551	1034-1054	AAAAAUGUGAAAAUAAAGCUUUGC	2846	1032-1054
AD-292936.1	AAAACAUGGGTUUGGCACUUA	2553	1073-1093	ATAGTGCCAAACCAAGUUUUUA	2848	1071-1093
AD-292967.1	ACGAACAAGATUAAUUAACCUU	2554	1104-1124	AAGGTAAUUAATCTUGUUCGUUU	2849	1102-1124
AD-292970.1	AACAAGAUTAAUUAACCGUCU	2555	1107-1127	AGACAGUAAUUAUCUUCUUGCG	2850	1105-1127
AD-292974.1	AGAUUAUTACCGUCUUCUCCU	2556	1111-1131	AGGAAGACAGGTAAUUAUCUUG	2851	1109-1131
AD-292975.1	GAUUAUUACCGUCUUCUCCU	2557	1112-1132	AAGGAAGACAGGUAAUUAUCUU	2852	1110-1132
AD-292978.1	UAUUUACCTGTUUCUCCGUUU	2558	1115-1135	AAACAGGAAGACAGGUAAUUAU	2853	1113-1135
AD-292979.1	AAUUAACCGUCUUCUCCGUUU	2559	1116-1136	GAACAGGAAGACAGGUAAUUAU	2854	1114-1136
AD-292980.1	AUUACCGTCTUCCGUUUUU	2560	1117-1137	AGAAACAGGAAGACAGGUAAUUA	2855	1115-1137
AD-292981.1	UUACCGUCUTCCGUUUUUUU	2561	1118-1138	AAGAAACAGGAAGACAGGUAAU	2856	1116-1138
AD-292982.1	UACCGUCUTCCGUUUUUUCA	2562	1119-1139	UGAAGAACAGGAAGACAGGUAAU	2857	1117-1139
AD-292983.1	ACCGUCUTCCGUUUUUUCA	2563	1120-1140	UTGAGAAACAGGAAGACAGGUAA	2858	1118-1140
AD-292984.1	CCGUCUUCCTGUUUUUUCAU	2564	1121-1141	ATUGAGAAACAGGAAGACAGGUAA	2859	1119-1141
AD-293027.1	GGUCUGUUTUCCUUAUUAU	2565	1164-1184	ACAUAGAAAGGAAGAAACAGACCUA	2860	1162-1184
AD-293028.1	GUUGUUUUUCUUAUUAUUGCU	2566	1165-1185	AGCATGAAAGGAAGAAACAGACCU	2861	1163-1185
AD-293034.1	UUUUCUUUTCAUGCCUUAUA	2567	1171-1191	UTAAAGAGGCAUGAAAGGAAAAAC	2862	1169-1191
AD-293037.1	UCCUUUCATGCCUUAUAAAAA	2568	1174-1194	UTUUUUAAGAGGCATGAAAGGAAA	2863	1172-1194
AD-293039.1	UUUUCUCCATUAAAGGUGAU	2569	1176-1196	AGUUUTUUAAGAGGCAUGAAAGGA	2864	1174-1196
AD-293099.1	UUUUCUCCATUAAAGGUGAU	2570	1245-1265	ATCCACCUUUAAATGGAAAAAUA	2865	1243-1265
AD-293153.1	AACUUUUUACACAGGGAAGU	2571	1299-1319	ACUUCUCCUGUGTAAUUAAGUUCU	2866	1297-1319
AD-293156.1	UUUUUACACAGGGAAGGUUU	2572	1302-1322	AAACCUUCCUUGUGUAAUUAAGU	2867	1300-1322
AD-293162.1	ACACAGGGAAGGUUUAAGACU	2573	1308-1328	AGUCTUAAACCTUCCUUGUGUAA	2868	1306-1328
AD-293163.1	CACAGGGAAGGUUUAAGACU	2574	1309-1329	AAGUCUTAAACCTUCCUUGUGUA	2869	1307-1329
AD-293166.1	AGGGAAGGTUUAAGACUUAU	2575	1312-1332	AAACAGTCUUAAACCUUCCUUGU	2870	1310-1332
AD-293167.1	GGGAAGGUUUAAGACUGUUA	2576	1313-1333	UGAACAGUCUUAACCUUCCUUG	2871	1311-1333
AD-293168.1	GGGAAGGUUUAAGACUGUUA	2577	1314-1334	UTGAACAGUCUTAAACCUUCCU	2872	1312-1334
AD-293169.1	GAAGGUUUAAGACUGUUAU	2578	1315-1335	ATUGAACAGUCUTAAACCUUCC	2873	1313-1335
AD-293170.1	AAGGUUUAAGACUGUUAU	2579	1316-1336	ACUUGAACAGUCUTAAACCUUCC	2874	1314-1336
AD-293171.1	AGGUUUAAGACUGUUAU	2580	1317-1337	UACUTGAACAGTCTUAAACCUU	2875	1315-1337
AD-293172.1	GGUUUAAGACTGUUAAGUUA	2581	1318-1338	ATACTUGAACAGUCUUAACCUU	2876	1316-1338
AD-293174.1	UUUUAAGACTGTUUAAGUAGCA	2582	1320-1340	UGCUACTUGAACAGUCUUAACCU	2877	1318-1340

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 7】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-293177.1	AAGACUGUTCAAGUAGCAUUU	2584	1323-1343	AAAUGCTACUUGAACACAGUCUUA	2879	1321-1343
AD-293178.1	AGACUGUUCACAGUAGCAUUCU	2585	1324-1344	AGAAATGCUACUUGAACACAGUCUUA	2880	1322-1344
AD-293179.1	GACUGUUCACAGUAGCAUUCUA	2586	1325-1345	UGGAAUGCUACUUGAACACAGUCU	2881	1323-1345
AD-293180.1	ACUGUUCACAGTAGCAUUCCAA	2587	1326-1346	UTGGAATGCUACUUGAACACAGUC	2882	1324-1346
AD-293181.1	CUGUUCACAGUAGCAUUCCAA	2588	1327-1347	ATUGGAUUGCUACUUGAACAGUC	2883	1325-1347
AD-293182.1	UGUUCACAGTAGCAUUCCAAUU	2589	1328-1348	AAUUGGAAUGCTACUUGAACAGU	2884	1326-1348
AD-293183.1	GUUCACAGUAGCAUUCCAAUCU	2590	1329-1349	AGAUTGGAUUGCUACUUGAACAG	2885	1327-1349
AD-293184.1	UUCACAGUAGCAUUCCAAUCUU	2591	1330-1350	AAGATUGGAAUGCTACUUGAACAA	2886	1328-1350
AD-293186.1	CAAGUAGCAUUCCAAUCUGUA	2592	1332-1352	UACAGATUGGAAUGCUACUUGAA	2887	1330-1352
AD-293187.1	AAGUAGCATUCCAAUCUGUAU	2593	1333-1353	ATACAGAUUGGAAATGCUACUUGA	2888	1331-1353
AD-293191.1	AGCAUUCCAAATCUGUAGCCAU	2594	1337-1357	ATGGCUACAGATUGGAAUGCUAC	2889	1335-1357
AD-293218.1	GAUAUUCACACAGAACACAGA	2595	1364-1384	UCUGTGTUCUUGUTGAUAUUCUG	2890	1362-1384
AD-293228.1	AAGAACACAGAAUGAGUGCAU	2596	1374-1394	ATGCACTAUUCUGUGUUCUUGU	2891	1372-1394
AD-293230.1	GAACACAGAAUGAGUGCACAU	2597	1376-1396	ATGUGCACUACUUCUGUGUUCUU	2892	1374-1396
AD-293231.1	AACACAGAAUGAGUGCACAGU	2598	1377-1397	ACUGTGACACUCAUTCUGUGUUCU	2893	1375-1397
AD-293235.1	CAGAAUGAGUGCACAGCUAAU	2599	1381-1401	ATUAGCTGUGCACTCAUUCUGUG	2894	1379-1401
AD-293271.1	AGGCAGCUUAUCUCAAGCUU	2600	1417-1437	AAGGTUGAGAUAAAGCUGCCUGC	2895	1415-1437
AD-293273.1	GCAGCUUUAUCUCAAGCCUGGA	2601	1419-1439	UCCAGGTUGAGAUAAAGCUGCCU	2896	1417-1439
AD-293306.1	UUCAGCAUTUGAAAGAUUUCU	2602	1452-1472	AGAAACUUCUCAAUUGCUGAAUC	2897	1450-1472
AD-293309.1	AGCAUUGGAAAGAUUUCCUA	2603	1455-1475	UAGGGAUUCUTUCAAAUGCUGA	2898	1453-1475
AD-293311.1	CAUUGAAAGAUUUCCUAGU	2604	1457-1477	ACUAGGGAUUCUTUCAAAUGCU	2899	1455-1477
AD-293312.1	AUUGAAAGATUUCCUAGCU	2605	1458-1478	AGCUAGGGAATCTUCAAUUGC	2900	1456-1478
AD-293315.1	UGAAAGAUTUCCUAGCCUCU	2606	1461-1481	AGAGCTAGGGAUUCUUCUCAA	2901	1459-1481
AD-293323.1	UUCCCUAGCCTCUUCUUCUUU	2608	1469-1489	AAAAAGGAAGAGGCUAGGGAU	2903	1467-1489
AD-293353.1	AAAACGGUGCAACUCUAUUCU	2609	1499-1519	AGAATAGAGUUGCACCGUUUUG	2904	1497-1519
AD-293354.1	AAACGGUGCAACUCUAUUCUU	2610	1500-1520	AAGAAUAGAGUTGCACCGUUUUG	2905	1498-1520
AD-293355.1	AACGGUGCAACUCUAUUCUGU	2611	1501-1521	ACAGAAUAGAGTUGCACCGUUUU	2906	1499-1521
AD-293359.1	GUGCAACUCUAUUCUGGACUU	2613	1505-1525	AAGUCCAGAAUAGAGUUGCACCG	2908	1503-1525
AD-293360.1	UGCAACUCTATUCUGGACUUU	2614	1506-1526	AAAGTCCAGAAUAGAGUUGCAC	2909	1504-1526
AD-293361.1	GCAACUCUAUUCUGGACUUUA	2615	1507-1527	UAAAGUCCAGAAUAGAGUUGCAC	2910	1505-1527
AD-293362.1	CAACUCUAUUCUGGACUUUAU	2616	1508-1528	ATAAGTCCAGAAUAGAGUUGCA	2911	1506-1528
AD-293364.1	ACUCUAUUCUGGACUUUAUA	2618	1510-1530	UAAUAAAGUCCAGAAUAGAGUUG	2913	1508-1530

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 8】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-293365.1	CUCUAUUCUGGACUUUAUUAU	2619	1511-1531	ATAATAAGUCCAGAAUAGAGUU	2914	1509-1531
AD-293368.1	UAUUCUGGACTUUUAUUAUUUAU	2620	1514-1534	AAAGTAAUAAAGUCCAGAAUAGA	2915	1512-1534
AD-293369.1	AUUCUGGACUUAUUAUUUAUUA	2621	1515-1535	UCAAGUAAUAAAGTCCAGAAUAG	2916	1513-1535
AD-293370.1	UUCUGGACTUUAUUAUUUAUUA	2622	1516-1536	ATCAAGTAAUAAAGUCCAGAAUA	2917	1514-1536
AD-293410.1	UGAAGUCCACCAAAAGUGGAU	2623	1556-1576	ATCCACTUUUGGUGGACUUCAGA	2918	1554-1576
AD-293419.1	CCAAAGUGGACCCUUAUUAU	2624	1565-1585	ATAUAGAGGGUCCAUUUUGGUG	2919	1563-1585
AD-293420.1	CAAAAGUGGACCCUUAUUAU	2625	1566-1586	AAUATAGAGGGTCCACUUUUGGU	2920	1564-1586
AD-293422.1	AAAGUGGACCCUUAUUAUUAU	2626	1568-1588	GAAATATAGAGGGTCCACUUUUG	2921	1566-1588
AD-293423.1	AAGUGGACCCUUAUUAUUAU	2627	1569-1589	AGAAAUUAAGAGGGUCCAUUUU	2922	1567-1589
AD-293530.1	CUUUCAUATATCCUUGGUCCU	2628	1699-1719	AGGACCAAGGATATAUGAAAGCA	2923	1697-1719
AD-293532.1	UUCAUUAUATCCUUGGUCCCAU	2629	1701-1721	ATGGGACCAAGGATAUUAUGAAAG	2924	1699-1721
AD-293554.1	GAUGUUUAGACAAUUUUUAGGU	2630	1723-1743	ACCUAAAAUUUGTCTAAACAUCUC	2925	1721-1743
AD-293555.1	AUGUUUAGACAAUUUUUAGGU	2631	1724-1744	AGCCTAAAUUUGUCAAACAUCU	2926	1722-1744
AD-293557.1	GUUAGACAAUUUUUAGGCUCA	2632	1726-1746	UGAGCCTAAAATUGUCUAAACAU	2927	1724-1746
AD-293558.1	UUUAGACAAUUUUAGGCUCAA	2633	1727-1747	UTGAGCCUAAAAUTGUCUAAACA	2928	1725-1747
AD-293559.1	UUAGACAAUUTUAGGCUCAAA	2634	1728-1748	UTUGAGCCUAAAAUTGUCUAAAC	2929	1726-1748
AD-293560.1	UAGACAAUUTAGGCUCAAAA	2635	1729-1749	UTUUGAGCCUAAAAUUGUCUAAA	2930	1727-1749
AD-293562.1	GACAAUUUTAGGCUCAAAAU	2636	1731-1751	ATUUTUGAGCCTAAAUUUGUCUA	2931	1729-1751
AD-293569.1	UUAGGCUCAAAAUUAAGGCU	2637	1738-1758	AGCUTUAAUUUTUGAGCCUAAAA	2932	1736-1758
AD-293570.1	UAGGCUCAAAAUUAAGCUA	2638	1739-1759	UAGCTUAAUUUTUGAGCCUAAA	2933	1737-1759
AD-293571.1	AGGCUCAAAAUUAAGCUGAA	2639	1740-1760	UTAGCUTUAAUUTUGAGCCUAA	2934	1738-1760
AD-293572.1	GGCUCAAAAATUAAAGCUGAAU	2640	1741-1761	ATUAGCTUAAUUTUUGAGCCUA	2935	1739-1761
AD-293573.1	GCUCAAAAUUTAAAGCUGAAC	2641	1742-1762	UGUUAGCUUUAAUUTUUGAGCCU	2936	1740-1762
AD-293574.1	CUCAAAAATUAAAGCUGAACU	2642	1743-1763	ATGUTAGCUUUAAUUTUUGAGCC	2937	1741-1763
AD-293575.1	UCAAAAUUTAAAGCUGAACACA	2643	1744-1764	UGUGTUGCUUUTAAUUUUUUGAGC	2938	1742-1764
AD-293576.1	CAAAAAUUAAGCUGAACACAU	2644	1745-1765	ATGUGUTAGCUTUAAUUUUUUGAG	2939	1743-1765
AD-293579.1	AAAUUAAAGCTAACACAGGAA	2645	1748-1768	UTCCTGTGUUAGCTUUAUUUUUU	2940	1746-1768
AD-293586.1	AGCUAACACAGGAAAGGAAU	2646	1755-1775	ATUCCUTUUCCTGTGUUAGCUUU	2941	1753-1775
AD-293589.1	UAACACAGGAAAGGAAACUGU	2647	1758-1778	ACAGTUCUUUUUCCUGUGUAGC	2942	1756-1778
AD-293592.1	CACAGGAAAGGAAACUGUACU	2648	1761-1781	AGUACAGUUCCTTUTUCCUGUGU	2943	1759-1781
AD-293594.1	CAGGAAAGGAAACUGUACUGU	2649	1763-1783	ACAGTACAGUUCCTTUUUCCUGUG	2944	1761-1783
AD-293601.1	AGGAACUGTACUGGCUAUUAU	2650	1770-1790	ATAATAGCCAGTACAGUUCUUUU	2945	1768-1790

10

20

30

40

50

【表 1 1 - 9】

二重鎖名	センス配列、5'から3'へ	配列番号	NM_178135.4 における位置	アンチセンス配列、5'から3'へ	配列 番号	NM_178135.4 における範囲
AD-293872.1	CGACUCCCACTACAUCAGAU	2652	2186-2206	ATCUTGAUGUAGUGGGAGUCGA	2947	2184-2206
AD-293875.1	CUCCCACUACAUCAGACUAA	2653	2189-2209	UTAGTCTUGAUGAUGGGAGUC	2948	2187-2209
AD-293876.1	UCCCACUACATCAAGACUAAU	2654	2190-2210	ATUAGUCUUGATGTAGUGGGAGU	2949	2188-2210
AD-293877.1	CCCACUACAUCAGACUAAU	2655	2191-2211	AAUAGTCUUGAUGAUGGGAG	2950	2189-2211
AD-293878.1	CCACUACATCAAGACUAAUCU	2656	2192-2212	AGAUTAGUCUUGATGUAGUGGA	2951	2190-2212
AD-293879.1	CACUACAUCAGACUAAUCUU	2657	2193-2213	AAGATUAGUCUTGAUGAUGGG	2952	2191-2213
AD-293880.1	ACUACAUCAGACUAAUCUU	2658	2194-2214	AAAAGATAGUCUTGAUGAUGGG	2953	2192-2214
AD-293881.1	CUACAUCAGACUAAUCUUGU	2659	2195-2215	ACAAAGTUAGUCUTGAUGAUGU	2954	2193-2215
AD-293882.1	UACAUCAGACUAAUCUUGU	2660	2196-2216	AACAAGAUUAGTCTUGAUGAUGU	2955	2194-2216
AD-293898.1	UUGUGUGUTUTUCACAUUAU	2662	2217-2237	ATACAUGUGAAAAACACAAAA	2957	2215-2237
AD-293902.1	GUGUUUUACAUUAUAUA	2663	2221-2241	UAUAUAUCAUGTGAACACACAC	2958	2219-2241
AD-293909.1	UCACAUGUAUTAUAGAAUGCU	2664	2228-2248	AGCATUCUAUAUACAUGGAAA	2959	2226-2248
AD-293910.1	CACAUGUAUAAGAAUGCUU	2665	2229-2249	AAGCAUTCUAUAATACAUGUGAA	2960	2227-2249
AD-293914.1	UGUAUAUAAGAAUGCUUUUGU	2666	2233-2253	ACAAAAGCAUUCUAUAUACAUG	2961	2231-2253
AD-293915.1	GUUAUAUAAGAAUGCUUUUGCA	2667	2234-2254	UGCAAAAGCAUUTCTAUAAUACA	2962	2232-2254
AD-293919.1	UAUAGAAUGCTUUUGCAUGGA	2668	2238-2258	UCCATGCAAAAGCAUUCUAUAU	2963	2236-2258
AD-293923.1	GAUUGCUUUGCAUGGACUAU	2670	2242-2262	ATAGTCCAUAGCAAAAGCAUUCU	2965	2240-2262
AD-293925.1	AUGCUUUUGCAUGGACUAUCU	2671	2244-2264	AGAUAGTCCAUGCAAAAGCAUUC	2966	2242-2264
AD-293928.1	CUUUUGCATGGACUAUCCUCU	2672	2247-2267	AGAGGATAGUCCATGCAAAAGCA	2967	2245-2267
AD-293931.1	UUGCAUGGACTAUCCUCUUGU	2673	2250-2270	ACAAGAGGAUAGUCCAUCAAAA	2968	2248-2270
AD-293932.1	UGCAUGGACUAUCCUCUUGUU	2674	2251-2271	AACAAGAGGAUAGTCCAUGCAAA	2969	2249-2271
AD-293933.1	GCAUGGACTATCCUCUUGUUU	2675	2252-2272	AAACAAGAGGATAGUCCAUCAA	2970	2250-2272
AD-293934.1	CAUGGACUAUCCUCUUGUUUU	2676	2253-2273	AAAAACAAGGAUAGUCCAUCA	2971	2251-2273
AD-293935.1	AUGGACUAUCCUCUUGUUUUU	2677	2254-2274	AAAAACAAGAGGATAGUCCAUCC	2972	2252-2274
AD-293936.1	UGGACUAUCCUCUUGUUUUUA	2678	2255-2275	UAAAAACAAGAGGAUAGUCCAU	2973	2253-2275
AD-293937.1	GGACUAUCCUCUUGUUUUUUU	2679	2256-2276	ATAAAAAACAAGAGGAUAGUCCAU	2974	2254-2276
AD-293938.1	GACUAUCCCTCTUGUUUUUUU	2680	2257-2277	AAUAAAAACAAGAGGAUAGUCCA	2975	2255-2277
AD-293940.1	CUAUCCUCTUGUUUUUUUAUA	2681	2259-2279	UTAATAAAAAACAAGAGGAUAGUC	2976	2257-2279

* 標的 : HSD17B13

【 0 7 2 4 】

10

20

30

40

50

【表 12 - 1】

表12. Cos-7(ヒトDual-Luciferase psiCHECK2ベクター)および初代カニクイザル肝細胞における
HSD17B13 NonF DNA in vitro 10nMスクリーニング

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-291929.1	71.9	80.9	83.6	83.4
AD-291931.1	110.8	84.8	100.1	97.8
AD-291988.1	78.0	104.0	65.3	97.3
AD-291993.1	102.1	100.5	78.9	69.1
AD-291998.1	81.6	97.4	26.3	60.9
AD-292005.1	101.3	93.7	69.2	74.9
AD-292006.1	45.7	93.2	58.7	81.7
AD-292007.1	130.7	101.5	62.4	100.0
AD-292008.1	99.4	102.4	63.7	91.3
AD-292010.1	72.6	87.1	49.5	95.8
AD-292012.1	79.5	83.6	86.8	86.3
AD-292013.1	61.3	94.1	45.2	83.9
AD-292014.1	50.0	87.4	40.0	40.1
AD-292015.1	44.9	88.2	31.6	78.8
AD-292016.1	52.6	84.2	48.2	90.8
AD-292017.1	43.8	86.8	54.8	96.7
AD-292028.1	77.4	88.2	107.2	91.5
AD-292137.1	96.9	83.6	105.7	103.9
AD-292140.1	30.6	95.0	26.3	59.0
AD-292143.1	38.4	79.3	33.9	85.3
AD-292182.1	127.2	99.8	91.8	71.1
AD-292183.1	95.2	91.8	102.5	87.6
AD-292185.1	50.6	91.7	74.5	93.3
AD-292186.1	48.6	95.0	81.3	85.6
AD-292187.1	90.1	89.5	82.7	95.5
AD-292188.1	53.1	99.0	42.5	81.8
AD-292189.1	103.9	78.7	73.2	104.0
AD-292190.1	67.5	81.6	105.5	81.9
AD-292238.1	40.6	86.1	71.7	86.6
AD-292244.1	92.8	78.7	116.0	91.8

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 2 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-292245.1	62.2	75.2	55.5	97.0
AD-292247.1	51.0	84.4	63.4	87.5
AD-292248.1	77.4	104.3	51.0	94.8
AD-292250.1	31.0	85.4	44.9	92.2
AD-292251.1	45.7	91.0	74.1	90.6
AD-292252.1	60.0	83.4	88.6	102.1
AD-292253.1	29.1	121.4	35.3	75.7
AD-292254.1	50.1	94.7	32.3	62.3
AD-292257.1	54.9	96.3	57.6	84.8
AD-292309.1	93.2	108.1	93.4	87.1
AD-292310.1	94.4	101.0	87.9	101.6
AD-292315.1	86.1	88.8	62.9	90.8
AD-292318.1	67.1	105.0	85.3	85.5
AD-292344.1	36.1	91.7	33.0	53.0
AD-292345.1	68.5	88.1	81.9	106.0
AD-292346.1	38.8	80.4	63.7	66.2
AD-292363.1	85.2	76.8	96.0	101.8
AD-292366.1	75.3	82.9	100.2	107.5
AD-292367.1	86.9	70.2	97.0	113.8
AD-292369.1	96.6	88.6	91.3	91.6
AD-292370.1	44.8	84.8	59.7	88.9
AD-292371.1	47.1	76.8	78.3	96.3
AD-292373.1	83.4	79.9	32.3	128.5
AD-292374.1	126.7	92.9	78.8	98.5
AD-292376.1	63.8	89.3	73.9	87.3
AD-292377.1	47.5	79.9	49.7	77.6
AD-292379.1	92.9	99.8	99.0	86.5
AD-292380.1	69.1	82.6	46.5	70.2
AD-292381.1	30.1	73.4	58.1	95.4
AD-292382.1	42.1	86.7	87.3	97.4
AD-292383.1	18.7	69.7	47.1	41.7
AD-292384.1	27.4	83.2	36.6	83.8
AD-292385.1	59.5	107.0	51.1	115.1

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 3 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-292388.1	33.9	80.2	37.4	51.4
AD-292389.1	54.9	90.8	79.0	92.4
AD-292390.1	43.4	81.4	49.8	82.4
AD-292394.1	20.8	74.8	56.3	57.0
AD-292397.1	87.6	80.3	56.8	79.6
AD-292398.1	25.3	84.3	21.9	56.5
AD-292399.1	43.1	84.4	26.6	61.1
AD-292403.1	75.2	91.7	19.6	59.7
AD-292404.1	99.9	89.7	68.5	70.8
AD-292405.1	65.8	93.2	39.0	49.5
AD-292406.1	77.3	70.4	89.7	96.8
AD-292407.1	47.4	91.5	64.1	50.3
AD-292408.1	67.3	102.5	72.1	89.8
AD-292409.1	47.3	84.2	88.6	91.7
AD-292410.1	90.3	89.2	50.5	94.3
AD-292434.1	109.2	85.6	97.7	118.1
AD-292486.1	87.6	93.4	81.4	70.9
AD-292487.1	71.1	91.4	83.5	101.3
AD-292492.1	55.7	89.0	83.1	104.7
AD-292495.1	74.2	87.6	39.8	89.4
AD-292498.1	59.5	94.1	48.3	102.0
AD-292499.1	40.6	95.4	36.7	69.9
AD-292526.1	82.6	90.8	66.4	71.7
AD-292531.1	95.5	81.2	100.4	110.5
AD-292534.1	78.2	88.3	60.2	76.1
AD-292536.1	55.9	90.9	43.0	82.7
AD-292541.1	88.3	74.4	27.8	41.9
AD-292566.1	19.9	72.5	13.2	52.6
AD-292574.1	24.4	71.6	26.1	73.5
AD-292575.1	65.6	81.9	77.2	81.2
AD-292576.1	16.5	80.7	28.5	43.3
AD-292577.1	43.3	95.8	25.8	68.5
AD-292578.1	23.4	58.8	15.6	68.8

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 4 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-292579.1	39.4	80.5	18.5	81.3
AD-292582.1	53.7	89.0	56.3	96.1
AD-292596.1	71.7	90.7	34.6	78.4
AD-292601.1	80.9	103.8	83.1	101.7
AD-292606.1	72.8	93.1	71.1	110.5
AD-292607.1	64.0	94.9	96.3	81.4
AD-292610.1	76.6	83.1	88.3	90.3
AD-292612.1	52.9	81.4	66.2	81.5
AD-292613.1	27.9	79.6	53.3	96.2
AD-292614.1	51.4	92.8	87.1	96.4
AD-292615.1	75.1	88.2	92.9	108.1
AD-292616.1	73.9	90.6	90.3	85.7
AD-292624.1	54.2	97.1	59.3	99.4
AD-292625.1	28.1	83.1	22.7	73.4
AD-292629.1	25.7	80.1	49.1	63.6
AD-292630.1	26.4	99.1	31.1	47.4
AD-292631.1	53.9	70.9	84.9	103.8
AD-292634.1	74.5	92.9	89.3	82.6
AD-292638.1	50.1	88.5	74.8	79.7
AD-292639.1	73.9	86.3	62.4	85.5
AD-292640.1	17.0	71.2	49.7	48.3
AD-292641.1	55.1	100.4	70.5	92.6
AD-292642.1	29.7	93.0	50.8	81.0
AD-292646.1	41.7	95.5	79.8	92.7
AD-292650.1	85.5	84.2	104.5	95.4
AD-292651.1	44.4	94.8	72.9	84.0
AD-292652.1	78.7	85.1	73.9	97.5
AD-292667.1	91.8	83.0	108.4	95.8
AD-292668.1	24.5	61.0	95.9	83.9
AD-292671.1	18.8	61.8	42.5	93.0
AD-292673.1	41.0	77.7	35.8	79.4
AD-292677.1	73.0	74.0	111.0	90.7
AD-292678.1	60.3	90.4	56.9	95.8

10

20

30

40

50

【表 12 - 5】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-292679.1	45.0	74.8	45.1	72.5
AD-292680.1	42.9	89.4	22.9	44.0
AD-292681.1	56.4	99.9	94.6	105.1
AD-292682.1	63.9	84.7	64.0	64.5
AD-292684.1	24.2	81.8	16.2	88.1
AD-292685.1	55.6	89.3	40.6	81.3
AD-292691.1	27.0	82.0	27.8	59.7
AD-292692.1	56.9	76.9	57.8	85.9
AD-292693.1	24.3	76.9	16.6	47.8
AD-292694.1	26.5	84.2	61.0	91.0
AD-292695.1	35.8	82.1	24.0	62.8
AD-292696.1	32.5	87.4	27.5	60.8
AD-292697.1	51.8	79.1	33.8	57.3
AD-292725.1	49.1	61.8	101.5	90.3
AD-292726.1	41.3	71.5	81.7	90.6
AD-292727.1	64.4	82.9	78.5	96.0
AD-292728.1	54.9	65.4	96.9	121.5
AD-292757.1	38.0	71.0	53.7	72.0
AD-292759.1	93.8	89.4	89.7	82.5
AD-292761.1	47.1	97.8	29.0	84.6
AD-292766.1	139.5	89.6	92.1	105.5
AD-292787.1	57.9	77.4	79.6	95.3
AD-292788.1	23.2	88.1	75.5	85.9
AD-292789.1	14.8	78.8	47.7	73.0
AD-292793.1	16.8	62.8	16.1	33.1
AD-292795.1	14.3	57.5	53.5	43.0
AD-292796.1	22.7	56.2	18.2	71.8
AD-292797.1	5.6	28.2	10.4	17.0
AD-292800.1	9.6	58.3	12.8	25.3
AD-292802.1	13.0	70.4	18.8	60.5
AD-292806.1	14.9	63.8	9.9	39.7
AD-292808.1	76.4	90.2	64.5	85.2
AD-292870.1	11.8	42.5	33.1	50.4

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 6 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-292893.1	19.5	60.5	126.3	95.7
AD-292906.1	26.3	32.8	39.7	80.9
AD-292915.1	19.4	49.0	41.4	38.1
AD-292935.1	73.8	82.0	42.3	64.3
AD-292936.1	60.6	74.3	51.1	53.1
AD-292967.1	11.4	46.8	51.2	89.8
AD-292970.1	17.0	58.6	48.2	87.4
AD-292974.1	23.3	72.1	68.3	78.4
AD-292975.1	22.3	80.7	52.6	79.2
AD-292978.1	23.6	77.6	29.9	74.0
AD-292979.1	50.5	84.9	54.2	97.1
AD-292980.1	36.4	107.7	42.5	91.0
AD-292981.1	67.7	79.8	76.1	107.9
AD-292982.1	27.1	76.5	42.7	74.1
AD-292983.1	21.5	71.3	39.1	77.3
AD-292984.1	24.2	73.5	36.2	69.6
AD-293027.1	37.3	82.5	41.7	86.2
AD-293028.1	59.8	81.3	64.4	92.3
AD-293034.1	30.5	89.4	40.2	54.5
AD-293037.1	45.8	77.7	42.3	81.9
AD-293039.1	25.3	76.7	37.8	49.6
AD-293099.1	47.1	87.8	50.8	77.5
AD-293153.1	71.0	85.3	75.2	104.1
AD-293156.1	38.3	93.0	46.6	131.7
AD-293162.1	53.5	82.3	65.5	99.4
AD-293163.1	36.1	84.2	74.8	96.1
AD-293166.1	55.4	86.7	56.3	79.2
AD-293167.1	69.9	94.9	52.4	63.0
AD-293168.1	68.5	77.5	62.5	74.1
AD-293169.1	62.0	89.4	51.6	98.0
AD-293170.1	27.7	93.7	39.6	64.8
AD-293171.1	14.1	67.7	42.0	36.4
AD-293172.1	63.2	82.8	64.9	88.2

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 7 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-293174.1	19.3	95.6	50.2	68.6
AD-293176.1	20.5	63.7	36.4	40.1
AD-293177.1	21.4	93.0	31.5	44.8
AD-293178.1	24.3	73.6	70.8	75.4
AD-293179.1	52.5	78.7	51.1	85.3
AD-293180.1	34.0	91.7	60.7	71.5
AD-293181.1	58.7	107.6	35.6	78.0
AD-293182.1	16.9	60.5	39.5	45.0
AD-293183.1	31.4	78.1	74.7	83.4
AD-293184.1	25.6	58.7	59.7	50.9
AD-293186.1	48.4	78.2	41.4	73.5
AD-293187.1	41.7	78.8	50.4	84.9
AD-293191.1	56.1	103.5	72.3	84.1
AD-293218.1	36.6	67.3	44.9	69.3
AD-293228.1	83.7	92.4	84.0	74.2
AD-293230.1	76.4	95.3	76.2	67.1
AD-293231.1	57.6	83.2	56.3	101.8
AD-293235.1	56.7	97.6	99.6	86.3
AD-293271.1	112.7	85.7	85.7	110.6
AD-293273.1	60.2	92.6	38.6	89.9
AD-293306.1	33.9	90.2	42.6	70.4
AD-293309.1	28.6	68.9	33.4	58.9
AD-293311.1	13.4	66.4	28.2	41.2
AD-293312.1	21.7	88.7	46.9	92.5
AD-293315.1	29.4	88.6	50.1	82.0
AD-293316.1	32.7	75.3	40.2	67.0
AD-293323.1	85.3	103.1	49.1	91.3
AD-293353.1	64.0	76.6	83.0	84.7
AD-293354.1	50.9	79.2	64.5	84.5
AD-293355.1	78.0	110.8	76.0	88.7
AD-293358.1	46.0	106.3	91.5	98.3
AD-293359.1	77.0	73.5	74.2	82.4
AD-293360.1	75.9	104.8	56.5	88.2

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 8 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-293361.1	73.4	87.3	72.7	86.0
AD-293362.1	38.3	81.1	75.0	84.3
AD-293363.1	35.2	72.6	78.9	79.4
AD-293364.1	83.5	86.1	80.9	74.2
AD-293365.1	55.0	88.5	69.3	114.8
AD-293368.1	19.6	50.5	40.7	66.8
AD-293369.1	14.3	63.5	38.5	63.5
AD-293370.1	93.8	84.2	99.4	112.0
AD-293410.1	99.6	81.5	111.6	112.2
AD-293419.1	84.8	89.5	88.7	66.7
AD-293420.1	65.4	89.3	72.7	75.8
AD-293422.1	55.1	104.1	99.0	97.0
AD-293423.1	58.8	75.0	82.0	101.6
AD-293530.1	33.5	86.1	54.2	103.1
AD-293532.1	42.7	95.8	84.4	91.4
AD-293554.1	63.0	84.0	106.1	100.8
AD-293555.1	49.0	87.7	85.4	110.5
AD-293557.1	34.8	90.9	42.7	71.2
AD-293558.1	34.0	63.5	56.9	62.9
AD-293559.1	23.4	53.8	52.4	48.2
AD-293560.1	23.8	75.6	45.8	46.4
AD-293562.1	54.3	67.3	45.0	68.8
AD-293569.1	54.2	99.4	144.4	123.6
AD-293570.1	43.8	106.2	66.9	67.3
AD-293571.1	17.8	67.2	45.3	58.4
AD-293572.1	25.4	78.2	43.2	52.5
AD-293573.1	33.1	88.7	43.2	61.4
AD-293574.1	89.3	84.3	70.6	94.1
AD-293575.1	50.3	80.2	50.3	73.4
AD-293576.1	47.3	88.6	42.2	69.7
AD-293579.1	37.0	88.6	43.0	78.7
AD-293586.1	109.6	101.6	69.8	111.1
AD-293589.1	66.1	82.7	86.4	104.3

10

20

30

40

50

【 表 1 2 - 9 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-293592.1	54.7	84.6	63.6	95.7
AD-293594.1	41.8	82.8	53.7	80.9
AD-293601.1	40.1	80.8	69.9	68.9
AD-293602.1	78.8	77.2	75.2	72.3
AD-293872.1	89.1	88.4	106.8	116.8
AD-293875.1	74.4	78.5	78.7	84.3
AD-293876.1	25.1	68.3	70.4	61.4
AD-293877.1	26.8	77.7	35.9	50.4
AD-293878.1	13.3	80.2	75.0	64.2
AD-293879.1	34.1	59.4	45.2	54.3
AD-293880.1	19.0	80.8	59.2	55.4
AD-293881.1	16.3	78.2	38.7	49.0
AD-293882.1	11.9	39.5	33.7	47.3
AD-293883.1	8.9	58.7	50.9	34.1
AD-293898.1	23.0	64.6	41.5	76.4
AD-293902.1	16.0	53.9	43.3	56.9
AD-293909.1	75.9	112.6	74.2	91.0
AD-293910.1	32.6	89.6	54.3	79.9
AD-293914.1	35.0	88.0	52.9	72.0
AD-293915.1	22.7	87.0	39.4	82.5
AD-293919.1	31.8	79.6	59.5	84.2
AD-293922.1	53.2	96.2	37.0	65.9
AD-293923.1	48.5	76.0	77.7	99.7
AD-293925.1	31.1	81.9	53.0	87.7
AD-293928.1	29.4	73.5	68.8	95.5
AD-293931.1	27.5	85.4	52.5	79.1
AD-293932.1	14.2	61.7	55.5	65.7
AD-293933.1	49.1	80.3	42.1	74.9
AD-293934.1	30.9	79.7	46.1	87.7
AD-293935.1	48.7	79.1	68.3	70.8
AD-293936.1	55.0	84.6	45.8	90.3
AD-293937.1	29.6	80.1	58.5	83.9
AD-293938.1	24.7	67.9	58.4	94.8

10

20

30

40

50

【 1 2 - 1 0 】

二重鎖名	残存ヒトメッセージの%、 10nM	残存ヒトメッセージの%、 0.1nM	残存Cynoメッセージの%、 10nM	残存Cynoメッセージの%、 0.1nM
AD-293940.1	17.7	61.9	51.9	69.0

10

20

30

40

(実施例 3)
NASHからの保護をなす機能喪失型突然変異の同定
【 0 7 2 5 】

非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）は、肝臓の脂肪蓄積および炎症を特徴とする進行性疾患であり、硬変症に至る恐れがある。NASHは、2020年までの肝移植の主要な駆動因子であることが予測される。肝臓に関連する死亡率は、線維症の増悪にしたがって指数関数的に上昇する。

【 0 7 2 6 】
HSD17B13のスプライスバリエント（rs72613567：TA）は、ステロ

50

イド基質に対する酵素活性が低下した不安定な短縮されたタンパク質をもたらし、したがって、HSD17B13の機能喪失型バリエーションである。HSD17B13:rs72613567:TAは、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の低減に再現性よく関連付けられ、図1に示されている通り、このバリエーションは、アルコール性および非アルコール性肝疾患、硬変症および肝細胞癌のリスクの有意な低下に対立遺伝子投与量依存的に関連する。

【0727】

したがって、肝細胞において発現されるHSD17B13は、HSD17B13の発現を阻害し、機能喪失型バリエーションrs72613567:TAを模倣するdsRNA作用剤を使用するNASHおよび他の慢性肝疾患の処置の魅力的な標的である。

10

（実施例4）

HSD17B13を標的とするdsRNA作用剤のin vivoにおける有効性

A. マウスにおいて異所的に発現されたヒトHSD17B13に対するヒト/NHP交差反応性siRNAの有効性

【0728】

マウス（n=3/群）に、ヒトHSD17B13を発現するアデノ随伴ウイルス（AAV）を注射した。AAV注射の14日後、マウスに、AD-288917を単回3mg/kg用量で皮下投与した。投与の10日後、肝臓におけるヒトHSD17B13発現をRT-qPCRによって決定し、PBSを注射した対照動物のヒトHSD17B13発現に対して正規化した。図2Aに示されている通り、AD-288917の単回投薬により、ヒトHSD17B13の発現が有効に阻害される。

20

B. 非ヒト霊長類における内因性HSD17B13に対するヒト/NHP交差反応性siRNAの有効性

【0729】

カニクイザル（n=3/群）に、AD-288917を単回3mg/kg用量で皮下投与した。二重鎖投与の21日後、肝臓生検材料における内因性HSD17B13発現をRT-qPCRによって決定し、PBSを注射した対照動物の内因性HSD17B13発現に対して正規化した。図2Bに示されている通り、AD-288917の単回投薬により、内因性HSD17B13の発現が有効に阻害される。

（実施例5）

HSD17B13を標的とするdsRNA作用剤のin vivoにおける有効性

【0730】

カニクイザル（n=3/群）に、表13に列挙される作用剤を単回3mg/kg用量または単回10mg/kg用量で皮下投与した。二重鎖投与の21日後、肝臓生検材料（左葉および右葉）における内因性HSD17B13発現をRT-qPCRによって決定し、PBSを注射した対照動物の内因性HSD17B13発現に対して正規化した。表14に示されている通り、試験した作用剤全ての単回3mg/kgまたは10mg/kg用量により、内因性HSD17B13の発現が有効に阻害された。

【0731】

40

【表 1 4】

表14

群(n=3/群)	3 mg/kg			10 mg/kg		
	左薬	右薬	平均 L+R	左薬	右薬	平均 L+R
AD-288917 AVG	0.58	0.58	0.58	0.25	0.26	0.25
AD-288917 SEM	0.26	0.26	0.26	0.01	0.05	0.03
AD-288996 AVG	0.28	0.18	0.23	0.11	0.11	0.11
AD-288996 SEM	0.08	0.09	0.07	0.06	0.05	0.05
AD-413639 AVG	0.35	0.34	0.34	0.14	0.13	0.13
AD-413639 SEM	0.16	0.11	0.13	0.07	0.06	0.06
AD-413644 AVG	0.33	0.30	0.32	0.10	0.11	0.11
AD-413644 SEM	0.13	0.09	0.10	0.02	0.03	0.02
AD-413669 AVG	0.33	0.23	0.28	0.23	0.20	0.21
AD-413669 SEM	0.09	0.07	0.08	0.11	0.10	0.10
PBS (対照) AVG	1.06	1.02	1.04			
PBS (対照) SEM	0.26	0.20	0.23			
結果は、HSD17B13 発現を表す(PBS 対照群に対する倍率変化)						

【 0 7 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表13

二重鎖 ID	鎖	修飾された配列(5'-3')	配列番号	修飾されていない配列(5'-3')	配列番号
AD-288917	センス	usascaucAfaGfAfCfuaucunguuL96	4486	UACAUCAAGACUAAUCUUGUU	4496
	アンチセンス	asAfscraag(Agn)uuagucUfuGfaguagsu	4487	AACAAGAUUAGUCUUGAUUGUAGU	4497
	センス	asusgcuuUfuGfCfAfuggacuaucuuL96	4488	AUGCUUUUUGCAUGGACUAUCU	4498
AD-288996	アンチセンス	asGfsauag(Tgn)ccangcAfaAfagecausc	4489	AGAUAGTCCAUGCAAAAAGCAUUC	4499
	センス	csgsuangCfaGfAfAfuaucuaauuuL96	4490	CGUAUGCAGAAUAUUCAAUUU	4500
AD-413639	アンチセンス	asAfsaumGf(Agn)auauncUfgCfauacgsasu	4491	AAAUUGAAUAUUCUGCAUACGAU	4501
	センス	csgsuangCfaGfAfAfuaucuaauuuL96	4492	CGUAUGCAGAAUAUUCAAUUU	4502
AD-413644	アンチセンス	asAfsaUfuGf(Agn)auauUfcUfgCfaUfaCfgsasu	4493	AAAUUGAAUAUUCUGCAUACGAU	4503
	センス	csusacauCfaAfGfAfuaucuaucuuL96	4494	CUACAUCAAGACUAUAUCUUGU	4504
AD-413669	アンチセンス	asCfsaaga(Tgn)uaguuCfuUfgAfuguagsug	4495	ACAAGATUAGUCUUGAUUGAGUG	4505

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

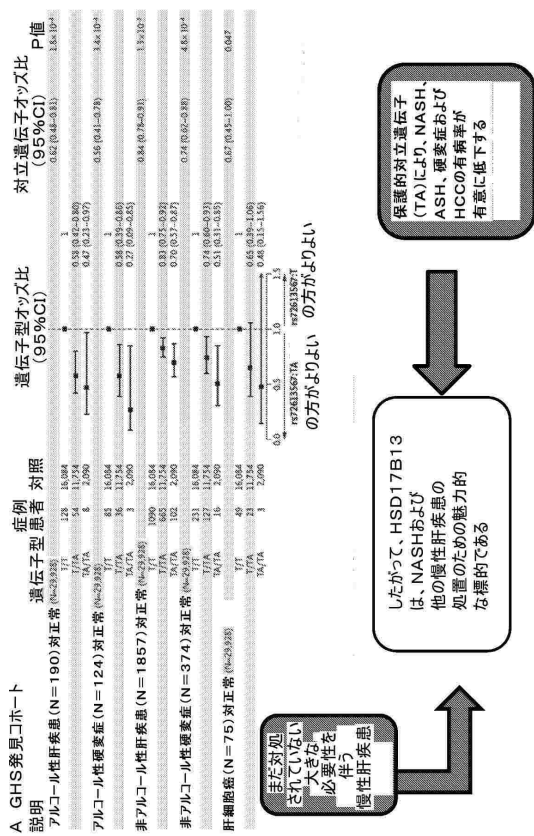


Figure 1

【図 2】

マウスにおいて異所発現させたヒトHSD17B13に対する
ヒト/NHP交差反応性siRNAの有効性

非ヒト霊長類における内因性HSD17B13に対する
ヒト/NHP交差反応性siRNAの有効性

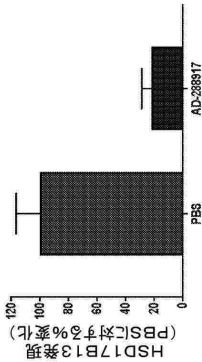


Figure 2A

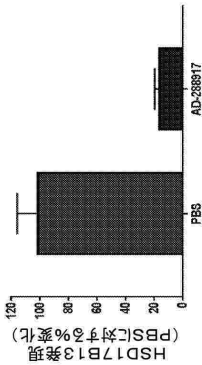


Figure 2B

【配列表】
0007507093000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 P 3/04 (2006.01)

F I

A 6 1 P 3/04

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/770,298

(32)優先日 平成30年11月21日(2018.11.21)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

リート 300, 3アールディー フロア

(72)発明者 トレンブレイ, フレデリック

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, サード ストリート 300,
3アールディー フロア

(72)発明者 アブールーフスン, ノウラ エス.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10128, ニューヨーク, イースト 93アールディー スト
リート 345, アpartment 18イー

(72)発明者 ゴッテスマン, オムリ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 92067, ランチョ サンタ フェ, レボサ アルタ 17047

(72)発明者 リー, アレクサンダー

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー ロー
ド 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 チェン, シーピン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー ロー
ド 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 シン, ユーロン

アメリカ合衆国 コネチカット 06903, スタンフォード, セトラーズ トレイル 14

(72)発明者 グロマダ, ジェスパー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01742, コンコード, エルシノア ストリート 197

(72)発明者 デューイ, フレデリック イー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01890, ウィンチェスター, ワシントン ストリート
700

(72)発明者 バラス, アリス

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー ロー
ド 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 シュルダイナー, アラン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバー ロー
ド 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ミルスタイン, スチュアート

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02142, ケンブリッジ, サード ストリート 300,
3アールディー フロア

審査官 山▲崎▼ 真奈

(56)参考文献 中国特許出願公開第103520724 (CN, A)

国際公開第2004/048511 (WO, A2)

国際公開第2018/136758 (WO, A1)

Gilad Sivan et al., mBio, 2015年, Vol.6, Issue 4, e01122-15

Wen Su et al., PNAS, 2014年, Vol.111, No.31, pp.11437-11442

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N

Caplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (ST
N)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq